

**Zum Einfluß epigenetischer Faktoren
auf die Reifung aminерger Neurotransmitter
im Frontalhirn von *Meriones unguiculatus***

**Der Einsatz moderner Bildanalyseysteme
in neurobiologischen Fragestellungen**

**Dissertation
Jörg Neddens**

**Zum Einfluß epigenetischer Faktoren
auf die Reifung aminerg Neurotransmitter
im Frontalhirn von *Meriones unguiculatus***

**Der Einsatz moderner Bildanalyzesysteme
in neurobiologischen Fragestellungen**

Dissertation

zur Erlangung des Grades

Doktor rer. nat.

Fakultät für Biologie

Universität Bielefeld

vorgelegt von

Jörg Neddens

Bielefeld

im März 2002

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Zusammenfassung	1
1. Einleitung	2
1.1 Der Einsatz computergestützter Bildanalysesysteme in morphometrischen neurobiologischen Studien	3
1.2 Adaptive Struktur- und Verhaltensentwicklung in der postnatalen Phase	4
1.3 Der präfrontale Kortex	7
1.4 Der Nucleus accumbens	11
1.5 Ziele der Untersuchung	14
2. Material und Methoden	16
2.1 Entwicklung eines Programms zur Faserquantifizierung: Elemente computerbasierter Bildanalysesysteme	16
2.2 Versuchstiere: Aufzuchtbedingungen und pharmakologische Behandlung	19
2.3 Versuchsdurchführung	19
2.3.1 Versuchsansatz Dopamin	20
2.3.2 Versuchsansatz Serotonin	22
2.4 Untersuchte Bereiche	24
2.5 Auswertung	27
2.6 Dokumentation	29
3. Ergebnisse	30
3.1 Qualitative Befunde	30
3.2 Quantitative Befunde	34
Befunde im präfrontalen Kortex	34
Befunde im Nucleus accumbens	44
4. Diskussion	45
4.1 Methodische Aspekte	45
4.2 Zur dopaminergen und serotoninergen Innervationsdichte im präfrontalen Kortex	47
4.3 Zur dopaminergen und serotoninergen Innervationsdichte im Nucleus accumbens	53
4.4 Zur Beeinträchtigung der Funktion limbopräfrontaler Netzwerke	59
4.5 Fazit	63

5. Statistische Daten	65
5.1 Präfrontaler Kortex	65
5.2 Nucleus accumbens	77
6. Eigene Arbeiten	80
7. Literatur	82
Danksagung	94
Erklärung	95

*In einem scheinbaren Widerspruch erhält [der Organismus] seine Stabilität nur dann aufrecht, wenn er erregbar und imstande ist, sich selbst entsprechend äußerer Einflüsse zu verändern und seine Reaktion an den jeweiligen Einfluß anzupassen. In diesem Sinne ist er stabil **weil** er veränderlich ist – die leichte Instabilität ist eine notwendige Bedingung für die wahre Stabilität des Organismus.*

W.B. Cannon

Alles fließt.

Heraklit

Zusammenfassung

Bei zwei vorangegangenen qualitativen Studien ergaben sich Hinweise auf Veränderungen der Innervationsmuster der dopaminergen und der serotoninergen Fasersysteme im präfrontalen Kortex (PFC) und im Nucleus accumbens (NAC) von *Meriones* durch die Einwirkung eines definierten umweltbezogenen und eines pharmakologischen Parameters während der postnatalen Reifung. Aufgrund dieser Befunde ergab sich die Notwendigkeit, mögliche reaktive Veränderungen der monoaminergen Innervation quantitativ zu erfassen.

In der vorliegenden Arbeit wurde eine Methode zur computergestützten Quantifizierung neuronaler Strukturen mittels einer modernen Bildanalysesoftware etabliert und zur Anwendung gebracht. Hierzu wurden die monoaminergen Transmitter Dopamin (DA) und Serotonin (5-HT) immunhistochemisch gefärbt und die Faserdichten in mehreren Subarealen des PFC sowie des NAC quantifiziert. Diese Untersuchungen wurden an Tiergruppen durchgeführt, die zwei unterschiedlichen Aufzuchtbedingungen – restriktiver bzw. seminatürlicher Aufzucht – unterworfen waren. Die Hälfte der Tiere jeder Gruppe erhielt zudem eine einmalige systemische Methamphetamininjektion am postnatalen Tag 14. Methamphetamin (MA) wirkt aufgrund neurotoxischer Prozesse als ein pharmakologischer Stressor auf die Reifung von aminergen Fasern im Gehirn ein.

Die Innervationsmuster monoaminergere Faserpopulationen im PFC und im NAC werden durch restriktive Aufzuchtbedingungen und/oder eine einmalige frühe MA-Intoxikation während der postnatalen Reifung in folgender Weise verändert:

Die DAerge Innervationsdichte ist im lateral-orbitalen Areal des PFC infolge einer MA-Intoxikation und restriktiver Aufzucht abgesenkt. Hingegen ist die DAerge Innervation des agranulär-insulären Areals nicht vulnerabel gegen die Versuchsparameter. Die DAerge Faserdichte im medialen PFC wird unter seminatürlicher Aufzucht durch MA-Einwirkung nicht verändert. Die 5-HTerge Innervationsdichte des PFC wird bei seminatürlicher Aufzucht durch eine MA-Behandlung erhöht. Im Vergleich zu seminatürlicher Aufzucht zeigen Tiere aus restriktiven Aufzuchtbedingungen eine verstärkte Reifung der 5-HTergen Innervation, die MA-Intoxikation ruft bei restriktiver Aufzucht keine zusätzliche Veränderung der Faserdichte hervor. Die 5-HT-Innervation des medialen PFC ist lateralisiert, mit einer deutlich höheren Faserdichte in der rechten Hemisphäre.

Im NAC führt die MA-Applikation unter seminatürlicher Aufzucht zu einer Absenkung der DAergen und zu einem Anstieg der 5-HTergen Faserdichte. Die 5-HTerge Innervation ist unter restriktiven Aufzuchtbedingungen verstärkt gereift, die Einwirkung von MA führt zu keinen weiteren Veränderungen der Faserdichte.

In der Diskussion werden mögliche Mechanismen zur Erklärung der selektiven Wirkung unterschiedlicher Aufzuchtbedingungen und von MA auf die Reifung monoaminergere Faserpopulationen im PFC und im NAC vorgestellt. Desweiteren wird die Relevanz der Befunde für die Ätiologie psychomotorischer Störungen diskutiert. Die beiden hier untersuchten Hirnareale sind Schnittstellen zweier parallel organisierter funktioneller Netzwerke, des limbokortikalen und des motorischen Subsystems. Es wird die Möglichkeit erörtert, daß auch weitere Areale dieser Netzwerke von einer aktivitätsgesteuerten dysfunktionalen Reifung betroffen sind.

1. Einleitung

In den letzten zwei Jahrzehnten wurde die Plastizität des Gehirns zu einem der zentralen Themen der Neurowissenschaften. Sowohl in der neurobiologischen Grundlagenforschung als auch in der medizinischen Anwendung wird die Bedeutung von plastischen Anpassungen als essentielle Voraussetzung für die Funktionsfähigkeit des Gehirns zunehmend deutlicher. Psychische Erkrankungen des Menschen werden dabei immer öfter mit Störungen solcher plastischen Prozesse während der Hirnentwicklung in Zusammenhang gebracht (siehe z.B. Benes et al., 2000). Der Erforschung der damit zusammenhängenden grundlegenden Prinzipien aktivitätsgesteuerter Strukturbildung kommt deshalb große Bedeutung zu. Speziell die Erhebung von quantitativen Strukturbefunden ist für eine angewandte Forschung bedeutsam, stößt allerdings wegen aufwendiger Meßverfahren schnell an Grenzen. Aufgrund dieses Umstandes gibt es einen erheblichen Mangel an Befunden zu entwicklungsbedingten morphologischen Veränderungen.

Der Schwerpunkt unserer Arbeitsgruppe liegt darauf, die Auswirkungen *epigenetischer* Faktoren auf die aktivitätsgesteuerte *postnatale* Reifung von Säugergehirnen zu untersuchen. In den letzten Jahren konnte unter anderem die verminderte Reifung der DAergen Innervation des PFC beschrieben werden, die sowohl durch eine einmalige frühe MA-Behandlung als auch durch restriktive Aufzuchtbedingungen verursacht wird (Dawirs et al., 1994; Neddens et al., 2001; Winterfeld et al., 1998). Diese morphologischen Befunde korrelieren mit kognitiven Defiziten und mit motorischen Störungen (Dawirs et al., 1996; Winterfeld et al., 1998). Um die Frage zu beantworten, inwieweit sich epigenetische Einflüsse während der aktivitätsgesteuerten postnatalen Hirnentwicklung auf die Struktur monoaminergere Transmittersysteme in unterschiedlichen frontalen Hirnarealen auswirken, wird das bisherige Spektrum der Untersuchungen durch die hier vorliegende Studie erweitert. Für die Auswahl der Untersuchungsgebiete und deren Transmitterinnervation waren insbesondere folgende Aspekte entscheidend:

Der PFC ist anatomisch und funktionell eng mit dem NAC verbunden (Groenewegen et al., 1997). Veränderungen der dopaminergen Innervation in dem einen Gebiet sollten demnach Auswirkungen auf die Physiologie und die Morphologie des anderen Gebietes haben. Weiterhin ist für die monoaminergere Transmittersysteme eine wechselseitige Beeinflussung durch Messungen verschiedener physiologischer Parameter vielfach nachgewiesen (Gobert, 1998; Mendlin et al., 1999; Pehek, 1996). Umfassende Befunde zu den langfristigen Folgen derartiger Wechselwirkungen auf morphologischer Ebene fehlen jedoch bisher. Die hiesige Forschungsgruppe wurde während meiner Arbeit mit einem System zur Bildaquirierung und Bildbearbeitung ausgestattet, das die Erhebung solcher Daten entscheidend erleichtert. Aufgrund meiner während der Diplomarbeit gesammelten Erfahrungen mit computergestützten Quantifizierungsmethoden konnte ich Einfluß auf die Auswahl eines geeigneten Systems nehmen und wurde mit der Entwicklung von Verfahrensabläufen zur quantitativen Analyse von Transmittersystemen betraut.

Diese Arbeit beschreibt solche Verfahren und deren Anwendung bei Messungen der DAergen und der 5-HTergen Innervation des PFC und des NAC. Die dabei gewonnenen Strukturbefunde werden vor dem Hintergrund des in der Arbeitsgruppe etablierten Tiermodells zu

den Auswirkungen pharmakologischer und umweltbedingter postnataler Reize auf die aktivitäts-gesteuerte Hirnreifung bewertet.

1.1 Der Einsatz computergestützter Bildanalyzesysteme in morphometrischen neurobiologischen Studien

Der Quantifizierung morphologischer Parameter im Gehirn waren bisher enge methodische Grenzen gesetzt, da viele Befunde durch arbeitsintensive manuelle Auswertungsverfahren – z.B. die zeichnerische Darstellung immunoreaktiver Fasern mittels *camera lucida* – erhoben wurden. Vergleicht man die Anzahl von publizierten physiologischen mit morphologischen Studien, so wird ein offenkundiges Mißverhältnis deutlich. Der Mangel an morphologischen Daten könnte in den nächsten Jahren allerdings deutlich abnehmen. Die in jüngster Zeit verfügbaren Systeme zur hochauflösenden Bildaufnahme und zur computergestützten Bildanalyse erlauben nunmehr die kurzfristige Erhebung großer und aussagekräftiger Datenmengen.

Die speziellen Probleme bei der Analyse neurobiologischer Präparate liegen zum einen in der generellen morphologischen Variabilität zwischen einzelnen Individuen und zum anderen in den notwendigen (bio)chemischen Nachweismethoden, mittels derer biologische Strukturen überhaupt visuell dargestellt werden können. Selbst bei etablierten Verfahren kommt es zu kaum vermeidbaren Schwankungen in der Qualität von Präparaten. Die Anforderungen an die Bildanalyse unterscheiden sich darüberhinaus je nach Einsatzzweck, wie z.B. der Art der zu untersuchenden Strukturen. Die Hersteller von Analysesystemen begegnen diesen wechselnden Anforderungen zumeist durch den modularen Aufbau von Meßprogrammen. Um eine leistungsstarke Methode zur Faserquantifizierung zu entwickeln, müssen also die für die jeweilige Aufgabe geeigneten Funktionen ausgewählt und in sinnvoller Weise verknüpft werden. Die nun folgende Besprechung von notwendigen Arbeitsschritten bei der Bildanalyse vollzieht eine solche Abfolge von einzelnen Operationen nach (vergl. z.B. Kropatsch, 2001; Russ, 1995).

Prinzipien der Bildanalyse

1. Aufnahme: Bilder zu untersuchender Strukturen werden mittels einer Kamera durch das Mikroskop aufgenommen und digitalisiert. Die Digitalisierung codiert die im Bild enthaltenen Informationen in zweierlei Hinsicht. Zum ersten werden der Bildfläche X- und Y-Koordinaten zugeordnet, zum zweiten werden die Helligkeits- bzw. Farbwerte dieser Pixel quantisiert. Die zu bearbeitende Datenmenge steigt also quadratisch zu der Auflösung der Kamera.
2. Standardisierung: Um eine vergleichbare Färbeintensität zwischen verschiedenen Präparaten zu gewährleisten, wird zunächst die Intensität der unspezifischen Hintergrundfärbung detektiert und anschließend rechnerisch aus dem Bild entfernt. Hierzu kann beispielsweise ein Referenzfeld gemessen oder ein unscharfes Bild des Präparates erzeugt werden. Gleichzeitig wird der Einfluß von Helligkeitsschwankungen der Lichtquelle im Mikroskop minimiert. Die Meßbereiche in verschiedenen Präparaten bzw. in den aufgenommenen Bildern können sich in der Größe unterscheiden. Die zu messenden Flächen müssen also zunächst definiert

werden. Dies kann beispielsweise durch einfaches manuelles Umfahren mit einem Cursor geschehen. Eine andere Möglichkeit ist die Diskriminierung von Flächen aufgrund mathematischer Parameter, wie bestimmten Grau- oder Farbwerten bzw. von charakteristischen Strukturen oder Mustern.

3. Segmentierung: Als nächster Schritt folgt nun die Detektion der interessierenden Strukturen, im vorliegenden Fall von immunhistochemisch gefärbten neuronalen Fasern. Dieser Segmentierungsprozeß erfolgt auf der Basis spezifischer morphologischer und – durch die Digitalisierung – letztlich mathematischer Eigenschaften. Generell kann man zwischen lernfähigen Klassifikatorverfahren und ausschließlich das aktuelle Bild berücksichtigenden Funktionen unterscheiden. Die letztgenannten Funktionen segmentieren Strukturen beispielsweise mit Hilfe von lokalen Kontrastunterschieden, unter Einbeziehung jeweils geeigneter Filtermatrizen, z.B. Laplace-, Gauss- oder Lowpassfilter.
4. Messung: Die so dargestellten Strukturen können nun in ihrer Gesamtheit ausgewertet werden, beispielsweise durch die Messung der Fläche. Es ist aber auch möglich, sie als separate Gebilde quantitativ zu erfassen, etwa hinsichtlich der Anzahl, der Größe oder der Form. Die so gewonnenen Werte können anschließend in Bezug zu anderen Meßgrößen – wie der Fläche des ursprünglich aufgenommenen Bildes oder der unter 2. definierten Teilfläche – gesetzt werden. Die Werte können wieder in andere Rechenoperationen einfließen oder auch für die Steuerung von Variablen in der Analyse folgender Bilder genutzt werden. In den meisten Fällen werden sie jedoch direkt als Meßergebnisse in eine Datenbankdatei geschrieben, woraus anschließend die statistische Bearbeitung erfolgen kann.

Zusammengefaßt ist die Bildanalyse also ein Vorgang, bei dem aus Bildern quantitative Daten extrahiert und als Datenbankdatei ausgegeben werden. Um aussagekräftige und reproduzierbare Ergebnisse zu erhalten, müssen die Auswahl und die Abfolge geeigneter Analysefunktionen der jeweiligen Fragestellung und den zu quantifizierenden Strukturen genauestens angepaßt sein. Mittels dieser neuen Werkzeuge können nunmehr neurobiologische Fragestellungen untersucht werden, die Aufschluß über grundlegende Prinzipien der aktivitätsgesteuerten Strukturbildung geben. Es ist zu erwarten, daß auf diesem Wege unsere Kenntnis der Vorgänge während der Selbstorganisation reifender Nervenetze beträchtlich erweitert werden kann.

1.2 Adaptive Struktur- und Verhaltensentwicklung in der postnatalen Phase

Das Versuchsparadigma der Aufzucht von Tieren unter restriktiven versus seminaturalen Bedingungen ist in unserer Forschungsgruppe seit Jahren etabliert und wird auch in der vorliegenden Arbeit angewandt. Sucht man in der Literatur nach Studien, die sich mit dem Einfluß epigenetischer Faktoren – wie den Umweltbedingungen – auf die Morphologie und die Physiologie des Gehirns oder das Verhalten von Versuchstieren befassen, so ist grundsätzlich zwischen verschiedenen Ansätzen zu unterscheiden. Die Umwelt kann beispielsweise mehr oder weniger komplex aufgebaut sein (Gehege ⇔ Käfig) oder das soziale Umfeld kann variieren (Gruppe ⇔ Einzeltier). Manchmal finden sich in den Versuchsansätzen auch Kombinationen dieser und

anderer möglicher Variablen. Ein weiterer entscheidender Faktor ist das Alter von Versuchstieren. Man kann die Tiere von Beginn an in verschiedenen Umwelten aufwachsen lassen (Aufzuchtbedingungen) oder sie erst nach dem Erreichen eines bestimmten – adulten – Alters unterschiedlich behandeln (Haltungsbedingungen). Zieht man die hohe plastische Potenz des reifenden Gehirns während der frühen postnatalen Phase in Betracht, liegt es auf der Hand, daß Arbeiten zur Wirkung von Aufzuchtbedingungen nicht ohne weiteres mit solchen zu Haltungsbedingungen verglichen werden können. Aus diesem Grund werden im weiteren hauptsächlich Veröffentlichungen zur Wirkung von unterschiedlichen *Aufzuchtbedingungen* angeführt.

Zahlreiche Studien belegen, daß restriktive Aufzuchtbedingungen deutliche strukturelle und funktionelle Veränderungen in vielen Gebieten des Gehirns hervorrufen. So wird beispielsweise die Zytoarchitektur des Kortex beeinflusst, indem die Zahl dendritischer Verzweigungen sowie die Häufigkeit und die Morphologie von Spines herabgesetzt wird (referiert in Greenough und Chang, 1988; Rosenzweig und Bennet, 1996). Darüberhinaus konnten deutliche Veränderungen der Innervationsmuster sowie der Stoffwechselintensität von Transmittern in verschiedenen Hirngebieten nachgewiesen werden (Hall et al., 1998; Park et al., 1992).

Die monoaminergen Projektionssysteme scheinen besonders vulnerabel gegenüber Isolationsaufzucht zu sein (Crespi et al., 1992; Fulford und Marsden, 1997, 1998a+b; Jones et al., 1992). Beispielsweise verändern restriktive Aufzuchtbedingungen den DA-Umsatz im NAC (Hall et al., 1998) und im Frontallobus (Blanc et al., 1980). Die Wirkung verschiedener Stimulantien, die den DA-Stoffwechsel beeinflussen, wird ebenfalls verändert. Genauer untersucht wurden z.B. die Wirkungen von Kokain sowie von Amphetamin und einigen Amphetaminderivaten (Phillips et al., 1994; Wongwitdecha und Marsden, 1995). Diese Befunde deuten auf umweltbedingte Veränderungen der Funktion der DAergen Innervation hin. Wir konnten für *Meriones* zeigen, daß restriktive Aufzuchtbedingungen eine verminderte Reifung der DAergen Innervation im PFC hervorrufen (Neddens et al., 2001; Winterfeld et al., 1998). Zuvor wurde eine vergleichbar verminderte adulte DA-Innervation des medialen PFC nach juveniler MA-Intoxikation nachgewiesen (Dawirs et al., 1994), die unter anderem mit einer Hyperinnervation GABAerger Profile im medialen PFC einhergeht (Nossol et al., 1997).

Über diese morphologischen und physiologischen Befunde hinaus, haben zahlreiche Studien veränderte Verhaltensrepertoires nach restriktiven Aufzuchtbedingungen nachgewiesen. Im einzelnen fanden sich erhöhte Lokomotion (Paulus et al., 1998), beeinträchtigt Sozialverhalten (Van den Berg et al., 1999; Wongwitdecha und Marsden, 1996a), kognitive Defizite (Jones et al., 1991; Mogensen, 1991; Winterfeld et al., 1998), die Ausprägung eines anxiogenen Profils (Wright et al., 1991) sowie verändertes Explorationsverhalten (Hall et al., 1997a, b; Winterfeld et al., 1998). Die Tiere zeigen also eine Vielzahl psychomotorischer Störungen, die sich kaum auf eine einzelne Ursache zurückführen lassen. Aufgrund der starken Konnektivität der höheren Hirnstrukturen und ihres dadurch bedingten funktionalen Zusammenspiels ergibt sich vielmehr eine komplexe Folge von wechselseitigen Beeinflussungen. Es ist zu erwarten, daß sich aktivitätsbedingt die funktionale Struktur ganzer Systeme während der Reifung simultan an die epigenetisch wirksamen Reize

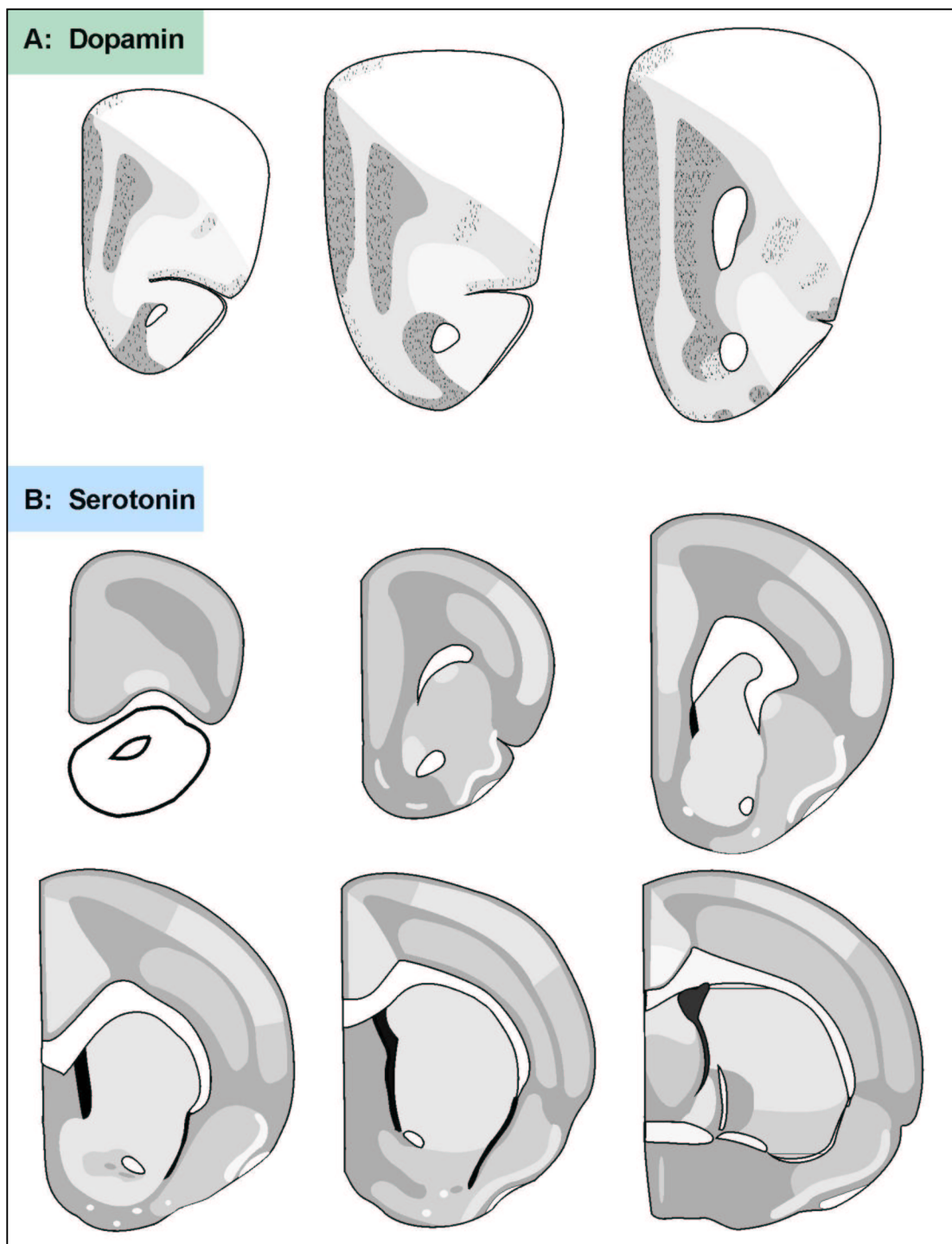


Abb. 1.1: Das Muster der dopaminergen (A) und serotonergen (B) Innervation bei *Meriones*.

Die Faserdichte von Frontalschnitten wurde qualitativ am Lichtmikroskop beurteilt und grafisch dargestellt. Dunklere Graustufen stellen eine dichtere Innervation dar. Faserzüge – z.B. Corpus callosum und Commissura anterior – sind weiß dargestellt, Ventrikelräume sind schwarz eingezeichnet. (A) Dopamin: Zu erkennen ist insbesondere die Laminierung des medialen PFC, mit starker Innervation der Laminae I und V, sowie deutlichen Projektionsfaserzügen in Lamina VI medial des Genu corporis callosum. Gebiete mit vielen Terminalien, erkennbar an der starken Verzweigung der Fasern und einer großen Zahl von synaptischen Verdickungen, sind gepunktet eingezeichnet (verändert nach Busche, 2000). (B) Serotonin: Man erkennt die deutlich ausgeprägte Laminierung des Kortex, mit starker Innervation der Laminae I und IV, sowie starken Projektionsfaserzügen in Lamina VI an der Grenze zum Corpus callosum. Das Bild links unten zeigt die Patch-Bildung im NAC ventromedial der Commissura anterior (verändert nach Griese, 2000).

adaptiert. Im Rahmen zweier von mir betreuter Diplomarbeiten (Busche, 2000; Griese, 2000) wurden immunhistochemische DA- und 5-HT-Präparate von *Meriones* angefertigt und die Innervationsdichte frontaler Hirngebiete qualitativ beschrieben (Abb. 1.1). Die Tiere waren unterschiedlichen Aufzuchtbedingungen unterworfen und erhielten eine frühe MA- bzw. Saline-Applikation. Beide qualitativen Studien erbrachten erste Hinweise auf lokal unterschiedliche Faserdichten im Vergleich der vier Versuchsgruppen, beispielsweise im PFC und im NAC.

Zusammengefaßt mehrten sich die Hinweise, daß die Umweltbedingungen – insbesondere die Komplexität des Habitats sowie die Möglichkeit zur sozialen Interaktion mit Artgenossen – während der postnatalen Reifung des Gehirns umfassende Anpassungen der Struktur und der Funktion zur Folge haben. Eine Interaktion zwischen unterschiedlichen Aufzuchtbedingungen und einer frühen MA-Intoxikation in Bezug auf die adulte DA-Faserdichte im PFC und darüber hinaus in anderen Hirnarealen wie dem NAC ist wahrscheinlich. Darüberhinaus wurden Wechselwirkungen mit anderen Transmittern – z.B. 5-HT – bereits auf physiologischer Ebene nachgewiesen, so daß auch hier meßbare Veränderungen der Innervationsmuster zu erwarten sind.

1.3 Der präfrontale Kortex

Der PFC ist im Gegensatz zu posterioren, temporalen und parietalen Regionen des Neokortex nicht durch spezifische sensorische Afferenzen gekennzeichnet. Vielmehr zeichnet er sich durch eine Vielzahl von Verbindungen mit unterschiedlichen Teilen des Zentralnervensystems aus. Über diese Bahnen erreichen verarbeitete Aktivitäten aus den sensorischen und motorischen Systemen in konvergenter Weise den PFC, der wiederum divergent viele Bereiche des Gehirns beeinflusst. Aufgrund seiner zahlreichen Verbindungen wird der PFC vor allem als übergeordnetes Assoziationsareal angesehen (Kolb und Whishaw, 1990), das die Auswahl, die zeitliche Organisation und den zusammenhängenden Ablauf von zielgerichtetem Handeln steuert bzw. maßgeblich beeinflusst (Fuster, 1997, Chapter 8; Passingham, 1993).

Verbindungen des PFC

Der PFC umfaßt den kortikalen Bereich rostral des Motor- und des Prämotorkortex. Im Vergleich verschiedener Säugergruppen ist es schwierig, den PFC nach einem einzelnen morphologischen oder funktionellen Kriterium zu definieren (Groenewegen et al., 1997; Preuss, 1995). Vielmehr unterscheiden sich als funktionell homolog angenommene präfrontale Areale erheblich in ihrer Zytoarchitektur und der Konnektivität mit anderen Hirnstrukturen (Preuss, 1995). Hier wird im weiteren hauptsächlich auf Befunde aus der Ordnung der Rodentia – insbesondere von Ratten und Mäusen – eingegangen.

Der PFC wird definiert als der Bereich, in dem sich die kortikale Projektion des medio-dorsalen Thalamus und die DAerge Innervation aus der ventralen tegmentalen Area überlappen (Divac et al., 1993; Ray und Price, 1992) (Abb. 1.2.A). Weitere Quellen monoaminerger Transmitter sind eine DAerge Innervation aus der Substantia nigra, noradrenerge Afferenzen aus dem Locus coeruleus sowie 5-HTerge Afferenzen aus den medialen und dorsalen Raphekernen (Fallon und Loughlin, 1987; Lindvall und Björklund, 1984). Daneben sind noch umfangreiche Eingänge aus

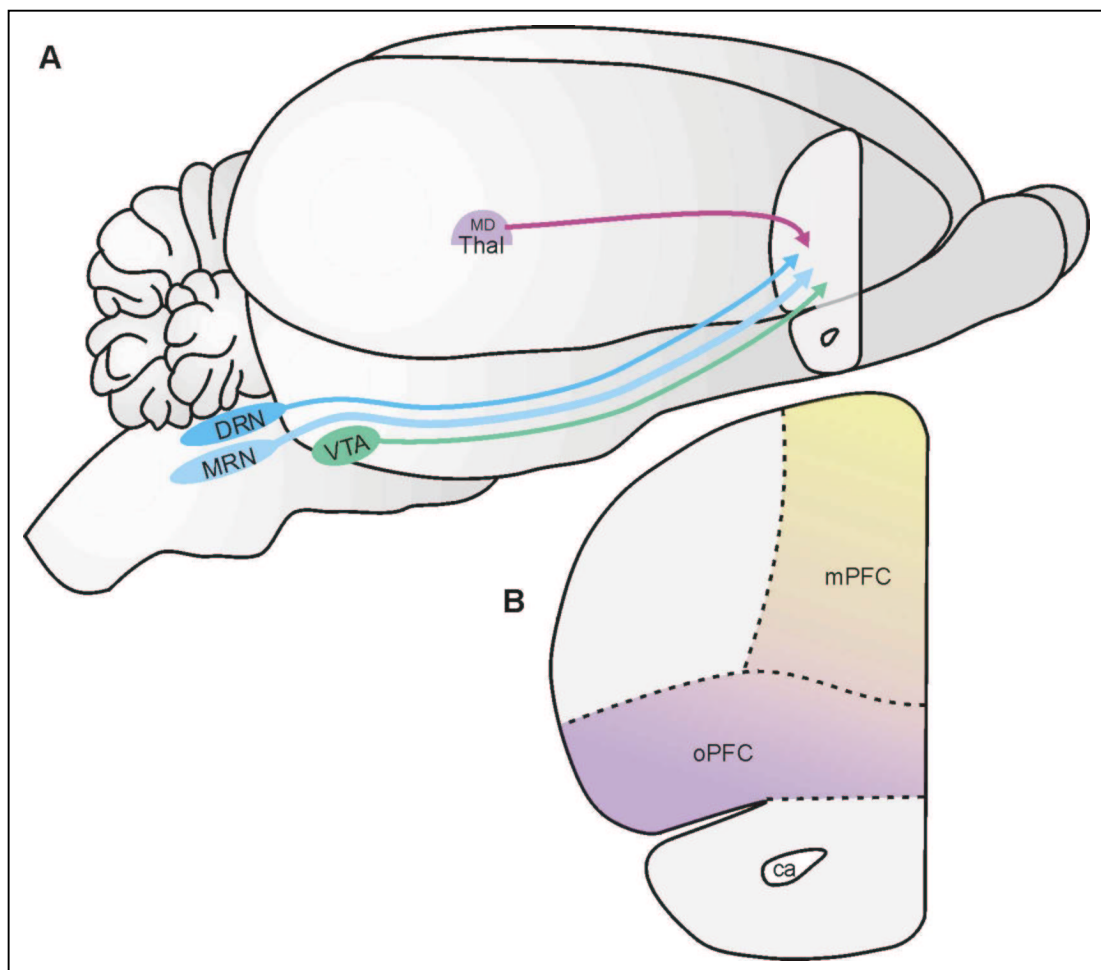


Abb. 1.2: Der präfrontale Kortex in der rechten Hirnhemisphäre von *Meriones*.

(A) Lage und spezifische Afferenzen des PFC. (B) Lage und Abgrenzung der medialen und orbitalen Subareale des PFC.

ca	Commissura anterior	MRN	Nucleus raphe medialis
DRN	Nucleus raphe dorsalis	oPFC	orbitaler PFC
MD	mediodorsaler thalamischer Nucleus	VTA	ventrale tegmentale Area
mPFC	medialer PFC		

anderen Kortexgebieten und aus limbischen Strukturen bekannt (Condé et al., 1995; McDonald, 1991; Reep et al., 1996; Verwer et al., 1997). Der PFC projiziert mit absteigenden Bahnen zu monoaminergen Zellgruppen im Hypothalamus und im Hirnstamm (Arnsten und Goldman-Rakic, 1984), die wiederum aufsteigend höhere Hirnregionen innervieren. Über diese indirekten Wege beeinflussen die präfrontalen Areale die Aktivität weiter Bereiche des Zentralnervensystems und befinden sich insofern in einer herausgehobenen Position. Der PFC entsendet weiterhin Projektionen in viele limbische Areale, wie den NAC (Finch, 1996; Taber und Fibinger, 1995).

Die meisten Verbindungen des PFC sind reziprok, mit der bemerkenswerten Ausnahme von präfrontalen unidirektionalen Projektionen in subkortikale motorische Bereiche wie die Basalganglien und in einige pontine Kerne (Fuster, 1997, Chapter 2). Diese Verbindungen verdeutlichen den Einfluß des PFC auf das selektive Zulassen von Bewegungsabläufen, auf die er eine Art Kontrollfunktion ausübt. Es besteht weiterhin eine Verbindung mit dem Prämotorkortex, jedoch

nicht mit dem Motorkortex. Der PFC beeinflusst also die Planung von Bewegungsfolgen, aber nicht den Ablauf einzelner Bewegungselemente (Groenewegen et al., 1997).

Die mannigfaltigen reziproken Verbindungen des PFC mit limbischen Arealen sind von besonderer Bedeutung, binden diese doch den PFC fest in emotionale und motivationale Abläufe ein (Groenewegen und Uylings, 2000). Das funktionelle Ensemble aus PFC und limbischen Arealen wird manchmal unter dem Begriff „limbopräfrontales System“ zusammengefaßt (Bachevalier, 1990; Benes et al., 1992). Es ist dieser Vielzahl von Verbindungen zuzuschreiben, daß eine zentrale Beteiligung des PFC an psychischen Erkrankungen allgemein akzeptiert ist (siehe z.B. Sitskoorn et al., 2000; Swaab et al., 2000).

Subregionen des PFC

Der PFC von Nagern wird anatomisch und funktionell in zwei große Bereiche unterteilt, einen medialen und einen orbitalen Anteil (siehe Abb. 1.2.B).

Der **orbitale PFC** bildet den ventrolateralen Teil des Frontallobus und umfaßt die verschiedenen orbitalen Kortexareale (medial, ventral, lateral) und den agranulären insulären Kortex. Eine der Funktionen des orbitalen PFC ist es anscheinend, die Kontinuität und Integrität von Handlungsabläufen sicherzustellen, indem konkurrierende Einflüsse unterdrückt werden (Fuster, 1997, Chapter 4). Weiterhin ist der orbitale PFC an der Generierung von Emotionen beteiligt. So können Läsionen verschiedener Subareale Euphorie auslösen (Grafman et al., 1986). Allgemein hat keine andere Läsion des PFC einen größeren Einfluß auf die Minderung des Sozialverhaltens als eine Schädigung des orbitalen Anteils (De Bruin et al., 1983).

Der **mediale PFC** umfaßt die Areae AC_d, AC_v, PL und IL sowie die medialen Anteile von FR2 und PrCm (Groenewegen und Uylings, 2000). Läsionsstudien des dorsalen medialen PFC (AC_d, FR2 und PrCm), in Kombination mit „delayed-response-tests“ zeigen, daß dieses Gebiet für die Kontinuität von zeitlich verzögerten Verhaltensabläufen wichtig ist (Kesner, 1990, 1993; Mogensen und Holm, 1994). Die ventromedialen präfrontalen Subareale (AC_v, PL und IL) spielen für die Orientierung im Raum und das Ortsgedächtnis eine Rolle, sofern der Test wiederum eine zeitliche Verzögerung beinhaltet (Kesner et al., 1996). Diese Befunde untermauern die übergeordnete Funktion des PFC in der zeitlichen Organisation von Verhalten. Darüberhinaus gibt es eine topische Anordnung von Projektionen beider medialer Gebiete in den NAC: der dorsale Anteil projiziert hauptsächlich in die Core-Region und die ventralen Areale in die Shell-Region (Berendse et al., 1992). Die Bedeutung dieses Befundes wird an anderer Stelle noch eingehender erörtert.

Monoaminerge Afferenzen des PFC

Die DAerge Innervation aus dem Mesenzephalon übt im PFC eine tonische hemmende Wirkung auf die kortikalen Pyramidenzellen aus (Jay et al., 1995). Dieser Aspekt betont vor allem die modulatorische Wirkung von DA. Die DAergen Terminalien können jedoch auch eine phasische Funktion haben. Dieser Aspekt ist insbesondere für die kurzfristige Aktivierung des PFC bei Stresseinflüssen nachgewiesen (Deutch und Roth, 1990), hat aber auch bei positiven Stimuli wie der Nahrungsaufnahme eine Bedeutung (Taber und Fibiger, 1997).

Während der postnatalen Reifung kommt der DAergen Innervation zudem eine wichtige Funktion bei Strukturbildungsprozessen im PFC zu. So verändert eine frühe postnatale Läsion der ventralen tegmentalen Area – dem Ursprungskern der präfrontalen DA-Innervation – die Morphologie von Pyramidenzellen im PFC (Kalsbeek et al., 1989). Eine solche Läsion führt bei adulten Tieren zu motorischer Hyperaktivität sowie zu Hyperreaktivität (Le Moal et al., 1976). Ähnliche Verhaltens-effekte wurden auch nach Läsionen des PFC selbst (De Brabander et al., 1991; Van Haaren et al., 1988), bzw. der lokalen DAergen Terminalien im PFC durch 6-Hydroxydopamin nachgewiesen (Bubser und Schmidt, 1990; Carter und Pycocock, 1980). Demgegenüber führt aber auch ein erhöhter DA-Umsatz zu Funktionsstörungen PFC-kompetenter Leistungen, etwa indem das Arbeitsgedächtnis für die Orientierung im Raum beeinträchtigt wird (Murphy et al., 1996). Die postnatale Entwicklung der DAergen Innervation des PFC ist also ein kritischer Faktor für die Leistung dieses Hirnareals.

Von besonderem Interesse ist weiterhin die DAerge Innervation GABAerger Interneurone (LeMoine und Gaspar, 1998), da diese Zellen aufgrund ihres dichten inhibitorischen Fasernetzes eine zentrale Rolle bei der Strukturierung lokaler Neuronenaktivitäten spielen (Chagnac-Amitai und Connors, 1989; Gellman und Aghajanian, 1993). Die DA-Terminalien modulieren dadurch – zusammen mit der noradrenergen und der 5-HTergen Innervation – die Aktivität des PFC (Arnsten, 1998). Auch 5-HTerge Terminalien üben eine hemmende Wirkung auf die Aktivität von Pyramidenzellen im PFC aus (Mantz et al., 1990). Dieser inhibitorische Einfluß wird wiederum zum großen Teil über die Aktivierung von GABAergen Interneuronen vermittelt, während die direkte Innervation von Pyramidenzellen im Vergleich zu anderen Bereichen des Neokortex geringer ist (Smiley und Goldman-Rakic, 1996). Elektrophysiologische Studien zur lokalen Wirkungsweise von 5-HT-Agonisten und -Antagonisten deuten zudem auf eine 5-HTerge Innervation DAerger Terminalien hin (Chen et al., 1992; Pehek, 1996). 5-HT kann also lokal auf mindestens drei Wegen die Aktivität präfrontaler Pyramidenzellen beeinflussen: direkt über axosomatische und axodendritische Synapsen, sowie indirekt über DAerge Terminalien und über GABAerge Neurone. Mittlerweile konnte außerdem gezeigt werden, daß DAerge und 5-HTerge Terminalien an GABAergen Interneuronen im PFC von Ratten kolokalisiert sind (Taylor und Benes, 1996). Der Interaktion der drei Transmitter im PFC sollte deshalb große Bedeutung zukommen.

Zusammengefaßt unterstreichen derartige Befunde die Relevanz von aufeinander angepaßten aminergen Innervationsmustern für das normale Funktionieren des PFC. In diesem Zusammenhang wurden bereits Veränderungen des DA/5-HT-Verhältnisses wie auch der GABAergen Innervation im PFC mit kognitiven Störungen in Verbindung gebracht (Beasley und Reynolds, 1997; Roth und Meltzer, 1995). Es stellt sich die Frage, welche Regelmechanismen normalerweise eine ausgewogene Aktivität gewährleisten und ob bzw. wie diese durch schlechte Umweltbedingungen (Isolationsaufzucht) und/oder frühe pharmakologische Stimuli (MA-Applikation) in der postnatalen Reifung beeinflusst werden können.

1.4 Der Nucleus accumbens

Der NAC wird im allgemeinen als der ventrale oder limbische Teil des Striatums bezeichnet, insbesondere wegen seiner engen funktionalen Verbindungen zu anderen limbischen Strukturen (Heimer et al., 1991). Dem NAC wird eine Schlüsselrolle bei der Integration von biologisch relevanten Informationen sowie der Initiierung und Auswahl von darauf abgestimmten Verhaltensweisen und motorischen Programmen zugesprochen. Aufgrund dessen wurde vorgeschlagen, den NAC als „functional interface“ zwischen dem limbischen System und den motorischen Hirnarealen anzusehen (Mogenson et al., 1980).

Verbindungen des NAC

Der NAC erhält Afferenzen aus dem orbitalen und dem medialen PFC, sowie aus den monoaminergen Kernen des Mesenzephalons (Abb. 1.3.A). Aufgrund seiner Verbindungen besetzt der NAC eine Schlüsselposition, indem ihn emotional/motivational gefärbte Aktivitäten aus verschiedenen limbischen Arealen erreichen (z.B. aus dem ventralen Subiculum der Hippocampusformation sowie aus mehreren Kernen des Amygdalakomplexes) und von dort zum ventrolateralen periaquäduktalen Grau weitergeleitet werden (Groenewegen et al., 1993). In diesem großen Kerngebiet des Mesenzephalons fließen zusätzlich viszerale Impulse aus dem Hypothalamus ein, bevor diese Aktivitäten in den prämotorischen Kortex und an motorische Hirnstammkerne weitergeleitet werden. Diese Befunde gaben Anlaß, den Begriff des „emotional“ oder „third motor system“ für diese Schleife einzuführen (Alheid und Heimer, 1996). Die absteigenden Projektionen in Areale des Mesenzephalons sind aber nur ein geringer Teil der Efferenzen des NAC. Die meisten Projektionen sind über das ventrale Pallidum und die ventrale tegmentale Area/Substantia nigra in den PFC und in das dorsale Striatum gerichtet (Deniau et al., 1994; Groenewegen et al., 1994). Der NAC kann über diese Verbindungen nicht nur Einfluß auf motivational getriebenes Verhalten zur Befriedigung biologischer Grundbedürfnisse nehmen, sondern beeinflusst darüber hinaus verschiedene komplexe kognitive Leistungen des PFC, wie z.B. räumliches Lernen und kontextbedingte Verhaltensantworten (Pennartz et al., 1994).

Subregionen des NAC

Aufgrund der heterogenen Innervation von Neurotransmittern und von verschiedenen Neuropeptiden (Jongen-Rêlo et al., 1993, 1994), der Verteilung von Rezeptoren und der lokal unterschiedlichen Verbindungen zu anderen Hirnstrukturen (Zahm and Brog, 1992) unterteilt man den NAC in die drei Subareale Core, Shell und rostralen Pol (Abb. 1.3.B). Der rostrale Pol wird als ein Gebiet betrachtet, in dem Core und Shell noch nicht getrennt sind. Aufgrund der jeweils unterschiedlichen Verbindungen, sowie der immunhistochemischen und funktionalen Unterschiede wurde vorgeschlagen, das Core als ventrale Erweiterung des dorsalen Striatums und den Shell als Übergangszone zwischen Striatum und „erweiterter Amygdala“ zu betrachten (Heimer et al., 1991; Zahm and Brog, 1992).

Über diese grobe Unterteilung hinaus ist der NAC allgemein eine sehr kleinräumig organisierte Struktur. So lassen sich mit Übersichtsfärbungen zytoarchitektonisch unterschiedliche

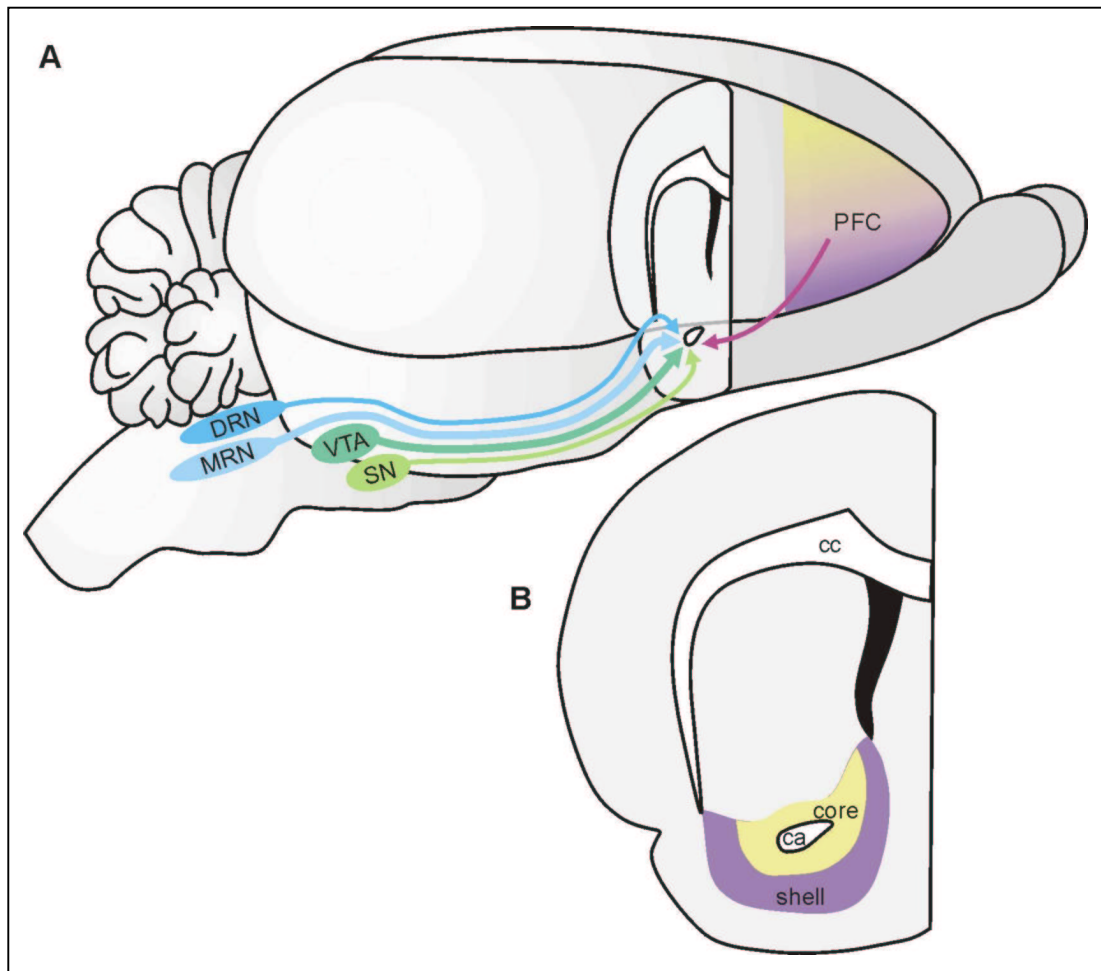


Abb. 1.3: Der Nucleus accumbens in der rechten Hirnhälfte von *Meriones*.

(A) Lage und spezifische Afferenzen des NAC. (B) Lage und Abgrenzung der Subareale Core und Shell des NAC.

ca	Commissura anterior	PFC	Präfrontaler Kortex
cc	Corpus callosum	SN	Substantia nigra
DRN	Nucleus raphe dorsalis	VTA	Ventrale tegmentale Area
MRN	Nucleus raphe medialis		

Areale darstellen. In zellarme Gebiete sind häufig zusammenhängende Zellcluster eingestreut (Herkenham et al., 1984). Diese Feinstruktur des NAC wird durch Untersuchungen zur Verteilung von Neuriten und Rezeptoren verschiedener Transmitter untermauert. Gut untersucht sind die lokale DAerge Innervation (Jansson et al., 1999; Voorn et al., 1986), die Verteilung verschiedener Neuropeptide (Berendse et al., 1988; Herkenham et al., 1984; Voorn et al., 1989) und das 5-HTerge Innervationsmuster (Brown und Molliver, 2000; Van Bockstaele und Pickel, 1993). Auch die Verbindungen mit anderen limbischen Arealen und dem PFC sind kleinräumig strukturiert (Sesack und Pickel, 1992; Wright und Groenewegen, 1995; Wright et al., 1996). Diese morphologische Besonderheit scheint demnach eng mit der Funktion des NAC verknüpft zu sein.

Wechselseitige Funktionsbezüge zwischen den Subarealen des PFC und des NAC werden durch bestimmte physiologische Einflüsse verursacht. Beispielsweise gibt es Hinweise, daß die Konzentration von extrazellulärem DA in Core und Shell in unterschiedlichem Maße durch externe

Stimuli beeinflusst wird (Deutch and Cameron, 1992). Ein wichtiger Faktor ist Stress, dessen Stärke und Wirkung bei Ratten von der Komplexität der Haltungsbedingungen beeinflusst wird (Riege and Morimoto, 1970). Die wechselseitige Abhängigkeit der Aktivität frontaler Hirnstrukturen wird in Befunden zur Auswirkung einer lokalen Läsion der DAergen Innervation des medialen PFC auf den DA-Umsatz im NAC deutlich. Die lädierten Tiere zeigen unter der Wirkung von akutem Stress Veränderungen, die sich in den Subarealen Core und Shell eindeutig unterscheiden (King et al., 1997). Dieser Befund bestätigt zudem die Annahme, daß die Teilgebiete des NAC durch äußere Stimuli in divergenter Weise angesprochen werden und zu verschiedenen funktionalen Systemen gehören. Darüberhinaus erzeugt die Ausschüttung von DA im NAC belohnende Effekte, wenn kontextspezifisches Verhalten ausgeführt wird (Ikemoto und Panksepp, 1999), was als weitere Bestätigung der Einbindung des NAC in emotionale Abläufe angesehen werden kann. Es sind eben diese kontextorientierten Verhaltensbezüge, die bei restriktiv aufgezogenen Tieren teilweise verloren gehen und zu psychomotorischen Störungen führen. Eine Beteiligung der DAergen Faserpopulationen des Frontalhirns an der Genese solcher Störungen steht demnach außer Frage.

Monoaminerge Afferenzen des NAC

Die dichte DAerge Innervation des NAC hat ihren Ursprung größtenteils in der ventralen tegmentalen Area, ebenso wie die mesokortikalen Afferenzen des medialen und des orbitalen PFC. Einige Untersuchungen legen den Schluß nahe, daß die präfrontale DAerge Faserpopulation die Aktivität der subkortikalen DA-Fasern kontrollieren kann. Der zugrunde liegende Mechanismus umfaßt die tonische Inhibition von Pyramidenzellen im PFC durch DA. Diese Projektionsneurone wirken wiederum präsynaptisch auf die Transmitterausschüttung DAerger Terminalien im NAC, sowie auf die Aktivität DAerger Zellen in der ventralen tegmentalen Area ein (King et al., 1997; Sesack and Pickel, 1992). Im Einklang mit diesem Modell lassen sich Stereotypien pharmakologisch leichter auslösen, wenn präfrontale Kortexanteile lädiert sind (Lipska et al., 1995). Unsere Gruppe konnte darüberhinaus zeigen, daß beide hier verwendeten Versuchsparadigmen – sowohl die frühe postnatale Gabe von MA als auch restriktive Aufzuchtbedingungen – zu einer Beeinträchtigung PFC-relevanter Leistungen führen (Dawirs et al., 1994; Winterfeld et al., 1998).

Die Neurone des NAC sind von einem dichten Netz DAerger und 5-HTerger Neuriten umgeben. Diese Faserpopulationen sind aber keineswegs homogen, sondern unterscheiden sich lokal in der Innervationsdichte sowie in der Morphologie (Brown und Molliver, 2000; Voorn et al., 1986). Weiterhin finden sich Unterschiede in der Verteilung des DA- wie des 5-HT-Transporters (Nirenberg et al., 1997; Brown und Molliver, 2000). Es gibt Anhaltspunkte für eine wechselseitige Beeinflussung der Aktivität monoaminerger Transmittersysteme im NAC. Beispielsweise erhöht die lokale Infusion von 5-HT bzw. 5-HT-Agonisten die Ausschüttung von DA im NAC, welche wiederum durch die Gabe von 5-HT₃-Antagonisten auf den Kontrollwert zurückfällt (Chen et al., 1991). Ähnliche Effekte lassen sich auch durch die elektrische Stimulation der dorsalen Raphe und die anschließende Gabe von 5-HT₂-Antagonisten zeigen (De Deurwaerdère und Spampinato, 1999). Aufgrund dieser Befunde geht man mittlerweile davon aus, daß die Aktivität der mesolimbischen

DA-Bahn sowohl unter der Kontrolle des PFC als auch unter dem Einfluß des Nucleus raphe dorsalis steht.

Die Subareale Core und Shell zeigen eine unterschiedliche Vulnerabilität gegenüber den neurotoxischen Wirkungen von MA (Broening et al., 1997). Diese Differenzen werden von manchen Autoren mit der oben erwähnten regional unterschiedlichen Dichte von DA- und 5-HT-Transporterproteinen in Verbindung gebracht (Jones et al., 1996; Nirenberg et al., 1997). Hierbei ist zu beachten, daß die meisten Studien sich mit den akuten oder kurzzeitigen Wirkungen einer MA-Applikation bei adulten Tieren befassen. Die mögliche Beeinträchtigung der Reifung monoaminerges Transmittersysteme im NAC nach einer frühen postnatalen MA-Intoxikation und den wahrscheinlich darauf folgenden langfristigen Umorganisationen ist wenig untersucht, obwohl eine Reaktion dieser Transmittersysteme auf embryonale pharmakologische Störungen nachgewiesen werden konnte (Weissman und Caldecott-Hazard, 1993, 1995). Auch zu den morphologischen Aspekten der Aufzucht juveniler Tiere unter restriktiven Bedingungen ist kaum etwas bekannt. Einzelne Studien zur Wirkung von Isolationsaufzucht beziehen sich ausschließlich auf physiologische Messungen des DA-Umsatzes im NAC (Hall et al., 1998; Phillips et al., 1994), bzw. auf Verhaltensuntersuchungen (Geyer et al., 1994; Sahakian et al., 1977). Um ethologische mit physiologischen Befunden in einem aussagekräftigen Modell zur Beschreibung der (dys)funktionalen Veränderungen im Gehirn zusammenfassen zu können, ist der Abgleich mit den entsprechenden morphologischen Daten zur Dichte der lokalen Innervation einzelner Transmittersysteme essentiell. Nur auf diesem Wege können Veränderungen des Transmitterstoffwechsels und/oder der Rezeptoraktivität bewertet und in einen sinnvollen Zusammenhang mit ethologischen Beobachtungen gesetzt werden.

1.5 Ziele der Untersuchung

Methodische Aspekte

Die vorliegende Studie diene zunächst der Entwicklung und Etablierung einer Methode zur computergestützten Bildanalyse. Hierzu wurden verschiedene Verfahren der Faserdarstellung erprobt und anhand von Parametern wie der realistischen Darstellung spezifischer Faserstrukturen sowie der Reproduzierbarkeit der Meßergebnisse beurteilt.

Inhaltliche Aspekte

Um den morphologischen Ursachen psychomotorischer Störungen nachzugehen, wurde die postnatale Reifung monoaminerges Transmittersysteme im PFC und im NAC von *Meriones unguiculatus* unter dem Einfluß zweier epigenetischer Variablen – restriktiver Aufzucht und einer frühen MA-Intoxikation – untersucht. Dazu wurden die DAergen und die 5-HTergen Fasern immunhistochemisch dargestellt und mittels eines geeigneten Verfahrens zur morphometrischen Analyse neuronaler Strukturen quantifiziert.

Konkret wurde folgenden Fragestellungen nachgegangen:

1. Inwieweit wird die Reifung der DAergen und/oder der 5-HTergen Innervation durch unterschiedliche Aufzuchtbedingungen beeinflusst?
2. Inwieweit wird die Reifung monoaminerges Transmittersysteme durch eine einmalige hohe MA-Applikation im frühen postnatalen Alter beeinflusst?
3. Verändert sich die Wirkung von MA unter verschiedenen Aufzuchtbedingungen?
4. Welche Schlüsse lassen die Ergebnisse zur möglichen Interaktion beider Versuchsparameter im Hinblick auf die Aussagekraft pharmakologischer Studien an Tiermodellen zu?
5. Ist die 5-HTerge Innervation des PFC lateralisiert?
6. In welcher Beziehung stehen die hier erhobenen Befunde der neurobiologischen Grundlagen psychomotorischer Störungen mit den bekannten physiologischen Daten aus der Literatur? Können die bestehenden Modelle verifiziert bzw. verbessert oder erweitert werden?

Zur Beantwortung dieser Fragen wurde die Innervationsdichte DAerger und 5-HTerger Fasern quantitativ untersucht. Die Messungen wurden in mehreren Subarealen des PFC und des NAC beider Hirnhemisphären durchgeführt. Bei der Interpretation der Befunde wird über das Tiermodell hinaus Wert auf mögliche medizinische Implikationen gelegt, da psychische Erkrankungen des Menschen zunehmend als Folgeerscheinung von Störungen der Hirnentwicklung und speziell der funktionellen Reifung von Transmittersystemen erkannt werden.

2. Material und Methoden

2.1 Entwicklung eines Programms zur Faserquantifizierung:

Elemente computerbasierter Bildanalysesysteme

Die vorliegende Arbeit diente unter anderem dazu, moderne computergestützte Meßsysteme zu evaluieren und geeignete Verfahren zur Quantifizierung morphologischer Daten in unserer Arbeitsgruppe zu etablieren. Während der Entwicklung dieser Auswertmethode wurden von mir unter anderem Proben einer immunhistochemischen Transmitterstudie in der neurobiologischen Arbeitsgruppe am Institut für Anatomie der Universität Göttingen quantitativ untersucht. Bei der Einarbeitung in die Methoden der computergestützten Strukturquantifizierung konnte ich dort von der langen Erfahrung von Herrn Dr. Eins profitieren.

Das hier beschriebene Meßverfahren wurde innerhalb eines Bildanalysesystems (KS300, Carl Zeiss Vision, Hallbergmoos) erarbeitet und in Form eines Makroprogramms angewendet. Die Beurteilung der Qualität der Faserdarstellung erfolgte durch den ständigen Abgleich mit den im Mikroskop sichtbaren immunoreaktiven Strukturen. Hieran waren mehrere Mitarbeiter der Abteilung Neuroanatomie beteiligt. Die Reproduzierbarkeit der Meßergebnisse wurde durch eine mehrfache Wiederholung von Meßreihen und die Berechnung des Standardfehlers kontrolliert. Die gesamte Entwicklung der Methode nahm einen Zeitraum von etwa einem Jahr in Anspruch. Anpassungen der Auswertungsmethode an andere Objekte und Transmittersysteme im Zuge weiterer Studien der Abteilung wurden und werden fortwährend von mir durchgeführt.

Durchführung der Bildanalyse

Die wichtigsten Schritte der Faserquantifizierung sind in Abb. 2.1 auf Seite 19 dargestellt.

1. Aufnahme: Die am Mikroskop (Polyvar, Reichert-Jung, Wien) bei 250-facher Vergrößerung eingestellten Bilder der DAergen und der 5-HTergen Innervation des NAC sowie der 5-HTergen Fasern im PFC wurden mit einer hochauflösenden digitalen Farbvideokamera aufgenommen und an einen Rechner übertragen. Kamera: ProgRes 3008, Jenoptik, Jena; Bildgröße 1500x2000 Pixel; 120 ms Verschußzeit.
2. Standardisierung: Hierbei erfolgte zunächst eine Shading-Korrektur zur Normierung der Ausleuchtung des Aufnahmebereiches im Mikroskop und der Hintergrundfärbung des Präparates. Das dazu benötigte unscharfe Referenzbild wurde durch ein Lowpassfilter mit großer Matrix (49x49 Pixel) und 50 Iterationen jeweils aus dem aufgenommenen Bild errechnet. Die Bildkorrektur fand multiplikativ statt, so daß der Kontrast des Bildes insofern beeinflußt wurde, als kleine dunkle Strukturen deutlicher gegenüber dem Hintergrund hervortraten. Anschließend fand eine Flächennormierung statt, indem unscharfe Bildabschnitte sowie angeschnittene Blutgefäße und Ventrikelräume über eine Binärbildverarbeitung dargestellt und graphisch von der Meßfläche subtrahiert wurden. Um die spezifische Innervationsdichte in einzelnen Laminae des Kortex bzw. in verschiedenen Abschnitten von Core und Shell des NAC getrennt zu erfassen, bestand die Möglichkeit, die Messfläche interaktiv in kleinere Bereiche zu unterteilen.

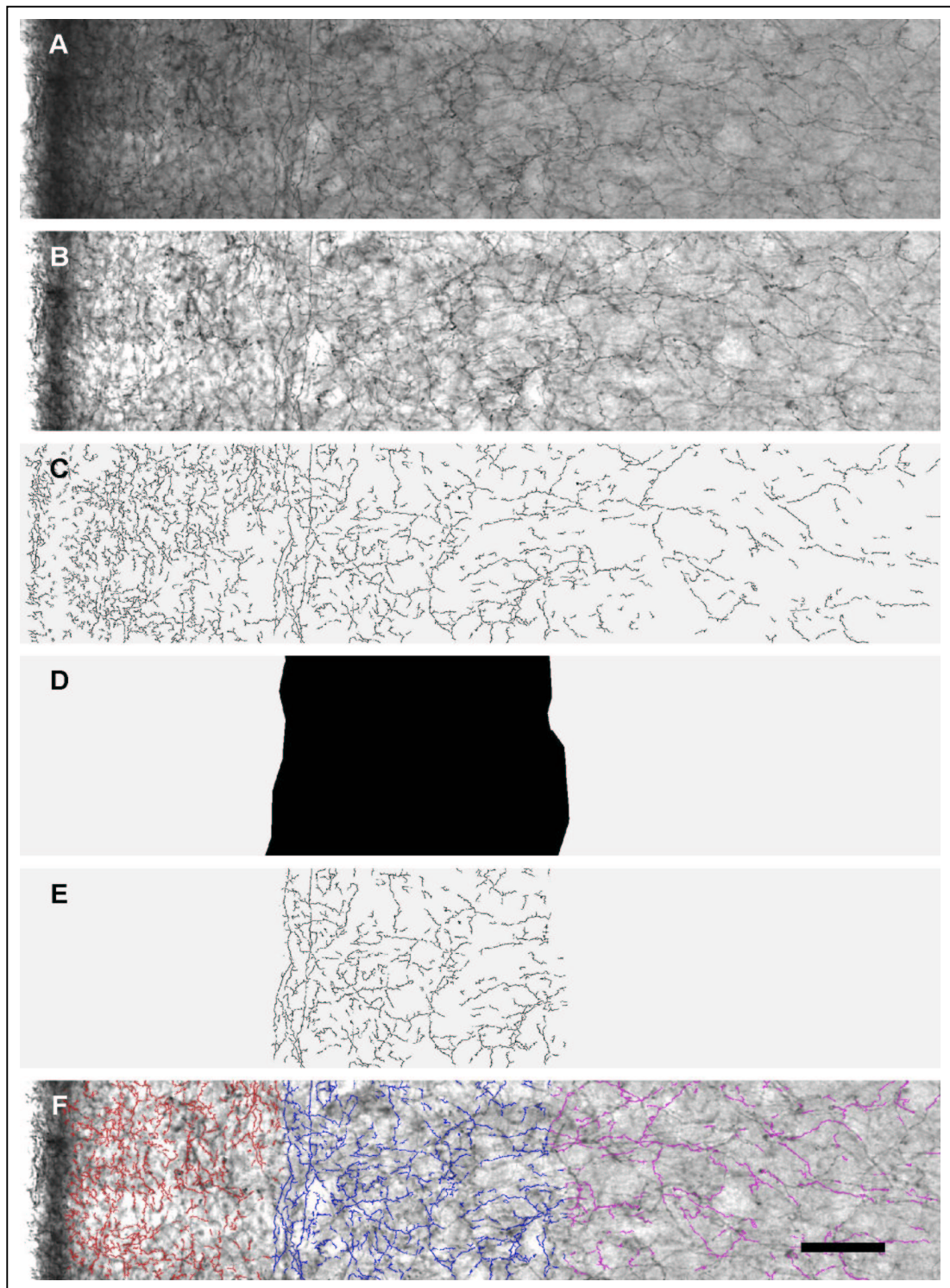


Abb. 2.1: Darstellung der wichtigsten Schritte der computergestützten Faserquantifizierung am Beispiel der 5-HTergen Innervation der superfiziellen Laminae I-IIIa des medialen PFC. (A) Originalbild. (B) Mit Shading-Korrektur. (C) Darstellung aller segmentierten Fasern. (D) Festlegung der Messfläche (im Beispiel La. II). (E) Darstellung der Fasern innerhalb der Messfläche. (F) Graubild mit farbig einkopierten Fasern der drei separat quantifizierten Messflächen. Balken = 100 μ m.

Messwerte im Beispiel:

Lamina	Messfläche (Abb. D)	Faserfläche (Abb. E)	Faserdichte
I (rot)	63106 μm^2	5118 μm^2	8,11%
II (blau)	83737 μm^2	5183 μm^2	6,19%
IIIa (violett)	112336 μm^2	2931 μm^2	2,61%

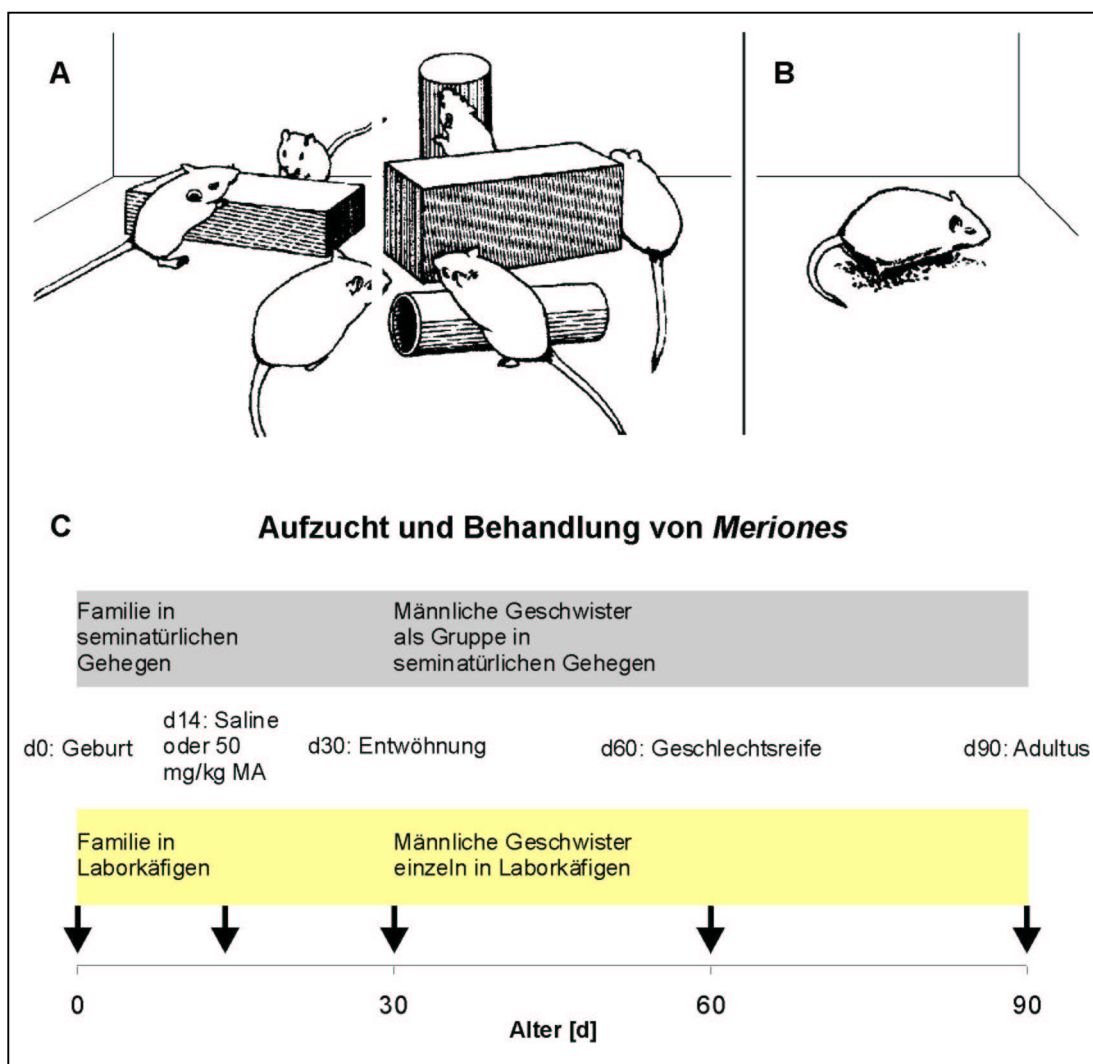


Abb. 2.2: Aufzuchtbedingungen und Behandlungsschema der Versuchstiere.

Darstellung von (A) Gehege- und (B) Käfighaltung (verändert nach Teuchert-Noodt, Unterrichtsmaterial). (C) Schematischer Überblick des Zeitraumes zwischen Geburt und Perfusion.

MA Methamphetaminein

d postnataler Tag.

3. Segmentierung: Die gefärbten Fasern wurden mittels der Valleys-Funktion erfaßt. Diese Funktion ist eine Kombination aus Gauss-Filter und Gerig-Operator. Der Gauss-Filter glättet vor allem Grauwertschwankungen des Hintergrundes, die Größe der Filtermatrix ist einstellbar. Der Gerig-Operator ist geeignet, schmale linienförmige Bereiche mit dunklen Grauwerten zu erfassen. Die Valleys-Funktion detektiert also im übertragenen Sinne Grauwerttäler vor hellerem Hintergrund. Der Grenzwert für die notwendige Krümmung an der Talsohle kann interaktiv reguliert werden. Die Einstellung der Glättung und der Krümmung erlauben die Anpassung dieser Funktion an die Besonderheiten der jeweiligen Färbung und des zu untersuchenden Hirngebietes. Nach der Segmentierung der Fasern können die dargestellten Strukturen bei Bedarf interaktiv nachbearbeitet werden, um z.B. Artefakte zu entfernen.

4. Messung: Der prozentuale Flächenanteil der Fasern an der definierten Fläche des neuronalen Gewebes wurde ermittelt nach

$$\text{Flächenanteil [\%]} = \text{Faserfläche} \times 100 / \text{Meßfläche.}$$

Alle drei angegebenen Werte wurden in eine Datenbank geschrieben und anschließend statistisch ausgewertet.

2.2 Versuchstiere: Aufzuchtbedingungen und pharmakologische Behandlung

Für alle Versuchsreihen wurden ausschließlich männliche Wüstenrennmäuse (*Meriones unguiculatus*) verwendet. Die Tiere erhielten Futter und Wasser *ad libitum* und wuchsen unter den natürlichen Tag/Nachtbedingungen während des Sommerhalbjahres auf.

Ein Teil der Mäuse wuchs unter üblichen Laborbedingungen auf. Sie wurden in Makrolonkäfigen von 30 x 40 cm geboren und verblieben dort im Familienverband bis zur Entwöhnung. Anschließend wurden sie in Makrolonkäfigen (20x30 cm) vereinzelt, wo sie bis zur Untersuchung lebten. Die Käfige hatten außer dem Zugang zu Futter und Wasser keine weitere Ausstattung. Diese Art der Aufzucht wird im Weiteren als restriktiv, und die Gruppe als **Käfigtiere** bezeichnet (Abb. 2.2.A). Die anderen Versuchstiere wuchsen im Familienverband in Gehegen von 1x1 m Größe auf, die mit vielfältigen Versteck- und Wühlmöglichkeiten ausgestattet waren. Ab dem 30. Tag erfolgte die Aufzucht der männlichen Geschwister als Gruppe von drei bis fünf Tieren in einem eigenen Gehege bis zur Untersuchung im jung adulten Alter ab 90 Tagen. Diese Art der Aufzucht wird in der vorliegenden Arbeit als reizreich oder seminatural, die Versuchsgruppe als **Gehegetiere** bezeichnet (Abb. 2.2.B).

Jeweils die Hälfte der Tiere (siehe Tabellen 2.1 und 2.2) aus beiden Versuchsgruppen erhielt am 14. postnatalen Tag eine einmalige Injektion von 50 mg/kg MA oder 0,9%iger Kochsalzlösung intraperitoneal. Die MA-Applikation wurde von einem Mitarbeiter mit Tierversuchsgenehmigung durchgeführt.

2.3 Versuchsdurchführung

Perfusion

Das Tier wurde zunächst mit einer intraperitonealen Injektion von 1,7 g/kg Chloralhydrat in physiologischer Kochsalzlösung betäubt. Nach kurzer Wartezeit wurden die Extremitäten mit Nadeln fixiert, die Bauchhaut transversal durchtrennt und der Thorax geöffnet. Die Perfusionskanüle (Durchmesser 0,7 mm) wurde in den linken Herzventrikel eingeführt. Der Abfluß fand durch einen Schnitt am rechten Atrium über die Vena cava statt. Der Blutaustausch erfolgte mittels Vorspülpuffer, gefolgt von Fixanz. Die Perfusionslösungen wurden mit einer Schlauchpumpe (Desaga, Heidelberg) bei einem Druck von 70 mm Hg durch das Gefäßsystem gepumpt.

Die Präparation des Tieres soll nach der Narkose zügig vonstatten gehen, da der Erfolg der Perfusion entscheidend davon abhängt, ob das Herz während der Einleitung der Perfusionslösung noch schlägt und so die Verteilung der Lösung im Gefäßsystem unterstützt. Die Dauer der

Perfusion betrug etwa 30 Minuten. Nach Beendigung wurde das Tier dekapitiert, die Schädelkalotte von dorsal geöffnet und das fixierte Gehirn herauspräpariert. Anschließend wurde es in Fixanz aufgefangen und nach etwa 30 Minuten (DA) bzw. 90 Minuten (5-HT) weiterverarbeitet.

2.3.1 Versuchsansatz Dopamin

Die Tiere wurden ausschließlich von mir perfundiert, um Abweichungen in der Durchführung dieses sensiblen Aufarbeitungsschrittes zu vermeiden. Das Anfertigen der Gehirnschnitte und die immunhistochemische Aufarbeitung der Präparate erfolgte zusammen mit A. Busche im Rahmen der von mir betreuten Diplomarbeit zur qualitativen Bewertung der DA-Innervation des PFC von *Meriones* (siehe S. 81). Die Käfigtiere wurden zeitlich getrennt von den Gehegetieren aufgearbeitet (vergl. Tabelle 2.1). Die beiden Versuchsgruppen dürfen deshalb nicht direkt miteinander verglichen werden. Insgesamt wurden ca. 6.000 Serienschnitte gefärbt. Für die vorliegende Arbeit wurden etwa 450 Schnitte aus 37 Versuchstieren berücksichtigt (Tabelle 2.1). Die Auswertung weiterer Präparate im Rahmen von Folgestudien findet zur Zeit statt.

Die Methode der immunhistochemischen DA-Darstellung wurde von mir gegenüber den zuvor in unserer Arbeitsgruppe angewendeten Verfahren modifiziert. So wurde die Dauer der Perfusion halbiert und auf den Einsatz einer Postfix-Lösung verzichtet. Die Immunhistochemie wurde von der PAP- auf die Biotin-Avidin-Methode umgestellt. Durch diese Änderungen konnte die DA-Darstellung verbessert werden und war besser reproduzierbar. Weiterhin wurde durch die Angleichung der Methoden die parallele Färbung von DA und GABA möglich.

Perfusionslösungen

60 ml Vorspülpuffer (pH 6,2: 0,05 mol Phosphatpuffer in A. dest.)

500 ml Fixanz (pH 7,5: 0,1 mol Phosphatpuffer, 5% Glutardialdehyd in A. dest.). Beide Lösungen enthielten zusätzlich 1% Natriummetabisulfit als Oxidationsschutz.

Schnitt-Technik

Das Gehirn wurde zunächst medial geteilt. Die zu bearbeitende Hemisphäre wurde auf die mediale Schnittkante gedreht und der olfaktorische Bulb entfernt. Anschließend wurde der rostrale Teil in Höhe des Chiasma opticum rechtwinklig zur medialen Seite mit einer Rasierklinge abgetrennt. Die Schnittkante wurde kurz trockengetupft und das Präparat mit Cyanoacrylat so auf einem Metallblock befestigt, daß der rostrale Pol nach oben zeigte. Um ein Trockenfallen des Gewebes zu vermeiden, wurde das Präparat anschließend in eisgekühltem Waschpuffer (pH 7,5: 0,05 mol Trispuffer – TBS –, 0,9 % NaCl, 1% Natriummetabisulfit in A. dest.) an einem Vibratom (Model G, Campden Instruments, Oxford, UK) geschnitten.

Die Dicke der Frontalschnitte betrug 50 µm. Zunächst wurde der rostrale Pol geschnitten und verworfen. Ab einem Durchmesser von etwa 2 mm (Fig. 4 in Paxinos und

Nummer	Alter [d]	Gruppe	Nummer	Alter [d]	Gruppe
1	92	K-Kontr	20	93	K-Kontr
2	92	K-Kontr	21	95	G-Kontr
3	95	K-Kontr	22	92	G-MA
4	91	K-Kontr	23	95	G-MA
5	87	K-MA	24	95	G-MA
6	92	K-Kontr	25	93	G-MA
7	93	K-Kontr	26	92	G-MA
8	94	K-Kontr	27	92	G-MA
9	89	K-MA	28	97	G-MA
10	93	K-MA	29	98	G-MA
11	94	K-MA	30	90	G-MA
12	95	K-MA	31	91	G-MA
13	91	K-MA	32	88	G-Kontr
14	92	K-MA	33	89	G-Kontr
15	91	K-MA	34	90	G-Kontr
16	92	K-MA	35	91	G-Kontr
17	90	K-Kontr	36	93	G-Kontr
18	89	K-Kontr	37	94	G-Kontr
19	87	K-Kontr			

Tabelle 2.1: Versuchstiere Dopamin

Das Alter der Tiere liegt zwischen 87 und 97 Tagen. Zwischen den Versuchsgruppen finden sich keine signifikanten Unterschiede in der Verteilung und den Mittelwerten der Perfusions-tage (F-Test, t-Test).

K-Kontr	Käfig-Kontrolle	n=11	d 87-95 (91,64 ± 2,29)
K-MA	Käfig-Methamphetamin	n= 9	d 87-95 (91,56 ± 2,46)
G-Kontr	Gehege-Kontrolle	n= 7	d 88-95 (91,43 ± 2,64)
G-MA	Gehege-Methamphetamin	n=10	d 90-97 (93,50 ± 2,64)

Watson, 1986) wurde jeder dritte Schnitt für den DA-Ansatz aufgefangen und unter Beachtung der Schnittfolge in eisgekühlten Waschpuffer überführt. Die nächstfolgenden Schnitte wurden verworfen bzw. dienten als Reserve für mißlungene Schnitte und zur Kontrolle. Die Serie endete, nachdem die Commissura anterior den lateralen Ventrikel erreicht hatte und der NAC komplett geschnitten war (Fig. 17 in Paxinos und Watson, 1986), typischerweise nach etwa 70-75 Schnitten, so daß pro Versuchstier jeweils etwa 24 Frontalschnitte pro Seite für die immunhistologische DA-Darstellung zur Verfügung standen.

Immunhistologische Zellfärbung (1. Antikörper)

Die Schnitte wurden zunächst dreimal je 10 Minuten bei 4°C in frischen Waschpuffer überführt. Es folgte die Präinkubation in NGS (normal goat serum, Sigma, Deisenhofen), Verdünnung 1:10 in Waschpuffer mit 0,3% Triton X100 (Sigma) für 30 Minuten bei Raumtemperatur. NGS dient der Absättigung unspezifischer Bindungsstellen der folgenden Antikörper.

Die Schnitte wurden anschließend direkt in das 1. Antiserum (polyclonal rabbit-anti-dopamine, DiaSorin, Stillwater, USA) überführt. Die Bindungsstellen der Antikörper sind gegen Glutardialdehyd-konjugiertes DA gerichtet, das während der Perfusion mit Fixanz im Gewebe entsteht. Die Verdünnung betrug 1:600 in Waschpuffer mit 0,3% Triton X100 und 1% NGS. Die Inkubationszeit war 40 Stunden bei 4°C.

Nummer	Alter [d]	Gruppe	Nummer	Alter [d]	Gruppe
1	113	G-Kontr	25	112	G-MA
2	113	G-Kontr	26	112	G-MA
3	104	K-Kontr	27	109	K-Kontr
4	104	K-Kontr	28	109	K-Kontr
5	105	K-MA	29	110	K-Kontr
6	103	K-MA	30	110	K-Kontr
7	104	K-MA	31	111	K-Kontr
8	104	K-Kontr	32	109	K-Kontr
9	105	K-MA	33	104	G-Kontr
10	108	K-MA	34	104	G-Kontr
11	108	G-Kontr	35	106	G-Kontr
12	109	G-Kontr	36	106	G-Kontr
13	103	K-Kontr	37	111	K-Kontr
14	103	K-Kontr	38	105	G-Kontr
15	104	K-Kontr	39	106	G-Kontr
16	114	K-Kontr	40	106	G-Kontr
17	114	K-Kontr	41	109	K-MA
18	106	G-MA	42	106	K-MA
19	107	G-MA	43	109	G-MA
20	106	G-MA	44	105	G-MA
21	108	G-MA	45	105	G-MA
22	107	G-MA	46	107	G-MA
23	110	G-MA	47	108	K-MA
24	111	G-MA	48	109	K-MA

Tabelle 2.2: Versuchstiere Serotonin

Das Alter der Tiere liegt zwischen 103 und 114 Tagen. Zwischen den Versuchsgruppen finden sich keine signifikanten Unterschiede in der Verteilung und den Mittelwerten der Perfusions-tage (F-Test, t-Test).

K-Kontr	Käfig-Kontrolle	n=15	d 103-114 (107,93 ± 3,92)
K-MA	Käfig-Methamphetamin	n= 9	d 103-109 (106,33 ± 2,24)
G-Kontr	Gehege-Kontrolle	n=11	d 104-113 (107,27 ± 3,20)
G-MA	Gehege-Methamphetamin	n=13	d 105-112 (107,92 ± 2,47)

2.3.2 Versuchsansatz Serotonin

Die Tiere wurden ausschließlich von mir perfundiert, um Abweichungen in der Durchführung dieses sensiblen Aufarbeitungsschrittes zu vermeiden. Das Anfertigen der Gehirnschnitte und die immunhistochemische Aufarbeitung der Tiere erfolgte zusammen mit A. Busche. An der Aufarbeitung einzelner Fälle waren weiterhin C. Dinter, M.-T. Falke, B. Griese und I. Maschmann im Rahmen der von mir betreuten Diplom- und Examensarbeiten beteiligt (siehe S. 81f.). Insgesamt wurden ca. 10.000 Serienschnitte gefärbt. Für die vorliegende Arbeit wurden etwa 850 Schnitte aus 48 Versuchstieren berücksichtigt (Tabelle 2.2). Die Auswertung weiterer Präparate im Rahmen von Folgestudien findet zu Zeit statt. Die immunhistochemische Methode der 5-HT-Darstellung wurde von mir in unserer Arbeitsgruppe etabliert. Dabei wurde das Protokoll dahingehend modifiziert, daß Parallelfärbungen mit anderen Methoden (z.B. Biocytin) möglich sind.

Perfusionslösungen

60 ml Vorspülpuffer (pH 7,2: 0,1 mol Phosphatpuffer in A. dest.)

500 ml Fixanz (pH 7,4: 0,1 mol Phosphatpuffer, 4% Paraformaldehyd in A. dest.)

Schnitt-Technik

Das Gehirn wurde zunächst medial geteilt. Die zu bearbeitende Hemisphäre wurde auf die mediale Schnittkante gedreht und der olfaktorische Bulb entfernt. Anschließend wurde der rostrale Teil in Höhe der Fimbria hippocampi vom caudalen Teil getrennt. Das Präparat wurde mit dieser Schnittkante nach unten aufgefroren (Einbettung: Tissue-Tek, Sakura, Tokyo). An einem Gefriermikrotom (Frigocut 2700, Reichert-Jung, Wien) wurden dann 20 µm dicke Frontalschnitte angefertigt, von denen jeder dritte in eisgekühltem Waschpuffer (pH 7,4: 0,1 mol Phosphatpuffer, 0,9 % NaCl in A. dest.) aufgefangen wurde. War ein Schnitt mißlungen, so wurde statt dessen der nächstfolgende genommen. Weitere Schnitte dienten als Kontrollen. Der rostro-caudale Umfang des geschnittenen Gebietes ist identisch mit der DA-Darstellung (s.o.). Pro Versuchstier und Seite wurden etwa 60 Schnitte aufgefangen.

Immunhistologische Zellfärbung (1. Antikörper)

Die Schnitte wurden zunächst dreimal je 10 Minuten bei 4°C in frischen Waschpuffer überführt. Danach erfolgte eine zehnminütige Behandlung mit 1% H₂O₂ in Waschpuffer bei 4°C. Im Anschluß an drei erneute Waschgänge folgte die Präinkubation in NGS (normal goat serum, Sigma), Verdünnung 1:10 in Waschpuffer mit 0,3% Triton X100 (Sigma) für 30 Minuten bei Raumtemperatur.

Die Schnitte wurden anschließend direkt in das 1. Antiserum (polyclonal rabbit-anti-serotonin, DiaSorin, Stillwater, USA) überführt. Die Bindungsstellen der Antikörper sind gegen Formaldehyd-konjugiertes 5-HT gerichtet, das während der Perfusion mit Fixanz im Gewebe entsteht. Die Verdünnung betrug 1:20.000 in Waschpuffer mit 0,3% Triton X100 und 1% NGS. Die Inkubationszeit war 18 Stunden bei 4°C.

Immunhistologische Zellfärbung (ABC-Methode)

Die folgenden Schritte sind für beide dargestellten Transmitter identisch. Der immunhistologische Transmitter-Nachweis wurde mit polyklonalen Antikörpern nach der ABC-Methode (Avidin-Biotin-Complex) weitergeführt. Zunächst erfolgte die Inkubation im biotinylierten 2. Antikörper (goat-anti-rabbit, Sigma), dann in Avidin-Peroxidase (Sigma). Die Verdünnung betrug jeweils 1:20 in TBS (0,05 mol Trispuffer, 0,9% NaCl, pH 7,6) mit 1% NGS. Inkubiert wurde für 30 Minuten bei Raumtemperatur. Nach jedem Schritt wurden die Schnitte je dreimal 10 Minuten in TBS bei Raumtemperatur gewaschen.

Als Färbereagenz diente eine Lösung von 0,05 % Diaminobenzidin (DAB, Sigma) in TBS mit 0,01% H₂O₂. Hierbei wird H₂O₂ durch die Peroxidase in H₂O und Sauerstoffradikale – welche das DAB oxidieren und zur Ausfällung von Farbstoffkomplexen führen – gespalten. Das oxidierte DAB hat eine braun-schwarze Farbe und färbt somit immunreaktive Zellen und deren Neuropil an. Die Schnitte wurden dann nochmals dreimal 10 Minuten in TBS gewaschen und unter Beachtung der Schnittfolge anschließend auf gelatinebeschichtete Objektträger aufgezogen und über Nacht bei 30°C getrocknet. Die Entwässerung erfolgte durch je zehnminütige Tauchbäder in einer Reihe von

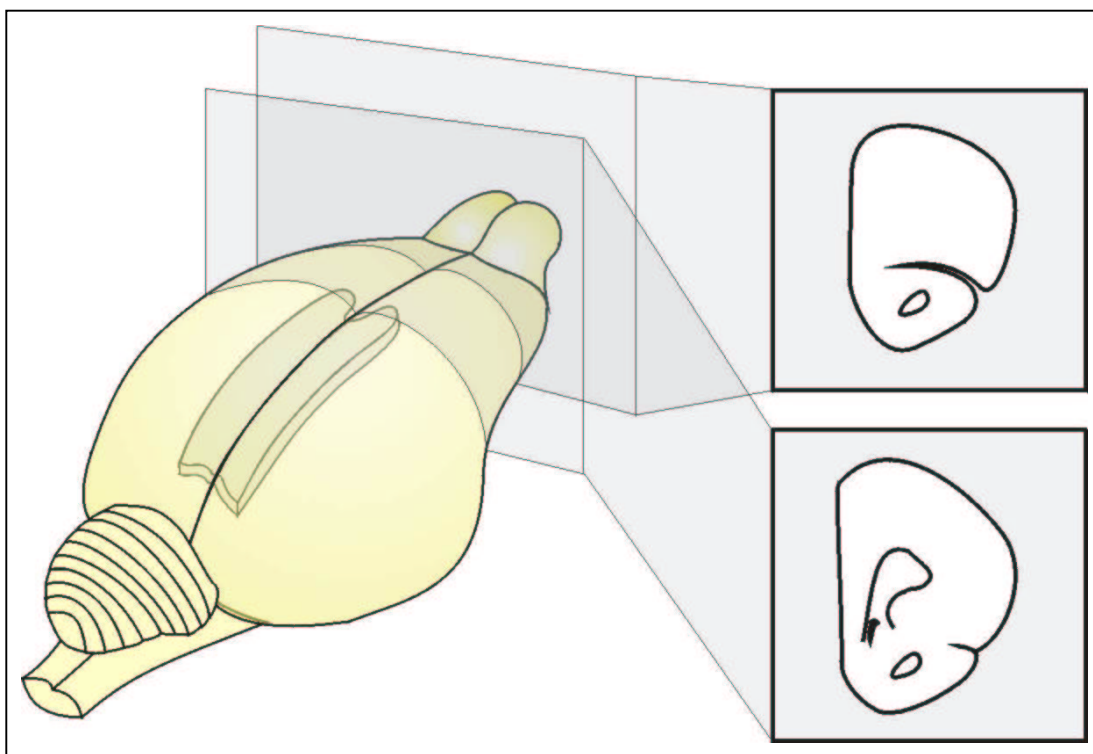


Abb. 2.3: Ausgewertete Schnittebenen im präfrontalen Kortex.

Der ausgewertete Bereich umfasst die rostral des Corpus callosum gelegenen Anteile des PFC. Mit dem Erreichen des Forceps minor des Corpus callosum (unterer Schnitt) endete die Serie.

Ethanol/Wasser-Gemischen mit steigenden Alkoholkonzentrationen von 40%, 70%, 80%, 90%, 96% und 100%, gefolgt von dreimal 10 Minuten in reinem Xylol. Abschließend wurden die Präparate in DePeX (Serva, Heidelberg) unter Deckgläschen eingebettet, getrocknet und im Dunkeln aufbewahrt.

Zu allen Versuchen wurden Kontrollen angefertigt. Die Kontrollschnitte wurden wie die anderen Präparate behandelt, wobei der 1. Antikörper in der Inkubationslösung fehlte oder zunächst mit einem DA- bzw. 5-HT-Rinderserumalbumin-Konjugat (Sigma, Deisenhofen) präinkubiert wurde. Die Kontrollschnitte zeigten keine immunoreaktiven Strukturen.

2.4 Untersuchte Bereiche

Präfrontaler Kortex

Die untersuchten Ebenen sind die prägenualen Anteile des PFC. Anhand anatomischer Markierungspunkte wurden zwei Schnittebenen definiert, innerhalb derer jeweils drei aufeinander folgende Schnitte ausgewählt wurden. Die rostrale Ebene wurde durch die Tiefe des Sulcus rhinalis definiert, der entlang der dorsoventralen Achse bis genau über die intrabulbäre Commissura anterior reichen sollte (siehe Abb. 2.3). In diesen Schnitten wurde ein medialer Messbereich in den prälimbischen Kortex gelegt, indem die Strecke zwischen der Verlängerung der Fissura rhinalis zur medialen Kante und dem Beginn der mediodorsalen Konvexität halbiert wurde. Dorsal dieses Punktes wurden zwei Bilder der Laminae des prälimbischen Kortex so aufgenommen, daß die schmale

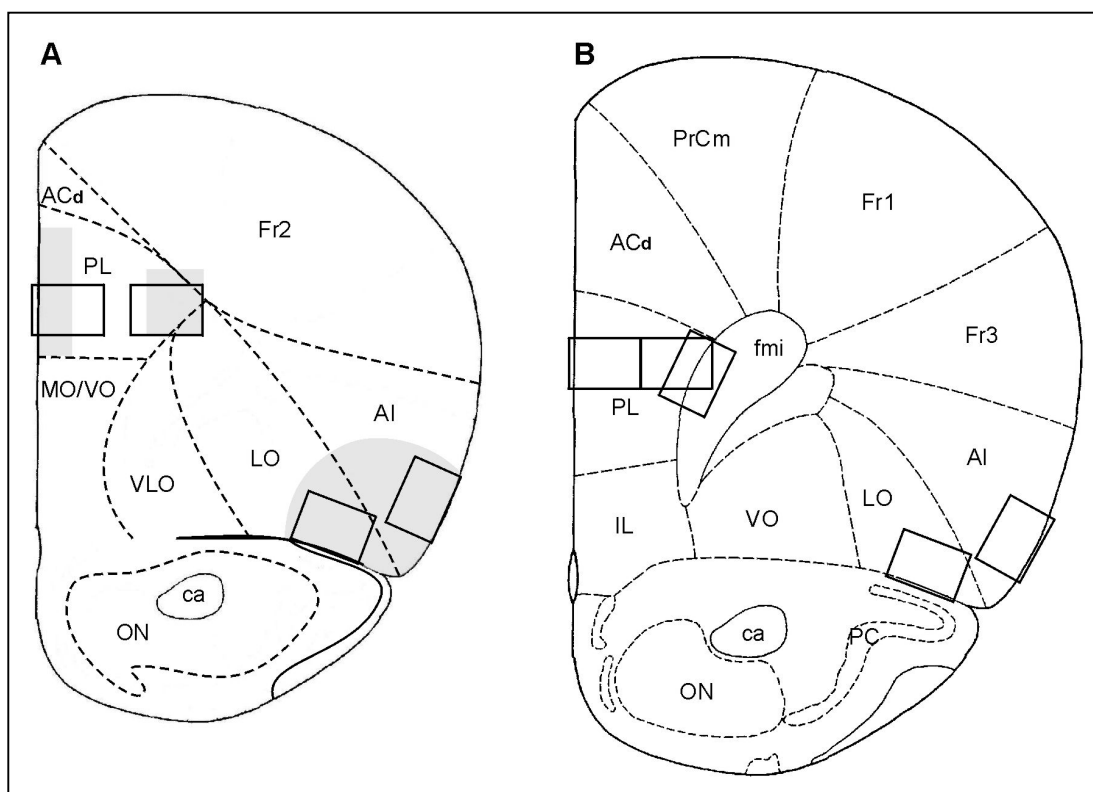


Abb. 2.4: Die ausgewerteten Frontalschnitte des rechten präfrontalen Kortex.

Repräsentative Schnitte der beiden präcallosalen Schnittenebenen. (A) Rostrale Ebene. (B) Caudale Ebene. Die zur DA-Quantifizierung mittels Camera lucida gezeichneten Areale im medialen und orbitalen PFC sind grau unterlegt. Die eingesetzten Rechtecke im PFC umreißen die für die computer-gestützte Quantifizierung 5-HTerger Fasern aufgenommenen Bilder. (verändert nach Figs. 6/7 und 8 aus Paxinos und Watson, 1986).

ACd	Cingulärer Kortex, dorsal	LO	Lateral orbitaler Kortex
AI	Agranulärer insulärer Kortex	ON	Nucleus olfactorius
ca	Commissura anterior	PC	Piriformer Kortex
fmi	Forceps minor corpus callosum	PL	Prälimbischer Kortex
Fr1	Frontaler Kortex Area 1	PrCm	Präcentral medialer Kortex
Fr2	Frontaler Kortex Area 2	VLO	Ventrolateral orbitaler Kortex
Fr3	Frontaler Kortex Area 3	VO	Ventral orbitaler Kortex
IL	Infralimbischer Kortex		

Bildkante parallel zur medialen Kante des PFC verlief. Das erste Bild umfasste die superfiziellen Laminae I-IIIa, das zweite Bild die tiefen Schichten IIIb-V (siehe Abb. 2.4.A).

Die caudale Ebene wurde durch das Erreichen des Forceps minor des Corpus callosum definiert. Diese Faserstruktur zeichnet sich als helles Areal in der Mitte der präfrontalen Koronarschnitte ab und beendete die präfrontale Schnittserie. Die drei letzten Schnitte dieser Serie wurden quantifiziert. Die Definition der Lage der Messfenster folgte dem oben beschriebenen Schema, jedoch lagen diese nun ventral des Mittelpunktes der medialen Kante. Es wurden zwei Bilder der Laminae des prälimbischen Kortex so aufgenommen, daß die schmale Bildkante parallel zur medialen Kante des PFC verlief. Das erste Bild umfasste die superfiziellen Laminae I-IIIa, das zweite Bild die tiefen Schichten IIIb-V. Ein drittes Bild lag parallel zum Genu corporis callosum in der Lamina VI und dem Beginn des Marklagers (siehe Abb. 2.4.B).

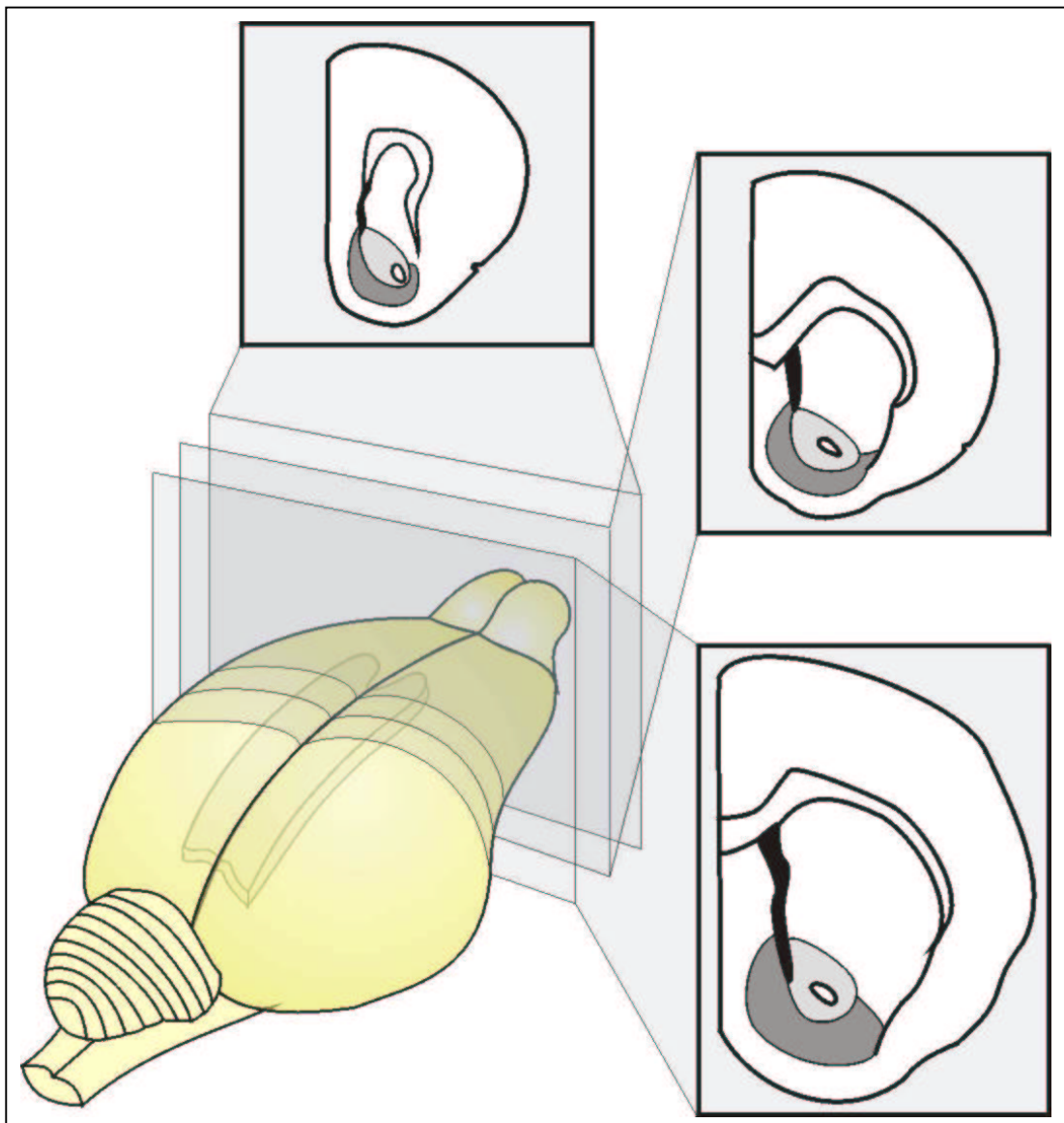


Abb. 2.5: Ausgewertete Schnittebenen im rechten Nucleus accumbens.

Die monoaminerge Innervationsdichte wurde in insgesamt acht aufeinander folgenden Schnitten im NAC gemessen. Beginn der Serie war mit der vollständigen Öffnung der sichelförmigen Capsula externa und der Ausprägung des darin liegenden dorsalen Striatums (oben). Die Serie endete, wenn die Commissura anterior den Seitenventrikel erreicht hatte (unten).

Nucleus accumbens

Die untersuchten Ebenen umfassen den größten Teil der rostrocaudalen Ausdehnung des NAC, innerhalb dessen die Subareale Core und Shell deutlich voneinander unterschieden werden können (Abb. 2.5). Der sogenannte rostrale Pol, ein Gebiet in dem die Subareale ineinander verschachtelt auftreten, wurde nicht berücksichtigt. Die vier Messfenster im Shell lagen direkt untereinander ventromedial des Seitenventrikels in der „Cone“-Region des medialen NAC. Die zwei Messfenster im Core wurden untereinander liegend medial der Commissura anterior im zentralen NAC aufgenommen (siehe Abb. 2.6). Innerhalb der rostrocaudalen Abfolge der Schnitte wird der Abstand zwischen Commissura anterior und dem Seitenventrikel kleiner, so daß die Messfenster im Core

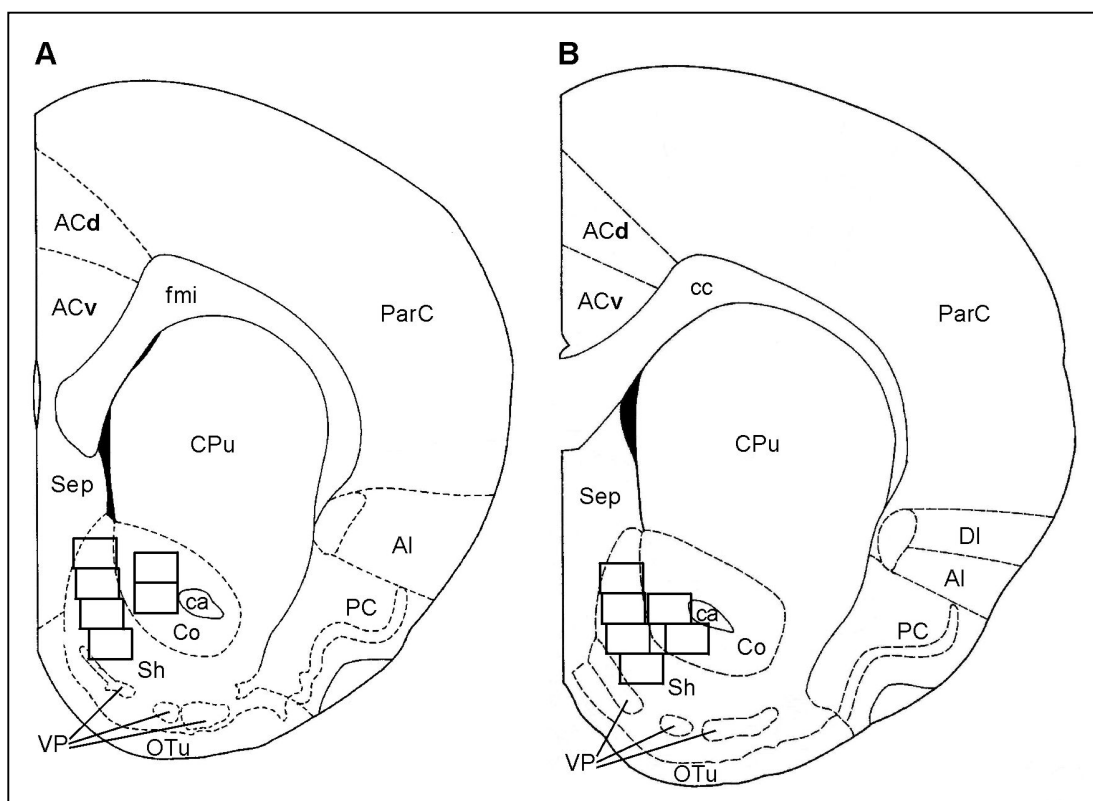


Abb. 2.6: Ausgewertete Frontalschnitte des rechten Nucleus accumbens.

Repräsentative Schnitte zweier Ebenen des NAC. (A) Rostrale Ebene. (B) Caudale Ebene. Die eingesetzten Rechtecke im NAC geben die Lage der für die computergestützte Quantifizierung 5-HTerger und DAerger Fasern aufgenommen Bilder wieder. (verändert nach Figs. 11 und 13 aus Paxinos und Watson, 1986).

AC _d	Anterior cingulärer Kortex, dorsal	fmi	Forceps minor corpus callosum
AC _v	Anterior cingulärer Kortex, ventral	OTu	Olfaktorischer Tuberkel
AI	Agranulär insulärer Kortex	ParC	Parietaler Kortex
ca	Commissura anterior	PC	Piriformer Kortex
cc	Corpus callosum	Sep	Septum
Co	NAC Core	Sh	NAC Shell
CPu	Caudatus/Putamen	VP	Ventrales Pallidum
DI	Dysgranulär insulärer Kortex		

auf den zwei caudalsten Schnitten nebeneinander liegend ventral der Commissura anterior aufgenommen wurden.

2.5 Auswertung

Alle im folgenden beschriebenen Auswertungen wurden als Blindstudien durchgeführt.

Mikroskopie

Die Bereitstellung von Bildern für die quantitative Analyse erfolgte an einem Durchlichtmikroskop (Polyvar, Reichert-Jung, Wien) im Hellfeld bei 250-facher Vergrößerung. Zur Kontrastverstärkung wurden die Präparate durch ein Grünfilter beleuchtet. Bei den 50 µm dicken Schnitten ergaben sich, bedingt durch die Penetrationstiefe der Antikörper von etwa 10 µm, zwei gefärbte Bereiche an den

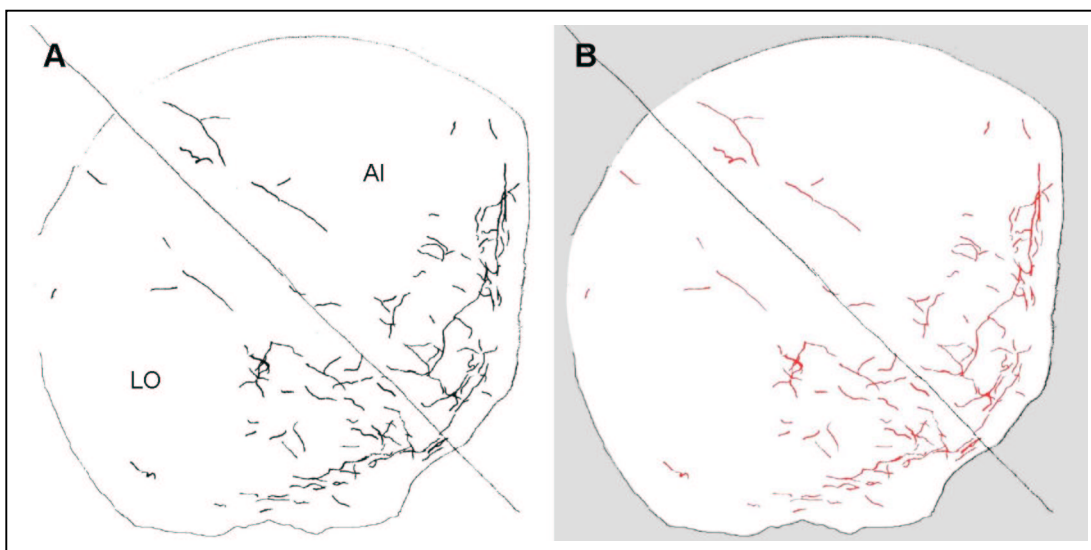


Abb. 2.7: Zeichnerische Darstellung dopaminerger Fasern im orbitalen präfrontalen Kortex.

(A) Gescannte Originalzeichnung mit Hilfslinien. (B) Bearbeitete Zeichnung: Die Messfläche ist weiß unterlegt, die quantifizierten Fasern sind farbig und die nicht gemessenen Hilfslinien sind schwarz dargestellt.

AI Agranulär insulärer Kortex

LO Lateral orbitaler Kortex

beiden Schnittflächen. Ausgewertet wurde jeweils die oben liegende Schnittfläche – d.h. die rostrale bei den Frontalschnitten aus PFC und NAC.

Zeichnerische Faserdarstellung

DA-immunoreaktive Fasern aus dem medialen und orbitalen PFC wurden am Durchlichtmikroskop (Polyvar, s.o.) bei 250-facher Vergrößerung mittels einer Camera lucida von U. Schröder gezeichnet. Hierbei wurden alle detektierbaren Fasern in beiden Schärfenebenen mittels eines technischen Zeichenstiftes dargestellt. Die Zeichnungen wurden anschließend eingescannt (Hewlett Packard ScanJet 4C/T, Auflösung 300 dpi). Es schloß sich eine Nachbearbeitung zur Korrektur von Zeichenartefakten und Verschmutzungen an. Die Festlegung der Meßflächen erfolgte anhand eingezeichneter Markierungslinien (siehe Abb. 2.7.A), wobei diese Linien anschließend gelöscht wurden, so daß sie nicht als DAerge Fasern in die Messung eingingen (siehe Abb. 2.7.B). Die beschriebenen Schritte und letztendlich die Messung des Faseranteils an der Gesamtfläche wurden mit einer Bildanalysesoftware (KS300) und einem darin laufenden – von mir geschriebenen – Makroprogramm durchgeführt. Die Faserdiskriminierung vor dem weißen Papierhintergrund erfolgte hierbei problemlos mittels einer einfachen Grauwertschwelle.

Computergestützte Faserquantifizierung

Die am Mikroskop (Polyvar, s.o.) bei 250-facher Vergrößerung eingestellten Bilder der DAergen und der 5-HTergen Innervation des NAC sowie der 5-HTergen Fasern im PFC wurden mit einer hochauflösenden digitalen Videokamera (ProgRes 3008, s.o.) an einen Rechner übertragen und mittels eines Bildanalyseprogramms (KS300, s.o.) bearbeitet. Das dabei benutzte und von mir für diese Aufgabe entwickelte Makroprogramm folgt dem in Abschnitt 2.1 besprochenen Beispiel.

Statistik

Zur grundlegenden Analyse der gewonnenen Daten wurden die zu vergleichenden Daten mit dem F-Test auf gleiche oder unterschiedliche Varianzen geprüft. Anschließend wurde der jeweils geeignete t-Test eingesetzt. Bei umfassenden Datensätzen, wie der Untersuchung der 5-HTergen Laminierung des PFC oder der Wechselwirkung zwischen dem rostrocaudalen Gradienten und den Versuchsvariablen im NAC, wurde zusätzlich eine Varianzanalyse (ANOVA) durchgeführt. Die im Einzelfall benutzten Tests sind bei der graphischen Präsentation der Daten in Abschnitt 3 angegeben. Alle statistischen Tests wurden mit zweiseitiger Fragestellung durchgeführt.

Die Statistik wurde mittels des Programms Statistica 97 berechnet, die Graphiken im Ergebnisteil wurden in Excel 97 erstellt und anschließend nachbearbeitet.

2.6 Dokumentation

Zur Darstellung von Innervationsdichten und -verläufen bei 250-facher Vergrößerung wurden Bilder verwendet, die für die Messung (s.o.) aufgenommen worden sind. Lediglich Übersichtsaufnahmen sowie Detailbilder mit 400-facher Vergrößerung wurden extra für den Ergebnisteil erstellt. Die Aufnahmen sind unbearbeitet, mit der Ausnahme der durchgeführten Shading-Korrektur, die durch die Hintergrundnormierung zu einer kontrastreichereren Darstellung dünner Fasern und damit zu einer Verbesserung der Druckergebnisse führt.

Die Aufnahmegeräte und -bedingungen sind identisch mit den oben beschriebenen.

3. Ergebnisse

3.1. Qualitative Befunde

Die immunhistochemische Darstellung **dopaminhaltiger** Neurone (Abb. 3.1) zeigt die aus der Literatur bekannte Lage der Somata in den Kernen der Substantia nigra pars compacta (A9) und der ventralen tegmental Area (A10) des Mesenzephalons. Die Somata sind durchgehend stark angefärbt und lassen sich eindeutig von nicht immunoreaktiven Zellen unterscheiden. Die kortikale Verteilung der DAergen Neuriten (Abb. 3.2) entspricht den dazu bekannten Befunden (Descarries et al., 1987). Eine hohe kortikale Faserdichte findet sich im medialen PFC.

Die Faserdarstellung im NAC ist kontrastreich und zeigt qualitative Unterschiede der Innervation von Core und Shell (Abb. 3.3), wiederum im Einklang zur Literaturlage (Voorn et al., 1986). Die Fasern im Core tragen weniger und kleinere Varikositäten, die Faserdichte und die Verzweigung der Fasern ist geringer. Im Gegensatz dazu sind die immunonegativen Somata im Shell dicht von korbartig angeordneten gefärbten Terminalien umgeben und zeichnen sich deutlich als Lücken im dichten Fasergeflecht ab. Allgemein lassen sich die DAergen Strukturen von *Meriones* mit der eingesetzten Methode gut darstellen. Es kommt zu einer leichten unspezifischen Anfärbung von Zellsomata im Kortex und im NAC, die schwarz gefärbten DAergen Neuriten lassen sich jedoch gut davon unterscheiden.

Die Lokalisation der gefärbten **serotoninhaltigen** Somata entspricht den aus der Ratte bekannten Befunden (Steinbusch, 1984). Im Hirnstamm (Abb. 3.1) lassen sich die Nuclei raphe dorsalis (B7) und medialis (B8) lokalisieren. Die Neurone sind deutlich schwarz angefärbt, während keinerlei unspezifische Markierung anderer Zellkörper gefunden wurde. Die Innervation des Neokortex (Abb. 3.2) weist einen rostrocaudalen Gradienten auf: eine sehr massive Innervation aller Laminae findet sich im PFC, eine laminäre und weniger kompakte in parietalen Arealen. Der Neokortex zeigt eine deutlich unterschiedliche Innervationsdichte der Laminae, mit vielen Fasern in Lamina I – außerhalb des PFC auch in Lamina IV –, sowie unmittelbar am Corpus callosum. Diese Laminierung ist an den Schnittpräparaten bereits mit bloßem Auge zu sehen. Im PFC sind in Übereinstimmung mit der Literatur (Mamounas et al., 1991) zwei morphologisch unterschiedliche Fasertypen zu erkennen (Abb. 3.2). d-Fasern tragen wenige und kleine fusiforme Varikositäten und sind in allen Laminae zu finden. m-Fasern haben einen dichten Besatz mit teilweise sehr großen sphärischen Varikositäten. Diese Fasern kommen hauptsächlich in den oberflächennahen Laminae I-III vor.

In den Subarealen des NAC (Abb. 3.3) ist die 5-HTerge Innervation wiederum morphologisch unterschiedlich. Die Faserdichte im Core ist geringer als im Shell. Die Neuriten im Core sind wenig verzweigt und entsprechen der für d-Fasern beschriebenen Morphologie, während die Innervation des Shell stärker verzweigt ist und dem m-Fasertyp entspricht.

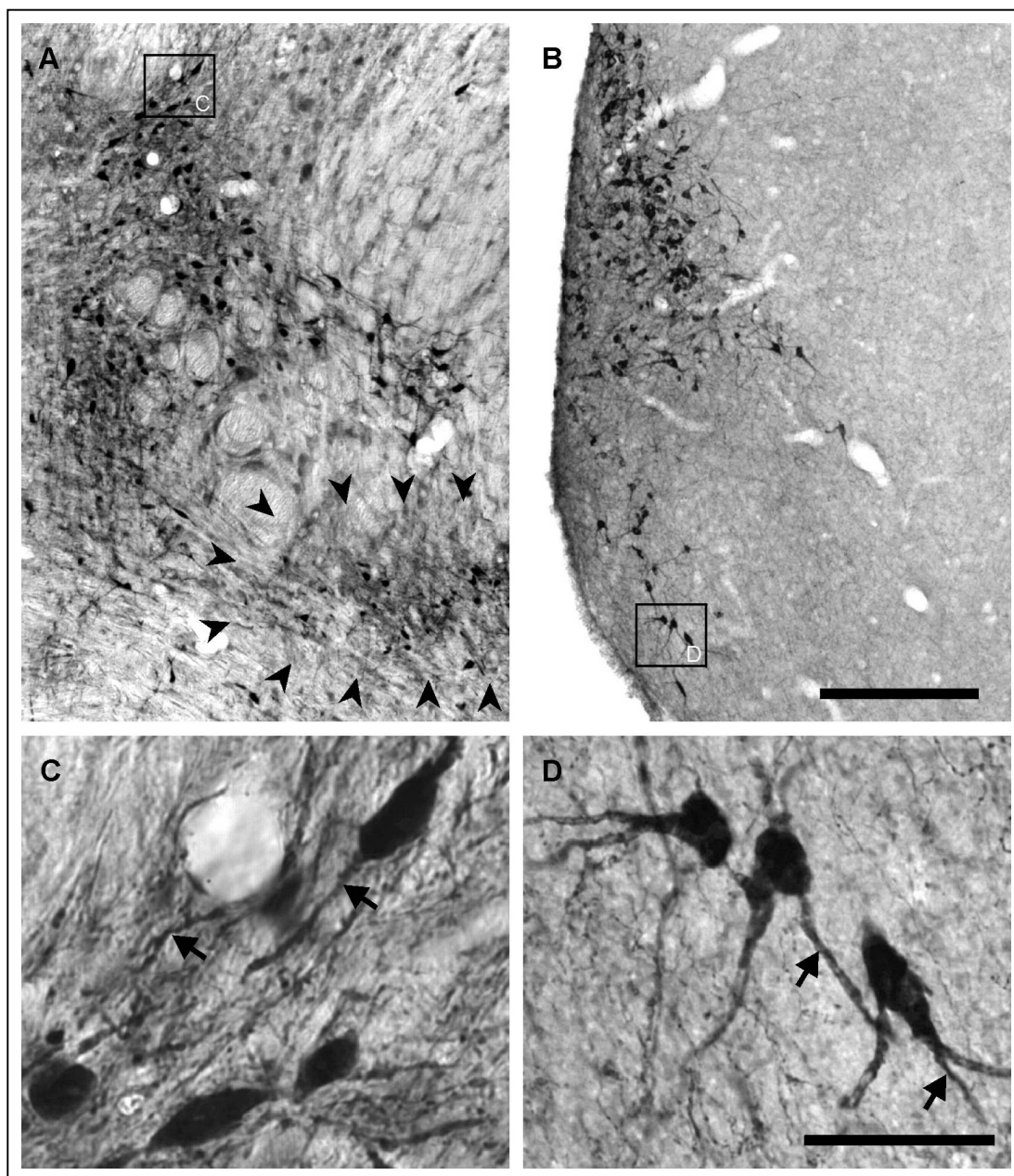
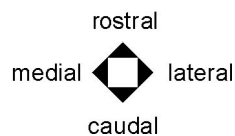


Abb. 3.1: Darstellung der dopaminergen und der serotoninergen Kerngebiete im Mesenzephalon der rechten Hirnhälfte.



(A) Das Kerngebiet der ventralen tegmental Area. Rechts unten im Bild sind medial gelegene DAerge Somata der Substantia nigra pars compacta zu erkennen (Pfeilspitzen). (B) Überblick des Nucleus raphe medialis an der Schnittkante zwischen den beiden Hirnhälften.

(C+D) sind Ausschnitte der oberen Bilder bei hoher Vergrößerung. Man beachte die Größenverhältnisse zwischen den angeschnittenen Dendriten der Projektionsneurone und den dazwischen liegenden immunoreaktiven Neuriten. Die Zellen beider Transmittersysteme sind durchgängig schwarz gefärbt, was auf einen hohen Gehalt an DA (C) bzw. 5-HT (D) schließen lässt. Insbesondere die DAergen Somata zeigen die typische spindelförmige Gestalt vieler monoaminergen Projektionsneurone des Mesenzephalons.

Balken = 100µm (A, B), 500 µm (C, D).

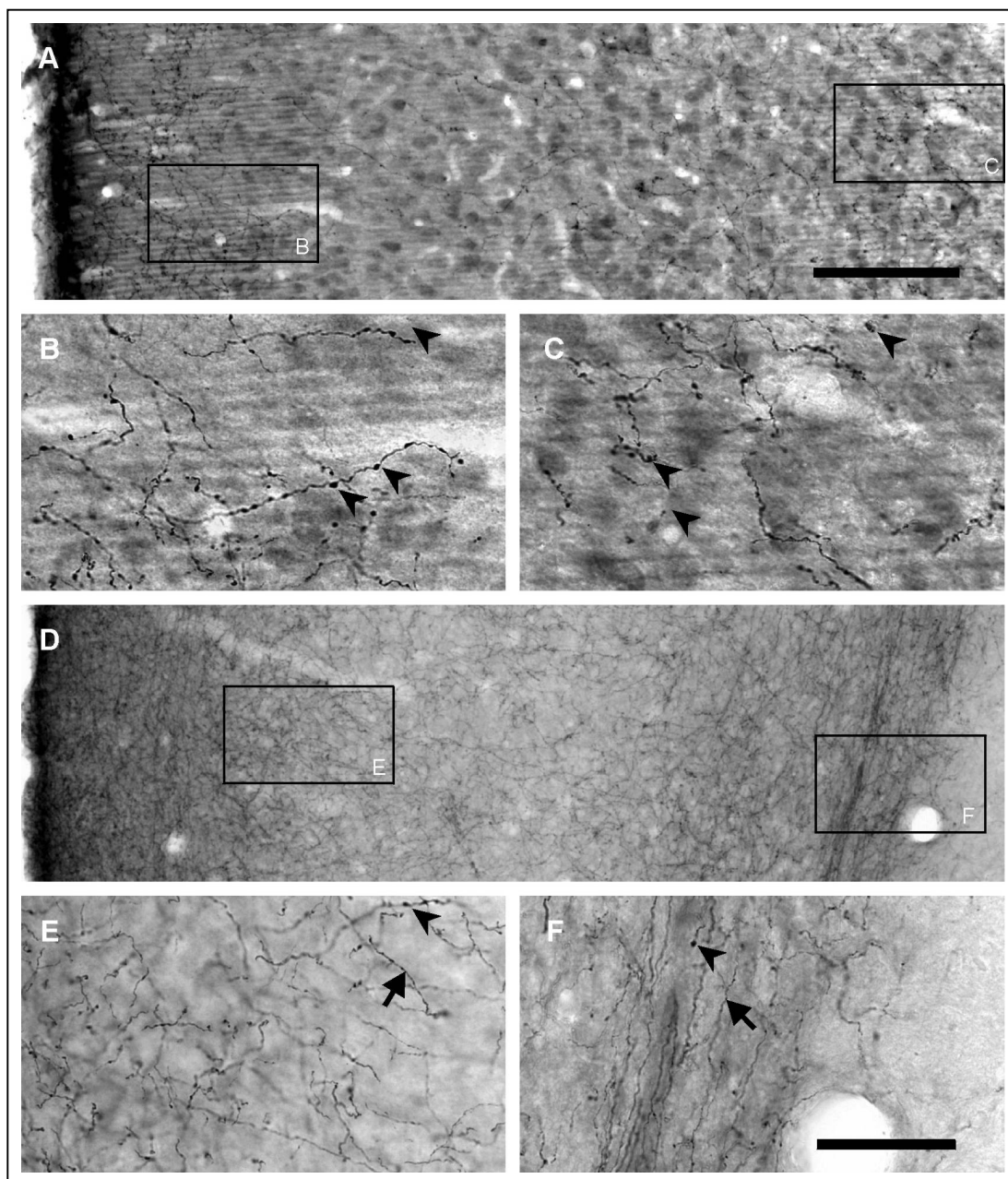
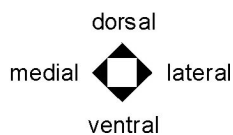


Abb. 3.2: Die dopaminerge und die serotoninerge Innervation des medialen präfrontalen Kortex.



(A) Die Laminae des prälimbischen Kortex in der DA-Färbung. Die Faser-
verteilung ist ähnlich wie bei 5-HT: die höchste Innervationsdichte findet sich in
den Laminae I und II sowie in Lamina VI. Die unteren Bilder sind Vergröße-
rungen der Laminae II und III (B) sowie der Grenze von Lamina VI und der
weißen Substanz (C).

(D) Überblick der 5-HTergen Innervation aller Laminae des prälimbischen Areals im medialen PFC.
Man erkennt die hohe Faserdichte in den superfiziellen Laminae I und II, sowie in Lamina VI und dem
Beginn der weißen Substanz. Die dazwischen liegenden Pyramidenzellschichten III und V fallen
demgegenüber deutlich ab. (E) Ausschnitt von (D) an der Grenze der Laminae II und III bei hoher
Vergrößerung. (F) Ausschnitt von (D) in Lamina VI und weißer Substanz. Zwei 5-HTerge Fasertypen
können unterschieden werden: m-Fasern mit großen, sphärischen Varikositäten (Pfeilspitzen) und d-
Fasern mit kleinen, fusiformen Varikositäten (Pfeile).

Balken = 300µm (A, D), 100µm (B, C, E, F).

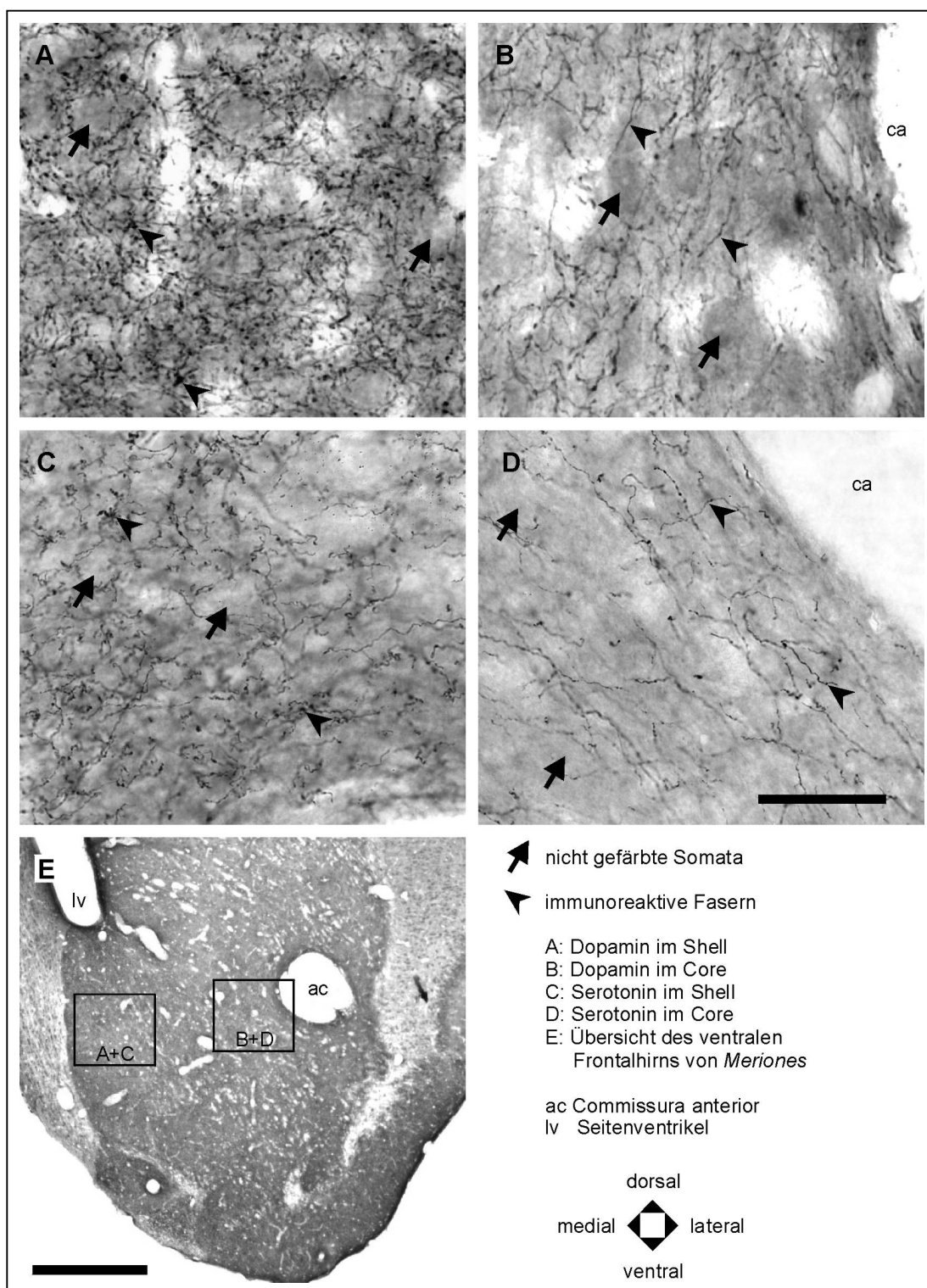


Abb. 3.3: Die dopaminerge und die serotoninerge Innervation der Subregionen Shell und Core des Nucleus accumbens.

Die Bilder A-D sind vergrößerte Ausschnitte der Übersichtsaufnahme des ventralen Vorderhirns (E). Die Lage der Ausschnitte wird durch die eingesetzten Rechtecke in (E) symbolisiert. Bei beiden Transmittern ist die Faserdichte im Shell erkennbar höher (A+C). Die Innervation des Shell weist viele und teilweise große Varikositäten auf (Pfeilspitzen). Fasern im Core (B+D) wirken hingegen glatt mit wenigen Varikositäten und Verzweigungen. Die DAerge Innervation des Shell ist derart engmaschig, daß die immunonegativen Somata von korbartigen Faserstrukturen eng umgeben sind und sich deutlich abzeichnen (Pfeile).

Balken = 200µm (A-D), 1000µm (E).

3.2 Quantitative Befunde

Befunde im präfrontalen Kortex

Die **dopaminerge** Faserdichte im prälimbischen Areal des rechten medialen PFC (Abb. 3.4) zeigt bei Tieren aus Gehegeaufzucht im Vergleich zwischen der Kontroll- und der MA-Gruppe in keinem der beiden kortikalen Meßbereiche signifikante Unterschiede. Die kortikale Innervationsdichte ist in den tiefen Laminae V/VI um 25% geringer als in den superfiziellen Laminae I/II. Dieser Unterschied tritt bei Kontrolltieren und bei MA-behandelten Tieren gleichermaßen auf.

In Abb. 3.5 sind die Meßergebnisse der DAergen Innervationsdichten in zwei Subarealen des rechten orbitalen PFC dargestellt. Die Präparate der beiden Haltungsbedingungen wurden zeitlich getrennt aufgearbeitet und können deshalb nicht direkt miteinander verglichen werden (vergl. Material und Methoden, S. 20f.). Die im agranulären insulären Kortex der rostralen Meßebene von Kontrollen beider Aufzuchtbedingungen gemessenen Werte werden deshalb jeweils mit einem Faktor X multipliziert und gleich 100 gesetzt. Mit diesem Faktor werden die übrigen Meßwerte einer Untersuchungsgruppe geeicht. Die Faserdichte von MA-behandelten Käfigtieren ist gegenüber der Kontrollgruppe im lateral-orbitalen Subareal beider Schnittebenen verringert. Die Unterschiede betragen 37% in der rostralen und 24% in der caudalen Meßebene. Auch die Innervation des agranulär-insulären Kortex zeigt diese Tendenz, jedoch wird hier nicht das Signifikanz-

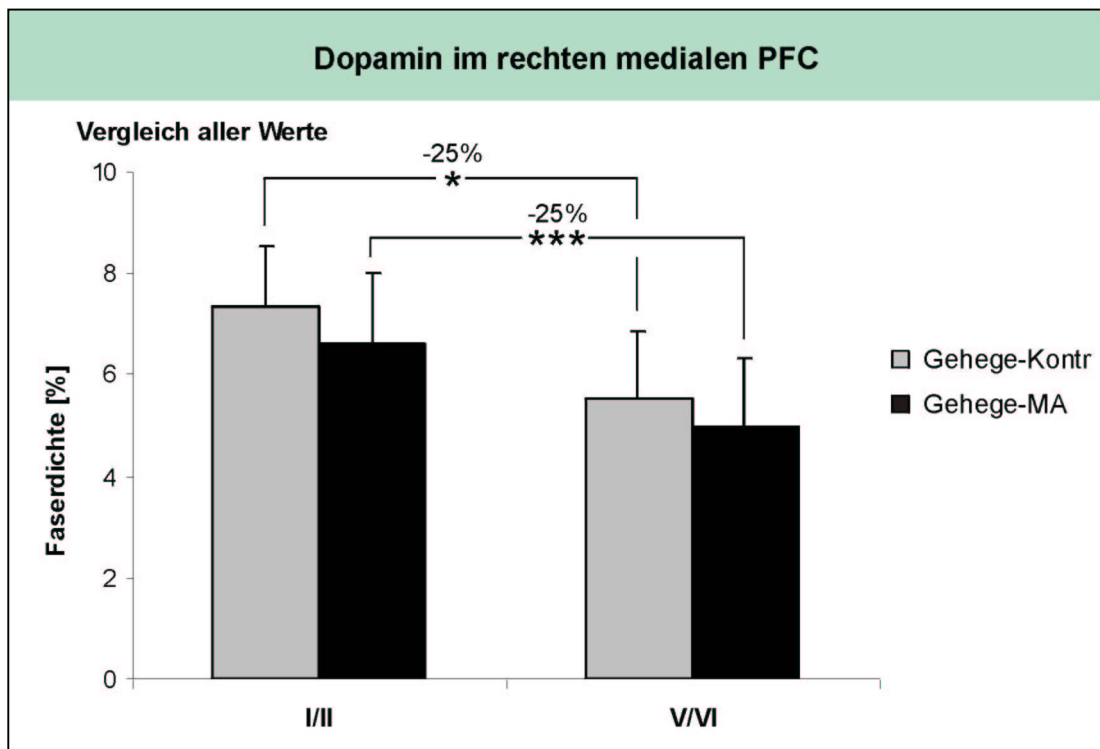


Abb. 3.4: Vergleich der dopaminergen Innervation superfizieller und tiefer Laminae des medialen präfrontalen Kortex bei Gehegetieren.

Die Grafik zeigt den Einfluß von MA auf die DAerge Faserdichte im prälimbischen Subareal des medialen PFC von Gehegetieren. Der Vergleich der Kontrollen mit den pharmakologisch behandelten Tieren ergab keine signifikanten Unterschiede. Beide Versuchsgruppen zeigen eine um etwa 25% geringere Innervationsdichte in den Laminae V und VI im Vergleich mit den Laminae I und II. t-Test; * $p < 0,05$; *** $p < 0,001$.

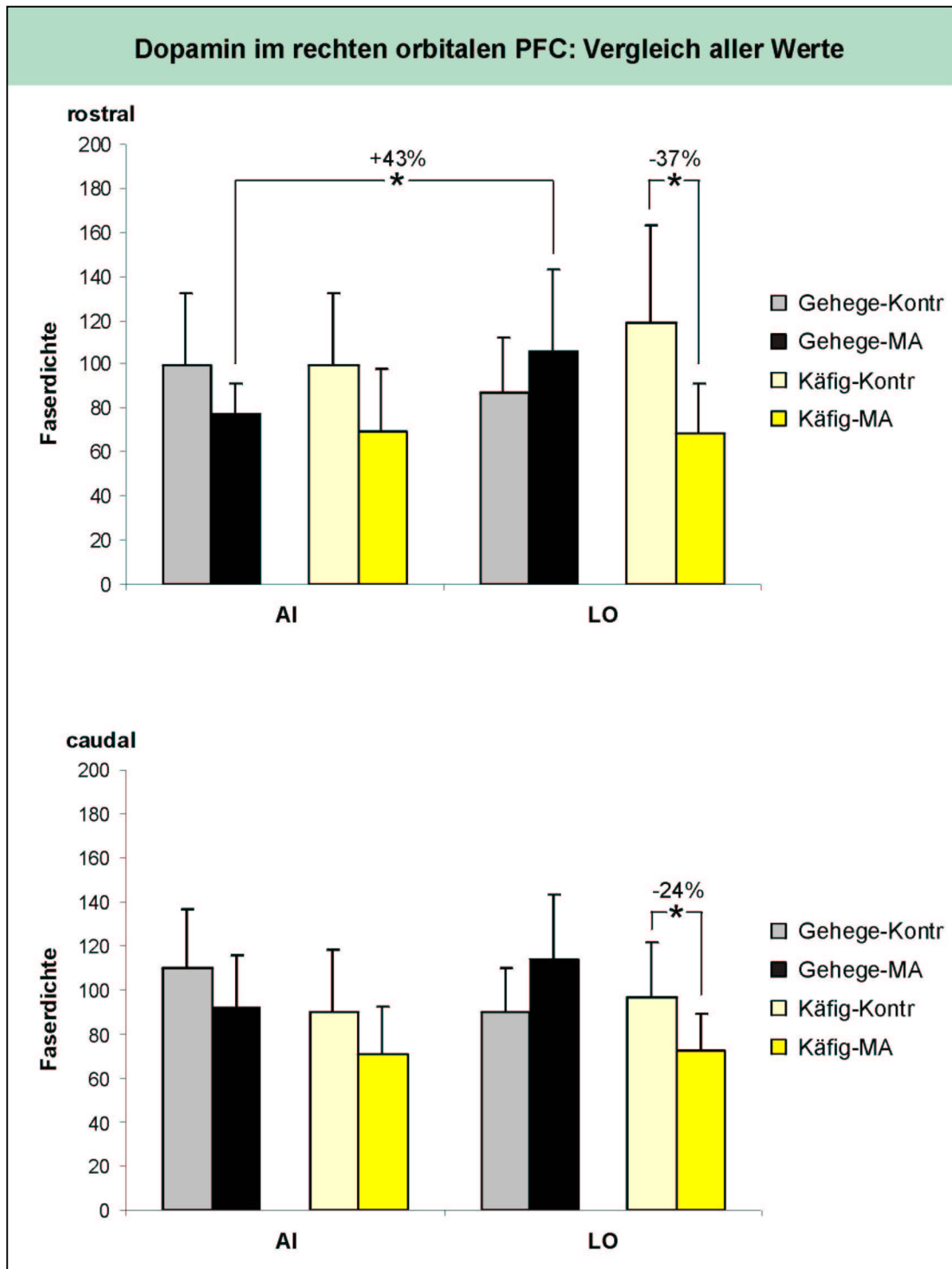


Abb. 3.5: Die dopaminerge Innervation der Subareale des rechten orbitalen präfrontalen Kortex. Bei Gehegeaufzucht findet sich nach MA-Behandlung in der rostralen Ebene eine signifikant höhere Faserdichte im lateral-orbitalen Kortex (LO) gegenüber dem agranulär-insulären Kortex (AI). Generell ist bei den MA-behandelten Gehegtieren eine geringere Innervationsdichte in AI und eine höhere Dichte in LO festzustellen, die aber bei allen Vergleichen die Signifikanzgrenze verfehlt. Bei Käfigaufzucht führt die MA-Behandlung zu einer generellen Absenkung der Faserdichte, die in LO signifikant ist, aber in AI die Signifikanzgrenze knapp verfehlt. t-Test; * $p < 0,05$.

niveau erreicht. Bei der Gehege-MA-Gruppe tritt ein Unterschied in der Faserdichte zwischen beiden orbitalen Kortexarealen auf. Die Innervationsdichte des lateral-orbitalen Kortex liegt rostral um 43% über dem Wert der Faserdichte des agranulär-insulären Kortex. Im Gegensatz zu den Käfigtieren zeigen Gehegetiere keine Unterschiede zwischen der Kontroll- und der MA-Gruppe.

Der Vergleich der **serotoninerger** Innervation des medialen PFC (Abb. 3.6) von Gehegetieren zeigt signifikante Unterschiede zwischen MA-behandelten Tieren und Kontrolltieren in der caudalen Ebene. Die Faserdichte der pharmakologisch behandelten Tiere ist in der linken Hemisphäre um 53% und in der rechten Hemisphäre um 56% signifikant erhöht. In der rostralen Ebene finden sich keine signifikanten Unterschiede innerhalb der Gehegegruppe. Bei Käfigtieren ruft die MA-Behandlung in keinem untersuchten Gebiet eine signifikante Veränderung der Faserdichte hervor. Vergleicht man die Innervationsdichten aus den unterschiedlichen Aufzuchtbedingungen, so findet man eine signifikant höhere Faserdichte (+31%) bei Käfig-Kontrolltieren in der rostralen Ebene der rechten Hemisphäre. Alle anderen Vergleiche der Aufzuchtbedingungen erreichen nicht das Signifikanzniveau.

In Abb. 3.7 ist die Innervation des medialen PFC im Vergleich beider Hirnhemisphären dargestellt. Die Faserdichte rechts liegt signifikant über den Werten für die linke Seite; durchschnittlich ist die Innervation der rechten Hemisphäre etwa doppelt so stark. Die Seitenunterschiede sind in der caudalen Meßebe (110% - 188%) deutlicher als in der rostralen Meßebe (43% - 104%).

Aufgrund der gefundenen Lateralisierung der 5-HTergen Innervation wurde die statistische Untersuchung der Faserdichte in den einzelnen Laminae des medialen PFC für beide Seiten getrennt durchgeführt (Abbn. 3.8 und 3.9). Wiederum finden sich unterschiedliche Effekte in beiden Meßebenen. In der rostralen Ebene der rechten Hemisphäre liegen die Meßwerte der Käfigtiere über den Werten der Gehegetiere. Diese Unterschiede sind in allen Laminae außer Lamina V signifikant und liegen bei 19% in Lamina I und zwischen 35% und 39% in den mittleren kortikalen Schichten. In der rostralen linken Ebene ist kein konsistenter Unterschied zwischen den Aufzuchtbedingungen zu finden. Hier ist nur die Faserdichte der Laminae III/V bei Käfigtieren um 30% signifikant höher.

In der caudalen Ebene beider Hirnhemisphären sind die Innervationsdichten von Gehege-Kontrollen- und Gehege-MA-Tieren signifikant unterschiedlich. Die Faserdichte der MA-behandelten Gruppe ist generell höher als bei den Kontrollen. Die einzigen nicht signifikanten Wertepaare sind Lamina VI links und Lamina I rechts. Die Unterschiede liegen links zwischen 39% und 238% und rechts zwischen 55% und 92%. Die größten Unterschiede finden sich jeweils in Lamina IIIa. Die Käfigtiere zeigen dagegen keine Unterschiede zwischen der Kontroll- und der MA-Gruppe. Im Vergleich der Aufzuchtbedingungen haben die Käfig-Kontrollen links eine höhere Faserdichte gegenüber Gehege-Kontrollen. Die Unterschiede in den Meßwerten liegen zwischen 35% in Lamina I und 216% in Lamina IIIa. Nur in den Laminae IIIb/V und VI wird nicht das Signifikanzniveau erreicht. MA-behandelte Tiere aus den beiden Aufzuchtbedingungen unterscheiden sich signifikant nur bei einem Wertepaar. In Lamina V der rechten Hemisphäre liegt die Faserdichte von

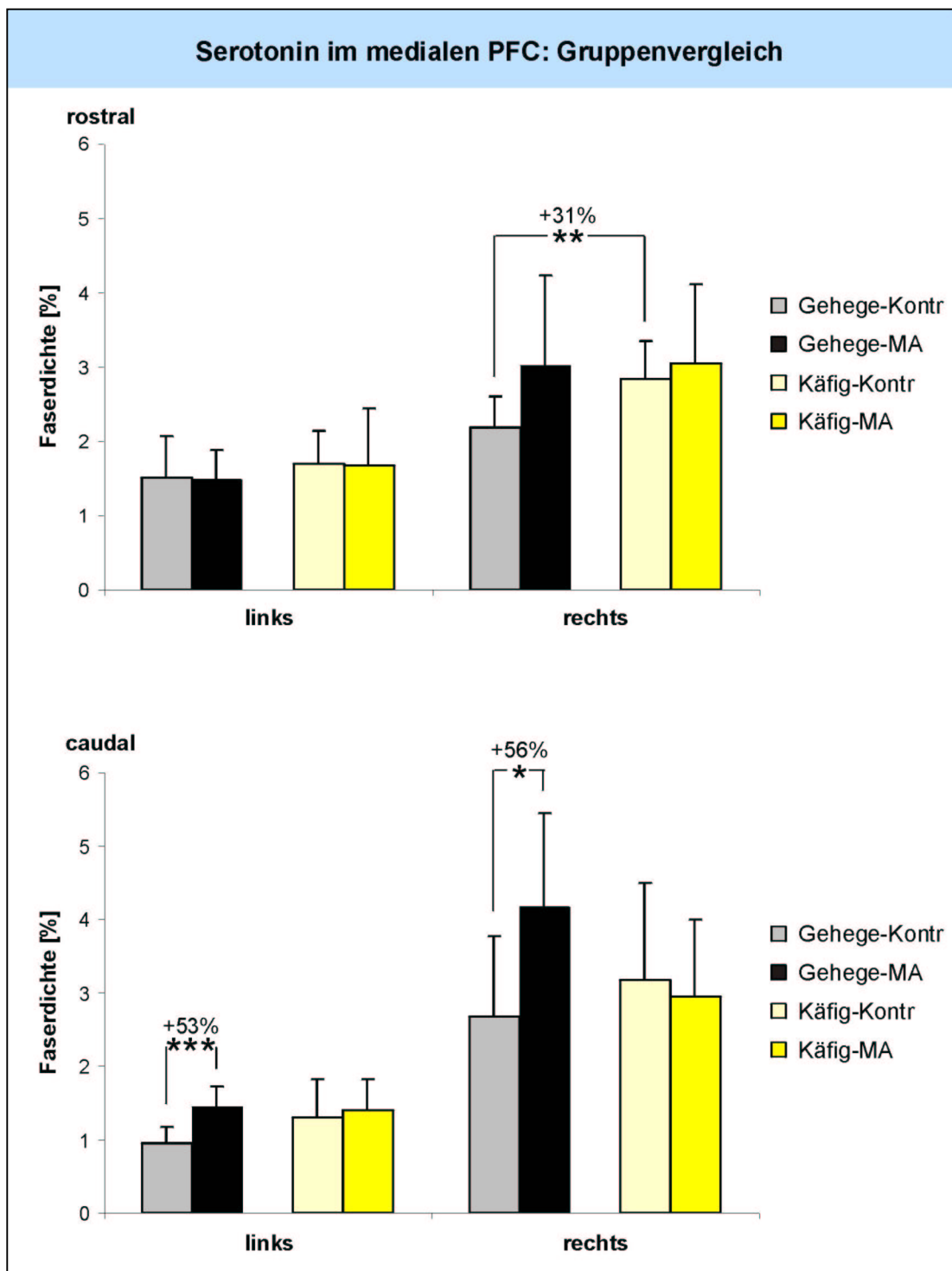


Abb. 3.6: Die serotonerge Faserdichte im medialen präfrontalen Kortex im Gruppenvergleich. Die Grafik zeigt die Innervationsdichte 5-HTerger Fasern im prälimbischen Subareal des medialen PFC. Gehegetiere haben nach MA-Behandlung gegenüber Kontrollen eine signifikant höhere Faserdichte. Dieser Befund tritt in beiden Hirnhemisphären in der caudalen Ebene auf. Käfigtiere zeigen keine Veränderungen. Beim Vergleich der Gehege- mit der Käfigaufzucht ist die Innervation des rechten frontalen Meßfeldes bei Käfigtieren signifikant höher. t-Test; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

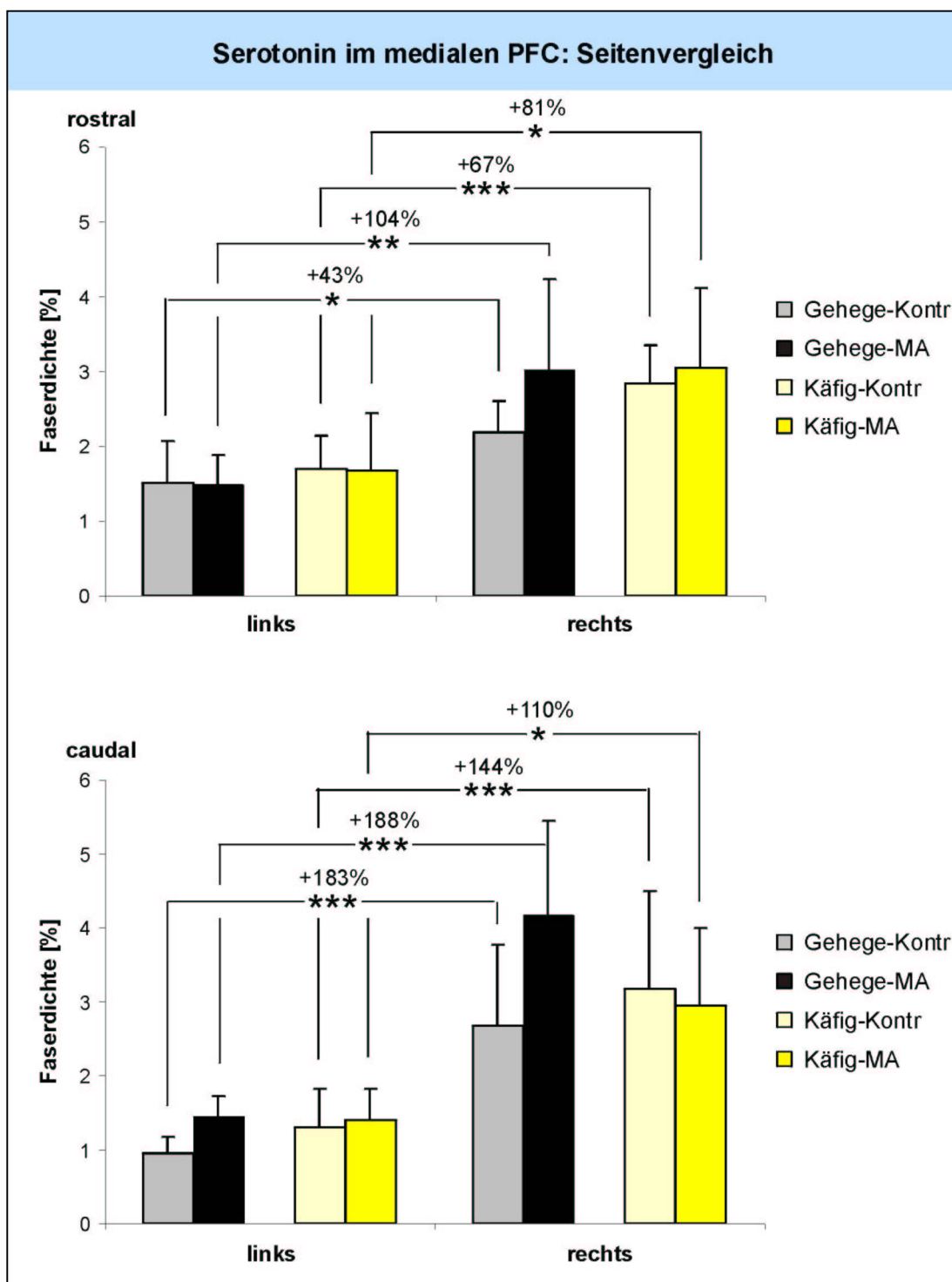


Abb. 3.7: Die Innervation des medialen präfrontalen Kortex im links/rechts-Vergleich.

Die Ergebnisse des Vergleiches zeigen einen signifikanten Unterschied aller vier Tiergruppen zwischen der 5-HTergen Innervationsdichte im prälimbischen Areal des medialen PFC beider Hirnhemisphären. Hierbei sind die Unterschiede in der caudalen Ebene stärker ausgeprägt als im rostralen Bereich. Über alle Werte betrachtet, ist die Faserdichte rechts etwa doppelt so hoch wie links. t-Test; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

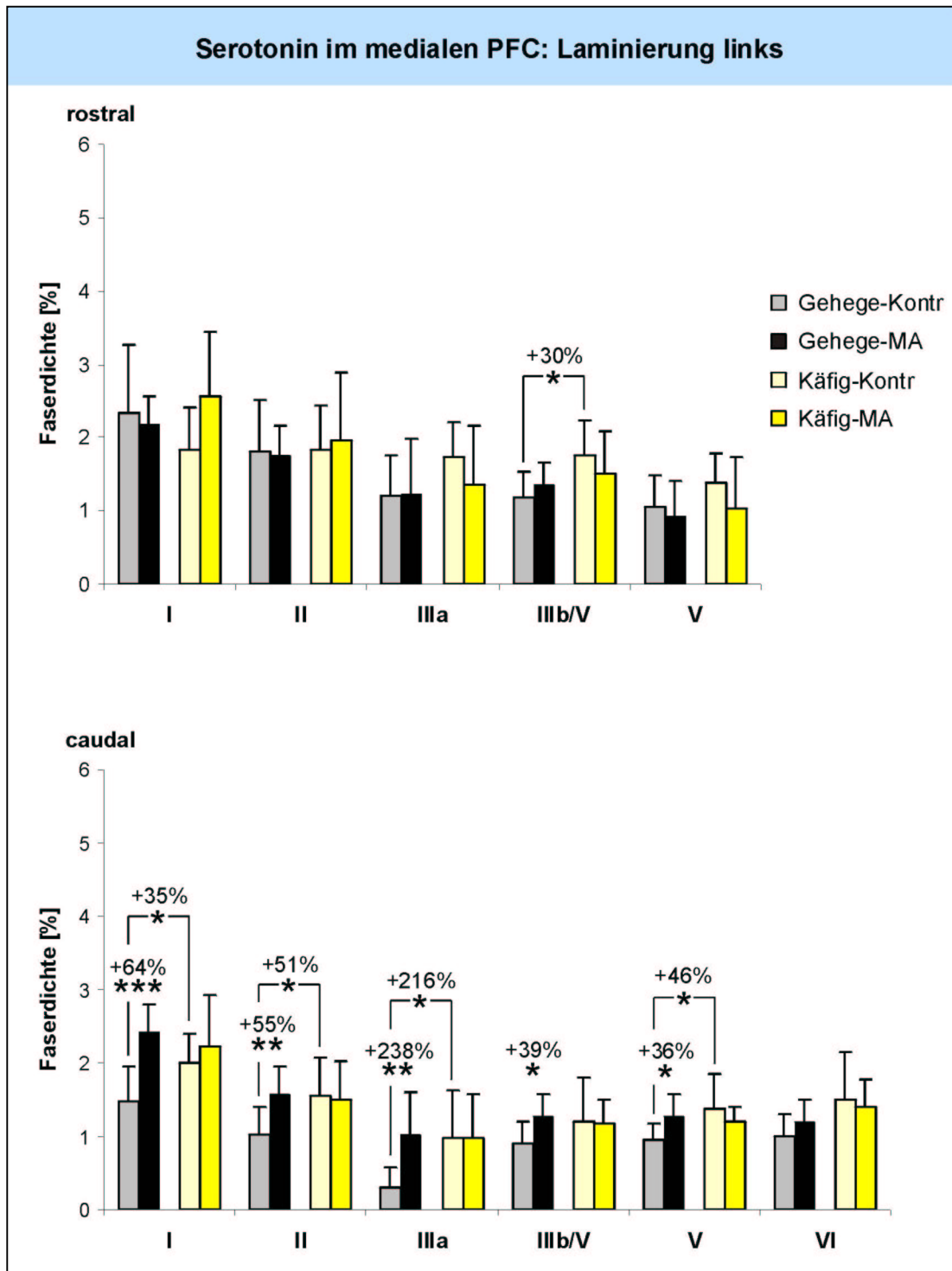


Abb. 3.8: Die serotoninerge Faserdichte in den einzelnen Laminae des linken medialen präfrontalen Cortex.

Die Grafik zeigt signifikante Unterschiede hauptsächlich in der caudalen Ebene. Es findet sich eine stärkere Innervationsdichte nach MA-Behandlung in allen apikalen und mittleren Laminae bei Gehegetieren. Der linke PFC von Käfigtieren ist gegenüber Gehegetieren stärker innerviert. Die größten Unterschiede treten in Lamina IIIa auf. t-Test; * p<0,05; ** p<0,01; *** p<0,001.

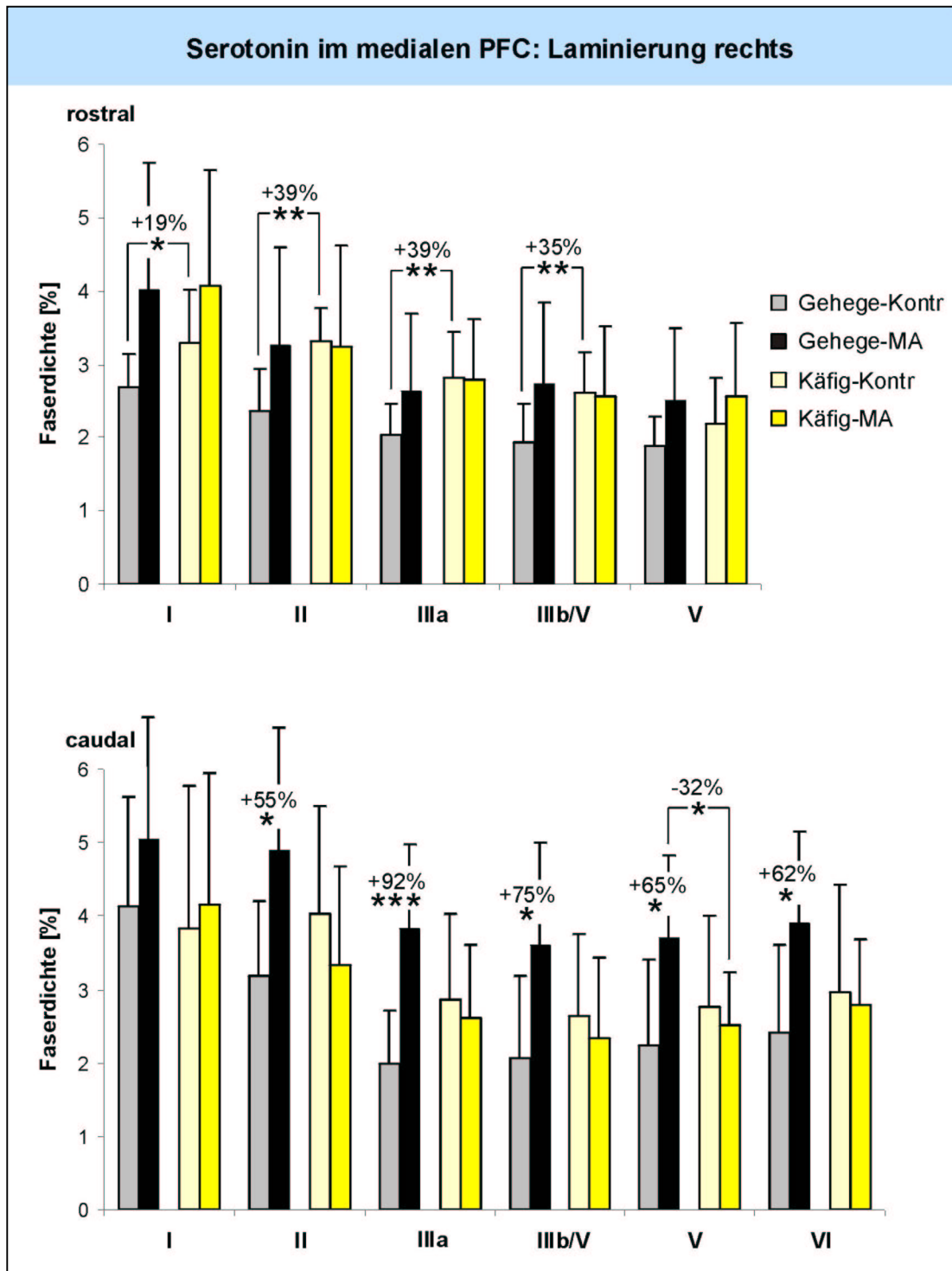


Abb. 3.9: Die serotoninerge Faserdichte in den einzelnen Laminae des rechten medialen präfrontalen Kortex.

Die Grafik zeigt in der rostralen Ebene eine höhere Innervationsdichte bei Käfigtieren im Vergleich zu Gehegetieren. Mit der Ausnahme der Lamina V wird überall die Signifikanzgrenze erreicht. In der caudalen Meßebene gibt es signifikante Unterschiede zwischen der Kontroll- und der MA-Gruppe aus Gehegeaufzucht. Die MA-Gruppe weist eine Zunahme der Faserdichte in den Laminae II-VI auf. Der größte Unterschied tritt in Lamina IIIa auf. t-Test; * $p < 0,05$; *** $p < 0,001$.

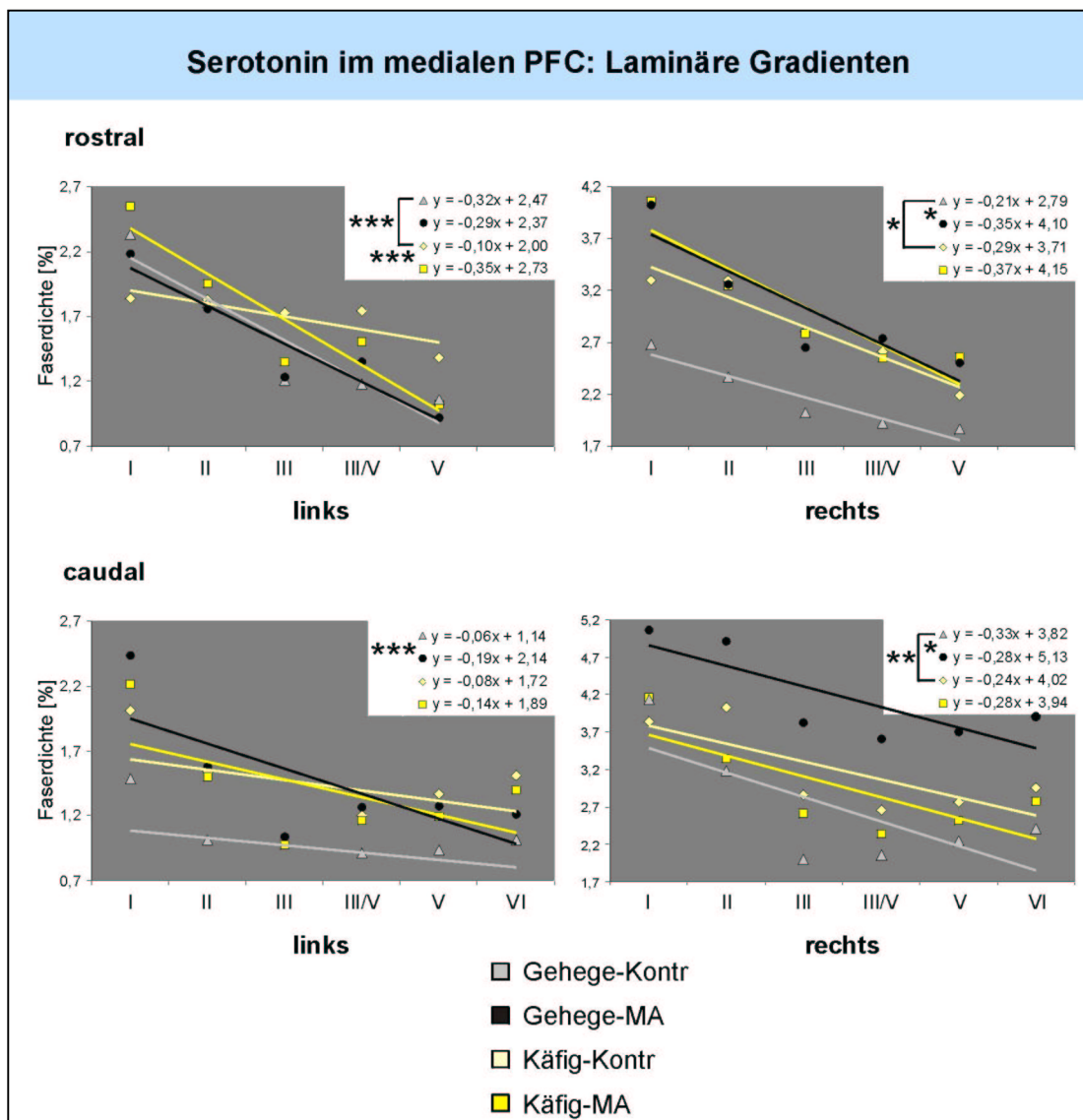


Abb. 3.10: Die Gradienten der serotonergen Faserdichte über die gemessenen Laminae.

Die Grafik zeigt den Verlauf der 5-HTergen Innervationsdichte über die Laminae des medialen präfrontalen Kortex. Generell liegen die Meßwerte der Gehege-Kontrollen am niedrigsten und die Werte der Gehege-MA-Gruppe am höchsten. Die Werte der beiden Käfiggruppen sind sich sehr ähnlich. Beide Beobachtungen treffen nicht auf die rostrale Ebene der linken Hemisphäre zu.

Zu beachten ist, daß in den Teilgrafiken der Schnittpunkt von Abszisse und Ordinate bei unterschiedlichen Werten liegt, sowie die voneinander abweichenden Skalierungen der Abszisse. ANOVA; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

Käfig-MA-Tieren um 32% unter dem Vergleichswert. Die anderen Vergleiche bleiben knapp unter dem Signifikanzniveau. Bei allen vier Versuchsgruppen ist die Faserdichte in Lamina I am höchsten und nimmt über Lamina II und IIIa ab, in denen die geringste Faserdichte erreicht wird. Bei einigen Gruppen steigt sie in Lamina V wieder leicht an. Dieser Gradient über die Laminae des medialen PFC ist vor allem in der caudalen Schnittebene beider Hemisphären deutlich.

Die unterschiedliche Ausprägung der laminären Innervationsdichte im Kortex (Abb. 3.10) wurde mittels ANOVA weiter untersucht. Die Gradienten der kortikalen Faserdichte und die unterschiedlichen Verläufe zwischen den Gruppen werden mittels Regressionsgeraden durch die Meßwerte in

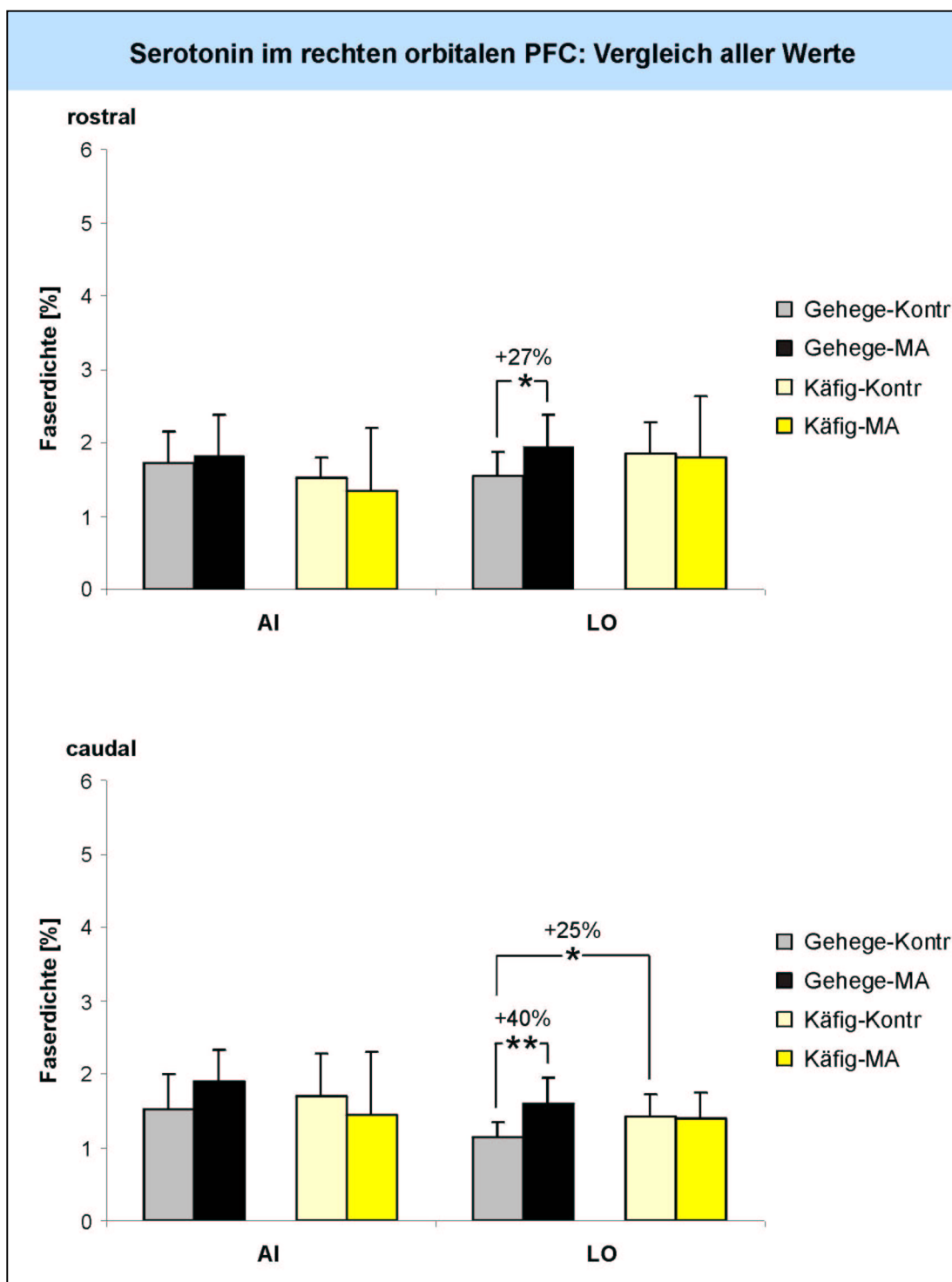


Abb. 3.11: Die serotonerge Innervation des rechten orbitalen präfrontalen Kortex.

Im orbitalen PFC finden sich Unterschiede in der 5-HTergen Faserdichte im lateral-orbitalen Subareal (LO), während im agranulär-insulären Kortex (AI) keine signifikanten Differenzen auftreten. MA-behandelte Gehegetiere zeigen gegenüber der Kontrollgruppe eine erhöhte Faserdichte in beiden Ebenen. Weiterhin besteht in LO, aber nicht in AI, der caudalen Meßebene ein signifikanter Unterschied zwischen Kontrollen aus beiden Aufzuchtbedingungen. t-Test; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.

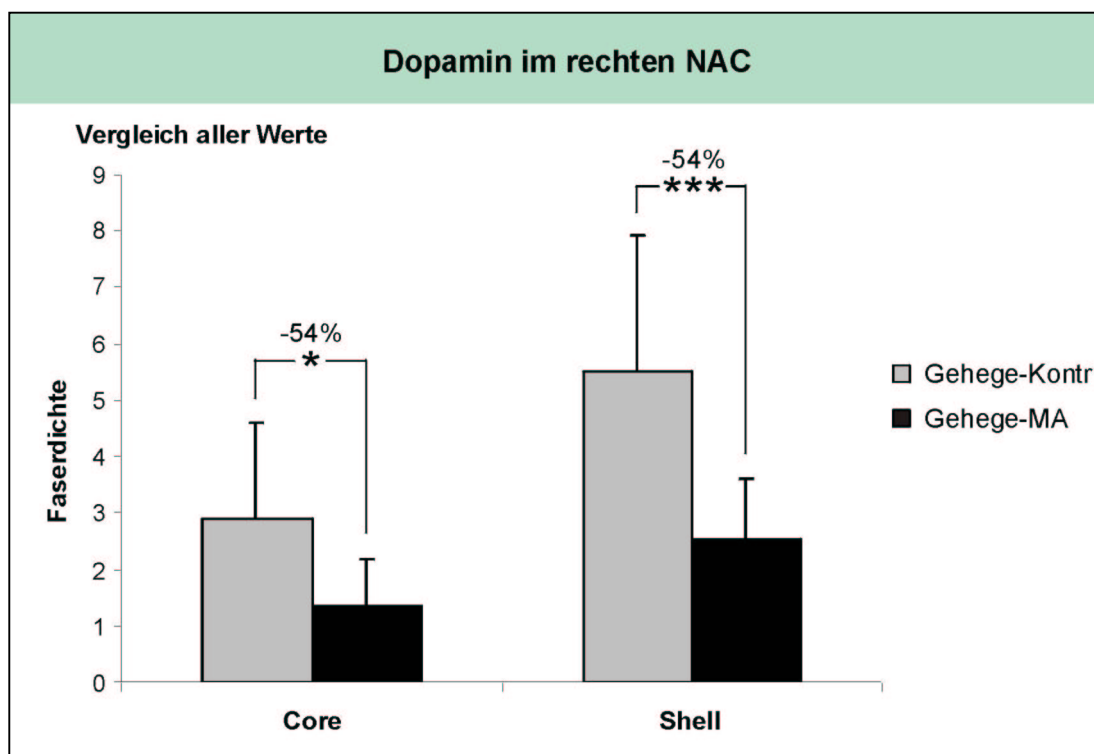


Abb 3.12: Die dopaminerge Innervation des rechten Nucleus accumbens von Gehegetieren.

Die DAerge Faserdichte ist bei den MA-behandelten Tieren in beiden Subarealen des NAC etwa halb so groß wie bei den Kontrollen. ANOVA; * $p < 0,05$; *** $p < 0,001$.

den einzelnen Laminae dargestellt. Die eingetragenen Signifikanzen beziehen sich auf die Wechselwirkung zwischen den Streuungsursachen Mittelwert und Gradient. Mit Ausnahme der linken rostralen Meßebene ist bei allen Vergleichen zwischen den beiden Gehegegruppen ein signifikanter Unterschied festzustellen. In dieser linken rostralen Meßebene findet sich wiederum der einzige signifikante Unterschied zwischen den beiden Käfiggruppen. Die Vergleiche zwischen den Aufzuchtbedingungen zeigen Unterschiede in allen Meßebenen außer der linken caudalen Ebene. Betrachtet man die angegebenen Geradengleichungen, so ist festzustellen, daß die Steigung bei Kontrolltieren aus beiden Aufzuchtbedingungen im Vergleich mit den MA-behandelten Gruppen in den meisten Fällen flacher ist. Die Laminierung weist also bei den Kontrollgruppen geringere Abweichungen zwischen apikalen und tiefen Laminae des medialen PFC auf.

Im rechten orbitalen PFC (Abb. 3.11) von Gehegetieren ist die 5-HTerge Faserdichte bei der pharmakologisch behandelten Gruppe gegenüber den Kontrolltieren signifikant erhöht. Dieser Unterschied tritt nur im lateral-orbitalen Kortex auf und beträgt 27% in der rostralen Ebene sowie 40% in der caudalen Ebene. Die Tiere aus Käfigaufzucht zeigen keinerlei signifikante Unterschiede. Vergleicht man die Innervation zwischen beiden Aufzuchtbedingungen, so findet sich in der caudalen Ebene im lateral-orbitalen Kortex von Käfig-Kontrolltieren eine um 25% höhere Faserdichte gegenüber Gehege-Kontrolltieren. Die Werte in den anderen Meßgebieten weichen nicht signifikant voneinander ab. Alle signifikanten Unterschiede beschränken sich auf das lateral-orbitale Areal. Generell ist die Innervationsdichte bei MA-behandelten Tieren aus Gehegeaufzucht

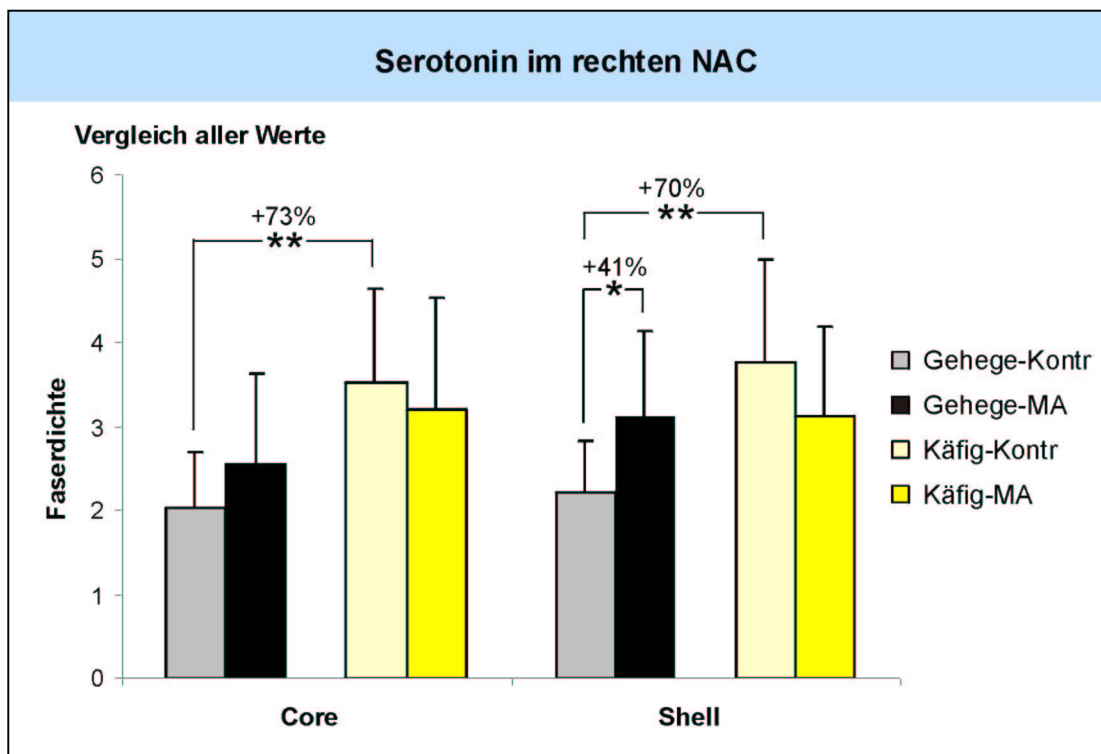


Abb. 3.13: Die serotoninerge Innervation in Core und Shell des rechten Nucleus accumbens. Im Vergleich der Aufzuchtbedingungen liegt die Faserdichte im NAC von Käfigtieren in beiden Subarealen signifikant über der von Gehegetieren. Eine MA-Behandlung erhöht die Faserdichte in Core und Shell von Gehegetieren. Im Shell wird die Signifikanzgrenze erreicht. ANOVA; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.

gegenüber den Kontrollen höher. Käfig-MA-Tiere zeigen demgegenüber eher eine Tendenz zu einer geringeren Faserdichte.

Befunde im Nucleus accumbens

Die **dopaminerge** Faserdichte im NAC (Abb. 3.12) wurde bei Tieren aus Gehegeaufzucht untersucht. Eine MA-Gabe hat die Absenkung der Innervationsdichte auf etwa die Hälfte gegenüber der Kontrollgruppe zur Folge. Dieser Unterschied tritt in beiden Arealen des NAC gleichermaßen auf, ist allerdings im Core nur schwach signifikant, im Shell hingegen hochsignifikant.

Die **serotoninerge** Innervationsdichte im NAC (Abb. 3.13) ist bei Käfigtieren signifikant gegenüber Gehegetieren erhöht. Die Unterschiede betragen 73% im Core und 70% im Shell, sind also in beiden Subarealen etwa gleich stark. Generell ist zu beobachten, daß der pharmakologische Eingriff bei Käfigaufzucht zu einer leichten Absenkung der Faserdichte führt, während bei Gehegetieren ein Anstieg in beiden Arealen festzustellen ist. Die Signifikanzgrenze wird allerdings nur im Shell von Gehegetieren erreicht. Dort kommt es nach MA-Behandlung zu einem Anstieg der Faserdichte von 41% gegenüber der Kontrollgruppe.

4. Diskussion

4.1 Methodische Aspekte

Immunhistochemie

Die Darstellung von Transmittern mittels immunhistochemischer Anfärbung ist seit über zwei Jahrzehnten Standard in ungezählten Laboratorien. Die von den Firmen angebotenen Agenzien dürfen daher als ausgereift gelten. Trotzdem wurden ständige Kontrollen der Spezifität der Antikörper durchgeführt und längere Testreihen vor die eigentlichen Versuche gelegt, in denen die Parameter der Versuchsvorschriften (z.B. Zusammensetzung der Perfusionslösungen, Inkubationszeiten und -temperaturen, Pufferkonzentrationen) dem verwendeten Material angepaßt wurden. Die letztlich durchgeführten Versuche unterscheiden sich somit in mehreren Punkten von den Versuchsprotokollen der Hersteller. Aufgrund dieser Anpassungen an die Charakteristika des Schnittmaterials konnte die Darstellung der immunoreaktiven Fasern verbessert werden. Darüber hinaus wurde die Hintergrundfärbung minimiert, dies gelang insbesondere beim 5-HT-Nachweis. Als stärkster Einflußfaktor für die Qualität der Präparate erwies sich die Perfusion. Von einem vollständigen Blutaustausch und der Fixierung des ganzen Hirngewebes hängt sowohl der Erfolg des Schneidens – vor allem am Vibratom – als auch der Immunhistochemie ab, da erst durch die chemische Reaktion des Fixiermittels mit den Transmittermolekülen das spezifische Antigen im Gewebe entsteht (Geffard et al., 1984; Steinbusch et al., 1978).

Die angefärbten Strukturen beider Transmitter sind generell im Einklang mit den an Ratten erhobenen Befunden (Steinbusch, 1987). Ein Überblick der Innervationsmuster von DA und 5-HT im Frontalhirn von *Meriones* findet sich in den dazu unter meiner Betreuung angefertigten Diplom- und Examensarbeiten (siehe Einleitung, Abb. 1.1).

Zeichnerische Faserquantifizierung

Die zeichnerische Quantifizierung immunoreaktiver Fasern bietet einige Vorteile gegenüber der Auswertung zweidimensionaler digitaler Bilder. Zunächst ist das menschliche Auge in der Lage, auch schwach gefärbte Strukturen vor unruhigem Hintergrund zu detektieren. In Anbetracht der lokal sehr unterschiedlichen Hintergrundfärbung bietet dieser Umstand einige Vorteile. Weiterhin können die vorhandenen Präparate mit geringem technischen Aufwand sehr gründlich untersucht werden, indem die vorhandenen Fasern durch Fokussieren in ihrem ganzen Verlauf zeichnerisch darstellbar sind. Dadurch ergibt sich die Möglichkeit, eventuelle Vorzugsrichtungen zu erkennen und statistisch auszuwerten. Diese Ergebnisse lassen sich auf anderem Wege nur über die arbeitsintensive Aufnahme von Serienbildern gewinnen oder erfordern einen hohen apparativen Aufwand, wie eine automatische Serienbildaufnahme oder die konfokale Mikroskopie.

Die Nachteile dieser Methode sind Subjektivität, eine lange Einarbeitungszeit bis zum Erreichen reproduzierbarer Ergebnisse, sowie die Notwendigkeit, sich auf eine kleine Messfläche zu beschränken. Der letzte Faktor produziert aufgrund der geringen Stichprobengröße starke Schwankungen zwischen den untersuchten Individuen und damit eine hohe Standardabweichung, die eventuelle Unterschiede zwischen den untersuchten Arealen und Gruppen verdecken kann.

Aufgrund dieser Nachteile wurde die zeichnerische Faserdarstellung im Zuge dieser Arbeit nur in begrenztem Umfang eingesetzt.

Computergestützte Faserquantifizierung

Die Auswertung der monoaminergen Innervationsdichte erfolgte mit einem Näherungsverfahren, dessen Grundlagen zunächst kurz besprochen werden sollen. Die Aufgabenstellung dieser Arbeit war die Messung der Faserdichte im neuronalen Gewebe von *Meriones*, angegeben in Prozent. Gefragt war also nach dem prozentualen Volumenanteil immunreaktiver Fasern (V_{ir}) am untersuchten Gesamtvolumen (V_{ges}). Das Gesamtvolumen sollte zuvor normiert werden (V_{norm}), indem man Blutgefäße und Ventrikelräume entfernt (siehe Abschnitt 2.4, Material und Methoden). Dies läßt sich ausdrücken als:

$$\{V_{ir} * 100\} / V_{norm}$$

Die Messungen wurden aber an oberflächlich gefärbten Schnittpräparaten durchgeführt. Zudem mußte die Bildaufnahme im Mikroskop bei starker Vergrößerung erfolgen, um eine genügend hohe Auflösung zu garantieren. Dies bedingt eine geringe Tiefenschärfe der aufgenommenen Bilder, so daß tatsächlich der Flächenanteil der gefärbten Fasern (A_{ir}) an der normierten Gesamtfläche (A_{norm}) der Bilder von Schnittpräparaten gemessen wurde:

$$\{A_{ir} * 100\} / A_{norm}$$

Der in Material und Methoden genannte Algorithmus (Gerig-Operator) stellte sich nach längerer Testphase als am besten geeignet heraus, um möglichst viele immunreaktive Strukturen vor wechselndem Hintergrund möglichst genau und reproduzierbar zu erfassen. Durch die Anwendung dieser Funktion werden Strukturen leicht verschiedener Breite auf ein einheitliches Maß normiert. Dies hat zur Folge, daß unterschiedlich dicke Fasern in gleichem Maße in den Meßwert eingehen. Letztendlich wird also der prozentuale Flächenanteil der normierten immunreaktiven Fasern an der normierten Gesamtfläche gemessen:

$$\{A_{ir\ norm} * 100\} / A_{norm}$$

Anders ausgedrückt, ist für den gefundenen Wert weniger die Form als vielmehr die Länge und die Anzahl der gefärbten Fasern entscheidend. Aus diesem Grund wird im Text der Terminus *Faserdichte* und nicht etwa *Faseranteil* benutzt. Der Meßwert in Prozent (M [%]) resultiert also aus dem Produkt der Faserlänge (L_{ir}) sowie der normierten Faserbreite (W_{norm}) in Relation zu der normierten Gesamtfläche A_{norm} nach:

$$M [\%] = \{L_{ir} * W_{norm} * 100\} / A_{norm}$$

Die vorgenommene Normierung der Meßfläche erhöht die Aussagekraft der Meßwerte, indem z.B. große Blutgefäße oder unscharfe Anteile eines Bildes in denen keine Fasern vorkommen oder erkennbar sind, nicht in die Messung eingehen. Die Flächennormierung schafft damit vergleichbare Oberflächen in morphologisch sehr unterschiedlichen Arealen. Mittels dieser Funktion kann auch in qualitativ schlechten Präparaten meist noch eine ausreichende große und aussagekräftige Fläche definiert werden. Wie in Abschnitt 2.1 erwähnt, wurde die Meßfläche eines Bildes in kleinere Bereiche unterteilt, um die spezifische Innervationsdichte in einzelnen Laminae des Kortex bzw. in

verschiedenen Abschnitten von Core und Shell des NAC getrennt erfassen zu können. Die Teilflächen eines aufgenommenen Bildes konnten so einzeln vermessen werden, ohne daß Unterschiede aufgrund differierender Bildqualität auftreten konnten. Weiterhin sind die gemessenen Werte aufgrund des standardisierten Meßverfahrens weniger abhängig von subjektiven Beurteilungskriterien, so daß insgesamt die Reproduzierbarkeit der Auswertung gesteigert werden sollte.

Die hier verwendete Methode hat sowohl Vor- als auch Nachteile. So gehen zweifelsohne Informationen zur Morphologie der Fasern verloren, die wichtige Unterschiede in der Funktion der afferenten Innervation aufzeigen könnten. Beispielsweise kann nicht mehr zwischen 5-HTergen m-Fasern und d-Fasern unterschieden werden, die funktionell und anatomisch verschiedenen Subsystemen zugerechnet werden (Kosofsky und Molliver, 1987). Andererseits sind die gefundenen Werte sowohl besser reproduzierbar als auch vergleichbarer in Bezug auf die reine Dichte der Innervation (d.h. Länge und Anzahl der Fasern), da sie weniger von anderen Variablen, wie der Menge des niedergeschlagenen Farbstoffs oder dem Ursprungskern der jeweiligen Fasern, abhängen.

Die gestellte Aufgabe – Quantifizierung der monoaminergen Innervationsdichte – läßt sich mit der entwickelten Methode gut erfüllen. Die damit erhobenen Daten bieten die Möglichkeit, Studien zur Rezeptordichte oder des Transmitterumsatzes neu zu bewerten. Es sind nun besser begründete Aussagen darüber möglich, ob die *Aktivität* einzelner Fasern eines Transmitters verändert ist oder ob sich die lokale Faserpopulation auf *morphologischer* Ebene (z.B. durch homotypisches Sprouten) an funktionellen Anpassungen beteiligt. Aufgrund der nun vorhandenen Möglichkeiten zur schnellen Quantifizierung immunhistologischer Transmitterpräparate kann die Forschungsarbeit der Abteilung Neuroanatomie über die bisher untersuchten Bereiche hinaus auf weitere Areale des limbopräfrontalen Systems ausgedehnt werden, um umweltbedingte Wechselwirkungen zwischen verschiedenen Hirnregionen während der postnatalen Reifung besser beschreiben zu können. Die ersten mittels dieses Analysesystems erhobenen Daten werden bereits veröffentlicht (Lehmann et al., 2002; Neddens et al., 2002).

4.2 Zur dopaminergen und serotoninergen Innervationsdichte im präfrontalen Kortex

Mittels der in dieser Arbeit vorgenommenen quantitativen Analyse der monoaminergen Faserdichte werden die bisher in unserer Arbeitsgruppe vorliegenden Daten zur adaptiven Reifung der DAergen Innervation des PFC um Befunde zur Gehegeaufzucht ergänzt. Darüberhinaus werden quantitative Daten präsentiert, die die aktivitätsgesteuerte Reifung der 5-HTergen Innervation des PFC unter dem Einfluß zweier epigenetischer Faktoren – unterschiedlichen Aufzuchtbedingungen und einer frühen MA-Applikation – beschreiben.

Die Reifung der **dopaminergen** Innervation des medialen PFC wird bei Gehegetieren durch die Gabe von MA nicht verändert. Dieser Befund steht im deutlichen Gegensatz zu den Ergebnissen von Käfigtieren, bei denen die Reifung der DA-Fasern durch eine MA-Intoxikation

massiv beeinträchtigt wird (Dawirs et al., 1994). Ein ähnlicher Befund ergibt sich im orbitalen PFC. Auch dort konnte kein substanzieller Unterschied zwischen den Gehegegruppen festgestellt werden. Bei Käfigtieren hingegen ist die DAerge Faserdichte nach MA-Behandlung im lateral-orbitalen Kortex signifikant gegenüber der Kontrollgruppe verringert; im agranulär-insulären Kortex wird die Signifikanzgrenze nur knapp verfehlt. Die Aufzuchtbedingungen wirken sich also insofern auf die Reifung der DAergen Innervation des PFC aus, als einwachsende Fasern bei Käfigtieren vulnerabel gegenüber einer frühen MA-Intoxikation sind, der pharmakologische Eingriff bei Gehegetieren aber keine deutlichen Folgen hat. Wie frühere Studien gezeigt haben, geht die erhöhte Vulnerabilität der DAergen Innervation für pharmakologische Stimuli bei Käfigtieren mit einer gegenüber Gehegetieren generell verminderten Reifung dieser Faserpopulation im PFC einher (Neddens et al., 2001; Winterfeld et al., 1998).

Die vorliegende Untersuchung liefert die ersten quantitativen Daten zur Dichte der DAergen Innervation in verschiedenen Laminae des medialen PFC von *Meriones*. Die Faserdichte liegt in apikalen Schichten des prägenualen PFC signifikant über den Werten der tiefen Schichten. Mit dem Erreichen des Corpus callosum ziehen starke DAerge Faserbündel durch die Lamina VI tangential zum Corpus callosum (Busche, 2000; nicht quantifiziert). Diese Faserverteilung entspricht dem präfrontalen Innervationsmuster von Ratten (Lindvall und Björklund, 1984; Van Eden et al., 1987). Der Befund ist insofern von Bedeutung, als Pyramidenzellen in verschiedenen Laminae des PFC zu unterschiedlichen Zielregionen – beispielsweise in Core und Shell des NAC – projizieren (Groenewegen et al., 1997) und anscheinend mehr oder weniger stark durch DAerge Aktivitäten aus dem Mesenzephalon moduliert werden. Die topischen Bezüge der präfrontalen Projektionen zum NAC werden später noch eingehender im Rahmen limbopräfrontaler Netzwerke diskutiert.

Die Messung der **serotoninerger** Faserdichte im medialen PFC ergibt in allen vier Versuchsgruppen die höchsten Werte in Lamina I, eine deutlich abnehmende Innervation in den Laminae II und III und einen erneuten leichten Anstieg in den tiefen Schichten des PFC. Dieser Befund steht im Einklang mit Untersuchungen zur 5-HTergen Innervation von Ratten (Audet et al., 1989; Azmitia und Segal, 1978; Steinbusch, 1984). Die Verteilung der 5-HTergen Fasern über die Laminae gleicht insofern dem DAergen Innervationsmuster (vgl. Abb. 1.1, S. 6), wenngleich die absolute Faserdichte bei 5-HT deutlich höher ist. Aufgrund dieser überlappenden Faserpopulationen ist eine lokale wechselseitige Beeinflussung der monoaminergen Terminalien im PFC zu erwarten, die auch in mehreren Studien dokumentiert wurde (Mendlin et al., 1999; Pehek 1996).

Im direkten Vergleich der Aufzuchtbedingungen ist die 5-HTerge Faserdichte bei Käfigtieren im medialen und im orbitalen PFC gegenüber Gehegetieren erhöht, wenngleich nicht bei allen Tests das Signifikanzniveau erreicht wird. Die DAerge Innervation des medialen und des orbitalen PFC reagiert demgegenüber auf restriktive Aufzucht mit einer Verringerung der Innervationsdichte (Neddens et al., 2001; Winterfeld et al., 1998). Während der postnatalen Reifung kommt es also in Abhängigkeit der **Aufzuchtbedingungen** zu einer simultanen Verschiebung der Faserdichten beider monoaminergen Projektionen in den PFC:

1. Die DAerge Innervation ist bei Käfigtieren gegenüber Gehegetieren verringert gereift.
2. Die 5-HTerge Innervation ist bei Käfigtieren gegenüber Gehegetieren verstärkt gereift.

Diese Korrelation könnte mit zwei unterschiedlichen Prinzipien der aktivitätsgesteuerten Struktur- bildung kausal in Verbindung stehen, zum einen der Kompensation verringerter Faserdichten eines Transmitters durch heterotypisches Sprouten eines anderen Transmitters, zum anderen der kompetitiven Reifung zweier Transmittersysteme.

Der Vergleich der Mittelwerte der 5-HTergen Innervation des medialen PFC unter dem Einfluß einer einmaligen frühen MA-Applikation ergibt, daß es nur bei Gehegetieren zu einer signifikanten Erhöhung der Faserdichte kommt, bei Käfigtieren jedoch kein Unterschied festzustellen ist. Diese Befunde treffen ebenso auf das lateral-orbitale Areal im orbitalen PFC zu, stehen jedoch den DA-Befunden entgegen. Die durch **Methamphetamin** hervorgerufenen Veränderungen beider mono- aminerger Faserdichten im PFC sind also nicht miteinander korreliert:

3. Die DAerge Innervation reift bei Käfig-MA-Tieren verringert, bei Gehegetieren ist kein signifikanter Unterschied festzustellen.
4. Die 5-HTerge Innervation ist bei Käfig-MA-Tieren nicht signifikant verändert, aber reift bei Gehegetieren verstärkt.

Es gilt also festzuhalten, daß MA in *Abhängigkeit* der Aufzuchtbedingungen zu einer *selektiven* Veränderung jeweils *unterschiedlicher* Transmittersysteme führt. Dies bedeutet, daß die Spätfolgen einer frühen MA-Intoxikation für die strukturelle Reifung des Gehirns nur unter Einbeziehung der Komplexität der Umwelt bewertet werden können. Sollte sich dieser Befund in weiteren Untersuchungen verifizieren lassen, hätte dies weitreichende Folgen für die Interpretation pharmakologischer Studien, da in der pharmazeutischen Forschung weitestgehend mit Versuchstieren aus restriktiver Aufzucht gearbeitet wird. Es besteht die Möglichkeit, daß solche Studien im Zusammenhang mit der angestrebten Übertragung der Ergebnisse auf den Menschen zu „falschen“ bzw. irreführenden Schlußfolgerungen führen können.

Betrachtet man die Daten für die 5-HTerge Innervation der einzelnen Laminae des PFC genauer, finden sich bei den Vergleichen von sowohl Gehege- zu Käfigaufzucht als auch von Kontroll- gegen MA-Gruppen die größten Unterschiede jeweils in der Lamina III. Dieser Befund ist von besonderer Bedeutung, da die Afferenzen aus anderen Kortexarealen zum großen Teil in dieser Schicht terminieren und die Laminae I und III zudem die Hauptzielgebiete der mediodorsalen thalamischen Afferenz des PFC darstellen (Krettek und Price, 1977; Kuroda et al., 1995). Die exzitatorische Wirkung der mediodorsalen thalamischen Afferenz wird zudem durch 5-HT moduliert (Mantz et al., 1990). Es hat also den Anschein, als ob insbesondere die Innervation dieser präfrontalen Eingangsinstantz durch die Versuchsparameter betroffen wurde. Dieses Resultat deutet auf aktivitätsgesteuerte Veränderungen der Einbindung afferenter präfrontaler Verbindungen während der postnatalen Reifung hin und hat insofern grundlegende Bedeutung für mögliche funktionelle Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen. Hierbei muß allerdings berücksichtigt werden, daß Lamina III zugleich die geringste 5-HTerge Faserdichte aller Laminae

des Isokortex aufweist und sich bereits eine Differenz von wenigen Fasern stark auf die Messung der relativen Innervationsdichte auswirken kann.

Zur Lateralisierung der serotoninerger präfrontalen Innervation

Die 5-HTerge Innervation des medialen PFC ist lateralisiert. Die vorliegende Studie liefert die ersten Daten, die zwischen den Hirnhemisphären einen Unterschied in der Transmitterinnervation auf morphologischer Ebene nachweisen. Die Faserdichte in der rechten Hemisphäre ist im Vergleich zur linken Seite etwa doppelt so hoch; die Unterschiede sind in der caudalen Ebene deutlicher. Dieses Ergebnis trifft auf alle vier Versuchsgruppen zu. Dem Verdacht, bei der immunhistochemischen Aufarbeitung der Präparate oder bei der Quantifizierung der neokortikalen Faserdichten könnte ein systematischer Fehler aufgetreten sein, kann aufgrund folgender Beobachtung entgegengetreten werden: an Präparaten der identischen Versuchstiere wurde auch eine Quantifizierung der 5-HTergen Innervationsdichte des hippocampalen Kortex beider Hirnhemisphären durchgeführt (Dinter, 2002). Die Faserdichten in den Hippocampusformationen der beiden Hemisphären unterscheiden sich nicht. Die Meßergebnisse in beiden Studien wurden parallel mittels der gleichen Methode erhoben.

Die Interpretation des Befundes zur unterschiedlichen 5-HTergen Faserdichte im medialen PFC beider Hemisphären ist schwierig, da am Tiermodell bisher noch sehr wenig über die Lateralisierung kortikaler Funktionen bekannt ist. Dies trifft insbesondere auf Nager zu. Eine Studie zur Lateralisierung des DA-Umsatzes bei Pfotenpräferenz von Mäusen fand zwar eine signifikante Erhöhung im ipsilateralen NAC, aber keinen Unterschied im frontalen Kortex (Cabib et al., 1995). Im PFC von Ratten wurde dagegen linkshemisphärisch eine etwa 15% (Carlson et al., 1996) bzw. 40% (Slopsema et al., 1982) höhere DA-Konzentration als rechts gemessen. Darüberhinaus berichtet eine weitere Studie über die Lateralisierung der phasischen DA-Ausschüttung infolge eines akuten Stressors (Sullivan und Gratton, 1998). Die Zeitfenster der Darbietung eines Stressreizes und des Anstieges der extrazellulären DA-Konzentration sind nur im rechten PFC signifikant korreliert. Die Lateralisierung von 5-HT ist im Vergleich zu DA noch weniger untersucht. Allerdings gibt es einen interessanten Bericht über die Wirkung von seitenspezifischen 5-HT-Injektionen in den Nucleus raphe dorsalis von Ratten (Crespi und Jouvét, 1984). Die Amplituden der simultan abgeleiteten Aktionspotentiale in den Striata beider Hemisphären wurden bei linksseitigen Injektionen kleiner und bei rechtsseitigen Injektionen größer. Da die 5-HTerge Innervation des Kortex größtenteils aus diesem Kern stammt, könnte ein struktureller Lateralisierungseffekt durch die unterschiedliche funktionelle Einbindung dieser Fasern verursacht werden. Dies gilt umso mehr, als die 5-HTergen Neurone der dorsalen Raphe hauptsächlich in den ipsilateralen Kortex projizieren (Köhler und Steinbusch, 1982; Waterhouse et al., 1986).

Ein weiterer Lateralisierungseffekt wird deutlich, wenn man die Gradienten der 5-HTergen Innervation über alle Laminae innerhalb der untersuchten Meßebenen des medialen PFC vergleicht (Abb. 3.10, S. 41). Die Innervation der linken rostralen Ebene weicht in zweierlei Hinsicht von den anderen untersuchten Gebieten im medialen PFC ab: zum einen sind die Mittelwerte der beiden Gehegegruppen praktisch identisch, zum anderen unterscheidet sich der laminäre Gradient

der Käfig-Kontrollgruppe aufgrund der geringen Steigung hochsignifikant sowohl von der MA- als auch von der Gehegegruppe. Diese Befunde geben zu der Vermutung Anlaß, daß es im prägenualen PFC von Nagern tatsächlich funktionelle Unterschiede zwischen den Hemisphären gibt, die beispielsweise auf eine präfrontale Hemisphärendominanz für bestimmte Aufgaben hindeuten könnten. Die hier beschriebenen Auffälligkeiten im 5-HTergen Innervationsmuster müßten mit weitergehenden Untersuchungen zur Physiologie dieser Fasern, sowie zur Innervation anderer Transmittersysteme unterlegt werden.

Zusammengefaßt zeigen die Tiere aus den beiden Aufzuchtbedingungen im Vergleich untereinander vielfältige regionale Unterschiede, sowohl zwischen den Saline-behandelten Kontrollen als auch in Bezug auf die Auswirkungen einer einmaligen postnatalen MA-Applikation. Die Ergebnisse belegen zudem eine deutliche Lateralisierung der 5-HTergen Innervation des medialen PFC, sowie lateralisierte Effekte in Bezug auf die Wirkung beider Versuchsparadigmata während der postnatalen Reifung monoaminerger Faserpopulationen. Insgesamt scheint das Urteil gerechtfertigt, daß es durch restriktive Aufzuchtbedingungen oder eine frühe pharmakologische Störung zu einer deutlichen Veränderung der präfrontalen Kortexarchitektur kommt. Wie können diese Befunde vor dem Hintergrund bislang vorliegender Erkenntnisse zur Funktion des PFC und der monoaminerger Transmittersysteme interpretiert werden?

Adaptive Reifung der Kortexarchitektur

Der PFC ist speziesübergreifend der letzte neokortikale Bereich, der die strukturelle und funktionelle Reife während der Ontogenese erreicht (Stuss, 1992). Beispielsweise wird bei Ratten die Proliferation von Neuronen erst zum Zeitpunkt der Geburt abgeschlossen und die Strukturierung der Laminae dauert bis zum 15. postnatalen Tag (Van Eden, 1985). Die DAerge Innervation aus der ventralen tegmental Area ist bei *Meriones* erst mit dem Eintritt in die Adoleszenz am postnatalen Tag 90 voll ausgeprägt, lange nach dem Erreichen der Geschlechtsreife am 60. Tag (Dawirs et al., 1993). Der mediale PFC benötigt generell eine noch längere Reifungsphase als der orbitale PFC. Diese Bewertung wird sowohl durch Befunde zur Ontogenese der Zytoarchitektur von Primaten (Orzechovskaia, 1975) und Ratten (Van Eden et al., 1990), als auch für das Einwachsen DAerger Fasern bei *Meriones* gestützt (Dawirs et al., 1993), scheint also eine übergreifende Eigenschaft des PFC zu sein.

Ausreifende Neuronenverbände gelten generell als besonders vulnerabel gegenüber extrinsischen Einflüssen (Jacobson, 1991). Es ist gut dokumentiert, daß die DAerge und die 5-HTerge Innervation bis weit in die postnatale Phase in den PFC einwachsen und maßgeblich an strukturbildenden Prozessen beteiligt sind (referiert in: Benes et al., 2000). Aufgrund dieser Tatsache, wie auch der Erkenntnis, daß sowohl eine deutliche Interaktion beider Transmittersysteme stattfindet, als auch die meisten zur Behandlung psychokognitiver Störungen eingesetzten Pharmaka auf diese Transmitter wirken, werden psychopathologische Zustände zunehmend als Folge früher Störungen der Hirnentwicklung, insbesondere der monoaminerger Transmittersysteme, verstanden (ebd.). Der Schluß liegt nahe, restriktive Umweltbedingungen könnten während kritischer Phasen der Gehirnentwicklung – also im Falle des Zeitraumes zwischen Geburt

und Adoleszenz insbesondere der Entwicklung des PFC – eine Art von „Fehlverdrahtung“ („miswiring“) hervorrufen, die sich äußerlich in Form von Verhaltensauffälligkeiten manifestiert. Das in unserer Abteilung etablierte Versuchsparadigma, die Kombination von restriktiven Aufzuchtbedingungen und einer einmaligen systemischen MA-Applikation, ist geeignet, solche Störungen hervorzurufen und einer quantitativen Strukturanalyse zugänglich zu machen. Wie unsere Gruppe in den letzten Jahren belegen konnte, ruft eine einmalige MA-Behandlung am postnatalen Tag 14 Neurotoxizität selektiv im PFC hervor (Teuchert-Noodt und Dawirs, 1991) und hat darüberhinaus umfangreiche morphologische Anpassungen während der postnatalen Reifung des PFC zur Folge:

1. Es kommt zu einer signifikanten Verringerung der DAergen Faserdichte (Dawirs et al., 1994).
2. Die Spinedichte auf den apikalen Dendriten von Pyramidenzellen adulter Tiere ist chronisch um 50% erhöht. Die Dendritenäste sind länger und es zeigt sich ein verändertes Verzweigungsmuster des apikalen Stammdendriten (Blaesing et al., 2001).
3. Die Häufigkeit GABAerger Boutons ist erhöht (Nossol et al., 1997).

In Korrelation mit diesen morphologischen Veränderungen sind PFC-relevante Verhaltensweisen gestört (Dawirs et al., 1996). Ähnliche Verhaltensauffälligkeiten lassen sich auch nach der Aufzucht von Tieren unter restriktiven Bedingungen nachweisen, die wiederum mit einer deutlich verminderten DAergen Faserdichte im medialen (Winterfeld et al., 1998) und im orbitalen PFC einhergehen (Neddens et al., 2001). Die mesopräfrontalen DAergen Fasern kontaktieren dendritische Spines der kortikalen Pyramidenzellen und modulieren – durch die ständige Abgabe geringer Transmittermengen – tonisch inhibierend deren funktionellen Zustand (Ferron et al., 1984). Die phasische Aktivität der DAergen Afferenz spielt hingegen vor allem im Rahmen von Stressantworten eine Rolle, wenn der PFC durch eine massive DA-Auschüttung aktiviert wird und es auf diesem Weg zu einer Erhöhung des Wachheitsgrades („arousal“) kommt (Abercrombie et al., 1989; Penit-Soria et al., 1987). Wird die Reifung der DAergen Innervation infolge einer frühen MA-Intoxikation geschädigt, kommt es vermutlich zu einem Mangel an inhibitorischer Aktivität, der durch die lokale Zunahme GABAerger Terminalien im PFC ausgeglichen wird (Dawirs et al., 1997).

Aufgrund der hier erhobenen Befunde zur aktivitätsgesteuerten Reifung der 5-HTergen Afferenzen des PFC, kann dieses Modell nun erweitert werden. Dazu muß zunächst auf die Spezifität der 5-HTergen Fasern eingegangen werden. Die apikalen Laminae I und II werden hauptsächlich aus der Zellgruppe B8 der medialen Raphe innerviert (Mamounas et al., 1992). Diese Afferenz überlappt mit 5-HTergen Fasern aus der Gruppe B7 der dorsalen Raphe. In den tieferen Schichten ist hingegen eine gemischte Faserpopulation aus der Zellgruppe B7 der dorsalen Raphe sowie aus B9 im medialen Lemniscus zu finden (O’Hearn und Molliver, 1984). Die 5-HTergen Projektionen in den PFC sind insofern als funktionell heterogen zu beurteilen (Kosofsky und Molliver, 1987; Mamounas et al., 1992) und weisen eine unterschiedliche Vulnerabilität gegenüber einer MA-Behandlung auf (Mamounas et al., 1991). Insbesondere die aufsteigenden Fasern aus der dorsalen Raphe werden durch neurotoxische Dosen von MA massiv geschädigt (Zhou und Bledsoe, 1996); sie tragen deshalb vermutlich zu der akuten Deafferentierung der präfrontalen Pyramidenzellen bei. Im Gegensatz zu anderen Transmittern zeichnet sich das 5-HT-

System des Gehirns jedoch durch eine enorme Fähigkeit zur Regeneration aus, die sogar in eine reaktive Hyperinnervation umschlagen kann (Frankfurt und Azmitia, 1984; Sotelo, 1991; Zhou und Azmitia, 1986). Diese Besonderheit wird durch die vorliegende Untersuchung bestätigt: die MA-Intoxikation führt bei Käfigaufzucht zu keiner Verminderung der Reifung, bei Gehegeaufzucht kommt es hingegen sogar zu einer verstärkten Innervation präfrontaler Gebiete.

Es ist zu fordern, daß die regenerierenden 5-HTergen Fasern an der Regulation eines neuen Erregungs/Hemmungsgleichgewichtes nach partieller kortikaler Deafferentierung teilnehmen. Der Netzeffekt der 5-HTergen Innervation des PFC ist inhibitorisch (Mantz et al., 1990). Diese Wirkung wird sowohl durch direkte Kontakte zu den Pyramidenzellen, die Modulation der DA-Freisetzung, sowie die Aktivierung GABAerger Interneurone vermittelt (Abi-Saab et al., 1999; Marek und Aghajanian, 1998; Pehek, 1996). Das Phänomen der entwicklungsbedingten „Fehlverdrahtung“ wäre demnach durch eine verminderte Reifung der DAergen Afferenz, durch ein vermehrtes Einwachsen 5-HTerger Fasern und die Verstärkung der lokalen GABAergen Hemmung gekennzeichnet. Die Leistung des PFC ist insofern massiv beeinträchtigt, als ein auf die Aktivitäten aus dem Mesenzephalon abgestimmter funktioneller Status nicht oder nur in eingeschränkter Weise erreicht wird.

4.3 Zur dopaminergen und serotoninergen Innervationsdichte im Nucleus accumbens

In dieser Arbeit werden die ersten quantitativen Daten zum chronischen Einfluß epigenetischer Faktoren auf die adaptive Reifung der DAergen und der 5-HTergen Innervation des NAC präsentiert. Die hier erhobenen DA-Befunde wurden bereits zusammen mit weiteren Daten aus einer Diplomarbeit (Lesting, 2001) publiziert (Neddens et al., 2002).

Eine frühe MA-Intoxikation führt bei Gehegeaufzucht zu einer verminderten Reifung der **dopaminergen** Innervation des NAC. Die Faserdichte liegt im Core und im Shell gleichermaßen um 54% unter den Werten der Kontrollgruppe. Der Befund zur Beeinträchtigung der accumbalen DA-Reifung nach MA-Applikation steht einer parallel durchgeführten Studie bei Käfigtieren gegenüber (zusammengefaßt in Abb. 4.1), bei der eine Beeinträchtigung der DAergen Reifung nur im Core festgestellt wurde, sich im Shell aber keine signifikante Veränderung zeigte (Lesting, 2001). Die Aufzuchtbedingungen verändern also die Vulnerabilität der DAergen Fasern im Core gegenüber MA. Die **serotoninerge** Innervation des NAC zeigt infolge einer MA-Gabe eine Erhöhung der Faserdichte bei Gehegetieren, die aber nur im Shell signifikant ist. Die Innervationsdichte bei Käfigtieren unterscheidet sich in keinem der beiden Subareale. Der Einfluß der Aufzuchtbedingungen auf die Reifung der 5-HTergen Innervation ist im NAC generell höher einzuschätzen. Käfig-Kontrolltiere haben in beiden Subarealen eine um mindestens 70% höhere Faserdichte gegenüber Gehege-Kontrolltieren.

Zusammengefaßt liefert die Analyse der monoaminergen Innervationsdichten des NAC für die beiden untersuchten Transmitter konträre Ergebnisse. Die Reifung der DAergen Innervation ist durch MA deutlich beeinträchtigt. Die 5-HTerge Faserdichte wird hingegen sowohl durch die

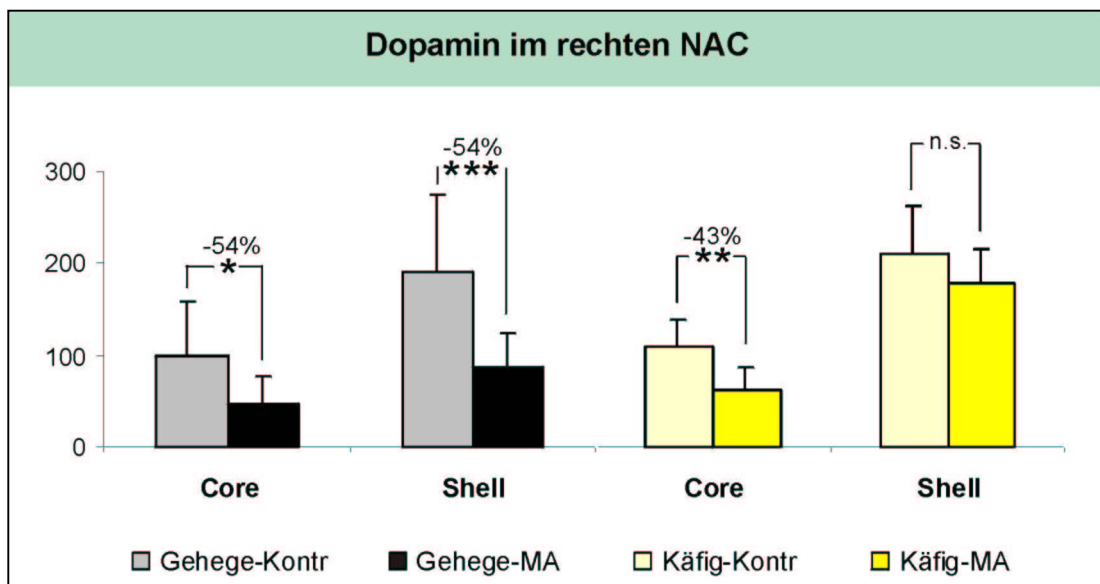


Abb. 4.1: Die dopaminerge Innervation des rechten Nucleus accumbens (verändert nach Neddens et al., 2002).

Die einmalige MA-Applikation führt bei Gehegetieren zu einer verminderten Reifung der DAergen Fasern in beiden Subarealen des NAC. Die Faserdichte liegt in Core und Shell um jeweils 54% unter der Faserdichte der Kontrollgruppe. Bei Tieren aus Käfigaufzucht wird infolge der MA-Behandlung eine vergleichbar verminderte Reifung im Core gemessen (-43%). Im Shell hingegen läßt sich kein MA-bedingter signifikanter Einfluß auf die DAerge Innervationsdichte nachweisen. ANOVA ; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

Einwirkung von MA als auch durch restriktive Aufzuchtbedingungen erhöht. Wie sind diese Ergebnisse im Hinblick auf die Funktion des NAC und der lokalen monoaminergen Innervation zu bewerten?

Die monoaminergen Afferenzen des NAC

Die accumbalen Subareale Core und Shell unterscheiden sich nicht nur in morphologischer Hinsicht, sondern insbesondere aufgrund ihrer Einbindung in unterschiedliche Funktionskreise. Der Core wird unter anderem wegen der engen Anbindung an das dorsale Striatum als der Motorik zugehörig betrachtet, der Shell ist mehr in limbische Funktionen eingebunden (Groenewegen et al., 1996). Diese Trennung kann aber teilweise wieder in Zweifel gezogen werden, da beide Subareale Afferenzen aus dem PFC, der Amygdala und der Hippocampusformation erhalten, die allerdings einer unterschiedlichen regionenspezifischen topischen Zuordnung unterliegen (ebd.). Auf diese Zusammenhänge wird in Abschnitt 4.4 im Rahmen der Diskussion limbischer Netzwerke näher eingegangen.

Die limbischen Afferenzen konvergieren nach neuen Untersuchungen jeweils auf definierten kleinen Zellgruppen (ensembles) im NAC. Nur mittels gleichzeitiger Aktivität zweier glutamaterger Afferenzen können Aktionspotentiale in den accumbalen Ausgangsneuronen, den „medium spiny cells“, ausgelöst werden (diskutiert in: O'Donnell, 1999). Die Zielneurone werden durch die eine Afferenz (z.B. aus dem Subiculum) für etwa 0,3 Sekunden tonisch vordepolarisiert. Auf dieses aktivierte postsynaptische Membranpotential wird durch die andere Afferenz (z.B. aus dem PFC)

ein phasisches Signal im Millisekundenbereich aufmoduliert, so daß in den Zielzellen einzelne Aktionspotentiale ausgelöst werden (ensemble coding). Diese physiologischen Vorgänge konnten für konvergierende Afferenzen aus dem Subiculum und dem PFC bereits nachgewiesen werden (O'Donnell und Grace, 1995) und werden für andere afferente Projektionen postuliert. Die Anordnung von konvergierenden Afferenzen auf assoziierte lokale Zellgruppen könnte auch die kleinräumig organisierte Struktur des NAC erklären (siehe Abschnitt 1.4, Einleitung).

Die DAergen Afferenzen haben nach diesem Modell die Funktion einer *selektiven* Signalverstärkung (=Signalfilterung). Diese Funktion wird gewährleistet, indem es zu einer DA-Ausschüttung im NAC kommt, wenn die eingehenden glutamatergen Aktivitäten aus dem PFC, der Amygdala und dem ventralen Subiculum entweder Neuheitswert besitzen oder mit bekannten positiven Stimuli assoziiert sind (Mirenowicz und Schultz, 1996; Rebec et al., 1997; Yoshida et al., 1992). Die gerade aktiven Ensembles werden durch die DA-Ausschüttung in diesem funktionellen Zustand gehalten und verstärkt, aktuell inaktive Ensembles werden hingegen weiter gehemmt. In diesem Sinne kann die Wirkung von DA im NAC als „state stabilizer“ interpretiert werden (Nicola et al., 2000; O'Donnell, 1999).

Die 5-HTerge Innervation des NAC bildet zu 75% axo-axonische Terminalien, der spezifische Anteil der 5-HT/DA-Kontakte beträgt über 20% (Van Bockstaele und Pickel, 1993). 5-HT bewirkt vor allem die Modulation der accumbalen DAergen Terminalien. Die Stimulation der dorsalen Raphe führt über den 5-HT₃-Rezeptor (Chen et al., 1991) und den 5-HT_{2A}-Rezeptor zu einem Anstieg der phasischen DA-Ausschüttung; über den 5-HT_{2C}-Rezeptor wird der DA-Umsatz hingegen tonisch gehemmt (De Deurwardère und Spampinato, 1999). Darüber hinaus werden viele exzitatorische Terminalien 5-HTerg innerviert (Van Bockstaele und Pickel, 1993). Diese exzitatorischen – vor allem glutamatergen – Afferenzen dürften zum großen Teil aus den limbokortikalen Arealen, wie der Hippocampusformation, der Amygdala und dem PFC, stammen. Die 5-HTerge Innervation hätte damit großen Einfluß auf die Verarbeitung emotional/motivational gefärbter konvergierender Aktivitäten im NAC. Die axo-dendritischen 5-HTergen Terminalien finden sich größtenteils an den proximalen Dendritenabschnitten der accumbalen „medium spiny cells“, wo ein starker elektrophysiologischer Einfluß auf das Soma und auf die Generierung von Aktionspotentialen möglich ist (Vu und Krasne, 1992). Ein wichtiger funktioneller Aspekt betrifft die Verteilung von symmetrischen und asymmetrischen 5-HTergen Synapsen. Etwa zwei Drittel der axo-dendritischen Synapsen im Core sind exzitatorisch, gegenüber einem Anteil von nur einem Fünftel im Shell (Broderick und Phelix, 1997). Die 5-HTergen Fasern könnten also in Core und Shell unterschiedliche Wirkungen in Relation zur DAergen Innervation ausüben: im Core eine antagonistische Wirkung, indem die DAerge Hemmung der „medium spiny cells“ durch phasische 5-HT-Ausschüttung überlagert wird und im Shell eine synergistische Verstärkung der DAergen Hemmung. Die 5-HTerge Innervation wäre demnach in der Lage, den physiologischen Effekt einer DA-Ausschüttung im NAC entscheidend zu beeinflussen.

Die DAerge Innervation des Core stammt neben dem lateralen Teil der ventralen tegmental Area vor allem aus der Pars compacta der Substantia nigra (Brog et al., 1993). Der

Shell wird hingegen DAerg aus dem medialen Teil der ventralen tegmentalen Area innerviert (ebd.). Die 5-HTergen Fasern wurden von mehreren Autoren in zwei Klassen eingeteilt, die d-Fasern aus der Raphe dorsalis und die m-Fasern aus der Raphe medialis (Kosofsky und Molliver, 1987). Auch bei *Meriones* können zwei morphologisch differente Fasertypen unterschieden werden, die zudem teilweise voneinander abweichende Innervationsgebiete haben (Griese, 2000): die glatten, wenig verzweigten d-Fasern innervieren vor allem den Core, die gewundenen und dicht mit Varikositäten besetzten m-Fasern hingegen terminieren hauptsächlich im Shell. Die Unterscheidung der lokalen monoaminergen Faserpopulationen ist funktionell von Bedeutung. Sowohl die DAerge (Nirenberg et al., 1997) als auch die 5-HTerge (Axt et al., 1995) Innervation des Core ist mit Transporterproteinen ausgestattet, die die Wiederaufnahme von ausgeschütteten Transmittermolekülen in die Präsynapse – also ein molekulares Recycling – ermöglichen. Im Gegensatz dazu tragen die monoaminergen Afferenzen des Shell keine Membrantransporter, sondern verfügen über hohe Synthesekapazitäten, um den ständigen Bedarf an Botenstoffen zu gewährleisten. Aufgrund dieser Unterschiede der Transmitterstoffwechsel ergeben sich für psychoaktive Substanzen, wie dem hier eingesetzten MA, spezifische Angriffspunkte an Subpopulationen der DAergen und der 5-HT-ergen Innervation des NAC.

Im NAC finden sich Cluster mit Unterschieden in der Dichte von D₁- und D₂-Rezeptoren (Jansson et al., 1999) sowie verschiedener 5-HT-Rezeptoren (Barnes et al., 1990; Jakeman et al., 1994; Khawaja, 1995; Mengod et al., 1990). Diese Befunde deuten auf die Ausprägung kleiner funktioneller Einheiten im NAC hin, vermutlich den bereits angesprochenen „ensembles“. Da Gebiete mit hoher D₁-Rezeptordichte von wenigen Fasern direkt innerviert, aber von einer Vielzahl DAerger Terminalien umgeben sind (Jansson et al., 1999), bietet sich als Erklärung das Konzept der „volume transmission“ an (Agnati et al., 1995). Demnach würde DA am Rande dieser Gebiete ausgeschüttet und per Diffusion an den Wirkort gelangen; d.h. der Transmitter befindet sich für längere Zeit im extrazellulären Raum.

Die spezifische Wirkung von Methamphetamin im NAC

Die Prinzipien der neurotoxischen Wirkung von MA auf monoaminerge Terminalien sind im Nervensystem grundsätzlich gleich. Allerdings gibt es in den Subarealen des NAC unterschiedliche topische Zuordnungen, die zu spezifischen Wechselwirkungen der monoaminergen Fasern untereinander führen und insofern Einfluß auf die lokale neurotoxische Potenz einer MA-Dosis nehmen. Diese Mechanismen verdienen eine genauere Betrachtung.

Amphetamin und einige seiner Derivate bewirken, daß DA mittels des DA-Transporters durch die Membran in den extrazellulären Raum ausgeschüttet wird (Sulzer et al., 1995). Der normale DA-Wiederaufnahmemechanismus mit der Transportrichtung ins Zellinnere verläuft unter diesen Bedingungen umgekehrt. Dieser Effekt verursacht eine hohe Transmitterkonzentration im extrazellulären Raum (Carboni et al., 1989) und hat die Akkumulation der auf nichtenzymatischem Wege gebildeten neurotoxischen Verbindung 6-Hydroxydopamin zur Folge, die zur selektiven Schädigung DAerger Terminalien führt (Seiden and Vosmer, 1984). Der Mechanismus der revers arbeitenden Transporterproteine könnte die in Core und Shell unterschiedlichen Effekte einer MA-

Applikation auf die DAerge Faserdichte bei Käfigtieren erklären, da der DA-Transporter im Core in deutlich höherer Konzentration vorkommt als im Shell (Jansson et al., 1999; Nirenberg et al., 1997). Die Überlegung paßt zu einer Untersuchung, in der ebenfalls an Käfigtieren gezeigt wurde, daß DAerge Axone im NAC unterschiedlich vulnerabel gegenüber einer MA-Behandlung sind, mit starker Faserdegeneration im Core und vergleichsweise geringen Veränderungen im Shell (Broening et al., 1997). Allerdings ist die neurotoxische Wirkung von MA nicht ausschließlich an die Funktion des DA-Transporters gekoppelt, sondern es werden auch weitere Zellbestandteile gestört, die mit dem DA-Stoffwechsel assoziiert sind (Seiden und Vosmer, 1984). Diese Effekte, beispielsweise die Hemmung des DA-metabolisierenden Enzyms Monoaminoxidase, sollten eine MA-induzierte Schädigung der DAergen Innervation des PFC (Wahnschaffe und Esslen, 1985) erklären, wo der DA-Transporter im Gegensatz zum dorsalen und ventralen Striatum praktisch nicht exprimiert wird (Lehmann et al., 2002).

Bemerkenswert ist der Befund, daß – im Gegensatz zu Käfigtieren – die MA-induzierte verminderte Reifung der DAergen Innervation bei Gehegetieren die Subareale Core und Shell gleichermaßen betrifft (Neddens et al., 2002). Die DAerge Innervation des NAC erreicht erst am 60. postnatalen Tag eine adulte Faserdichte (Tarazi et al., 1998; Voorn et al., 1988). Geht man davon aus, daß die unterschiedlichen Aufzuchtbedingungen zum Zeitpunkt der MA-Applikation am postnatalen Tag 14 noch keinen entscheidenden Einfluß auf die Hirnreifung haben (z.B. sind die Augen noch geschlossen und die motorische Aktivität ist stark eingeschränkt), so muß der Befund zur Wirkung unterschiedlicher Aufzuchtbedingungen als Ergebnis der späteren aktivitäts-gesteuerten Reifung interpretiert werden. Die MA-bedingte Schädigung der reifenden DAergen Afferenzen des NAC wird also während der juvenilen Phase abhängig von den Aufzuchtbedingungen in unterschiedlicher Weise kompensiert. Die Mechanismen, über die eine solche Reaktion im Einzelnen vermittelt werden kann, bleiben unklar. Jedoch konnte eine unterschiedliche Einbindung der DAergen Innervation des NAC infolge der Aufzucht in verschiedenen Umwelten vor kurzem experimentell grundsätzlich nachgewiesen werden: adulte Gehegetiere reagieren auf eine akute Amphetamin-Injektion mit einer stärkeren DA-Ausschüttung im NAC im Vergleich zu Käfigtieren und weisen eine höhere Konzentration des DA-Transporters auf (Bardo et al., 1999).

Über die Befunde zur DAergen Innervation hinaus konnte gezeigt werden, daß verschiedene Amphetaminderivate eine Degeneration von 5-HTergen Fasern im NAC und in anderen Hirnstrukturen verursachen können (Axt und Molliver, 1991; Mamounas et al., 1991). Die neurotoxische Wirkung wird bei 5-HTergen Terminalien auf vergleichbare Weise wie bei DA-Fasern verursacht. Durch die reverse Aktivierung des 5-HT-Transporters wird 5-HT über die Membran in den Extrazellulärraum ausgeschüttet, wo es auf nichtenzymatischem Wege zur Bildung des Neurotoxins 5,7-Dihydroxytryptamin kommt (De Vito und Wagner, 1989). Wird diese Verbindung als „falscher Transmitter“ in die Präsynapsen aufgenommen, kommt es zur Zerstörung der betroffenen Terminalien. Wechselwirkungen infolge der simultanen Schädigung beider monoaminergen Fasersysteme sind deshalb zu erwarten (Schmidt und Fadayel, 1995). Brown und Molliver (2000) haben einen Mechanismus vorgeschlagen, der aufgrund einer durch MA

verursachten Koaktivierung DAerger und 5-HTerger Terminalien zu einer extrem erhöhten extrazellulären DA-Konzentration im Core des NAC führt. Die DAergen Präsynapsen werden hierbei durch axo-axonische 5-HTerge Terminalien zusätzlich zur Ausschüttung von DA angeregt, so daß sich im extrazellulären Raum eine hohe 6-Hydroxydopamin-Konzentration aufbauen kann. Eine derartige Koaktivierung beider Fasersysteme im NAC konnte bereits experimentell durch die lokale Applikation des 5-HT₃-Receptor-Agonisten 1-Phenylbiguanid erzeugt werden (Chen et al., 1991).

Die belohnenden Effekte vieler Stimulantien wurden lange Zeit ausschließlich mit der DAergen Innervation des NAC in Verbindung gebracht. Neuerdings konnte allerdings gezeigt werden, daß auch transgene Mäuse ohne funktionell aktiven DA-Transporter eine Selbststimulation mittels Kokaininjektion ausführen. Dieser Befund führte zu der Interpretation, daß 5-HT zu den belohnenden Effekten von Drogen beiträgt, indem die DA-Ausschüttung im NAC verstärkt wird (Rocha et al., 1998). Dies kann als weiterer indirekter Hinweis für eine Koaktivierung der monoaminergen Transmittersysteme des NAC gelten.

Im Einklang mit Untersuchungen zur physiologischen Wechselwirkung von DA und 5-HT und den hier präsentierten Befunden steht ein Bericht, wonach eine einmalige Amphetamin-Applikation neuroplastische Prozesse auslöst, die innerhalb von drei Wochen zu einer Hyperreaktivität der accumbalen DAergen Innervation führen (Vanderschuren et al., 1999). Es ist zu vermuten, daß die Amphetamin-Intoxikation akute Schäden an der monoaminergen Innervation des NAC hervorruft. Die Dichte des DAergen Fasernetzes wird anschließend nicht wieder hergestellt, stattdessen erhöhen die DAergen Terminalien die phasische DA-Ausschüttung. Das 5-HTerge Transmittersystem ist hingegen im Laufe einiger Wochen zu einer vollständigen Regeneration imstande (Azmitia et al., 1978; Zhou et al., 1995); es kann sogar zu einer Hyperinnervation des NAC kommen (Fischer et al., 1995). Die DAerge Innervation des NAC könnte aber innerhalb sehr langer Zeiträume dennoch deutliche Regenerationsfähigkeiten haben. Es wird berichtet, daß die kalziumabhängige Ausschüttung, die extrazelluläre Konzentration und die Abbau- bzw. Wiederaufnahmerate von DA im NAC nach einer akuten MA-Intoxikation deutlich verändert sind (Cass und Manning, 1999). Die Werte sind auch nach 6 Monaten noch unterschiedlich gegenüber der Kontrollgruppe; erst nach 12 Monaten finden sich keine signifikanten Abweichungen mehr. Möglicherweise unterscheiden sich die DAergen und die 5-HTergen Faserpopulationen weniger in der grundsätzlichen Fähigkeit zur Regeneration, als vielmehr in der dazu benötigten Geschwindigkeit.

Es sind also mehrere physiologische Mechanismen denkbar, die bei monoaminergen Fasern im NAC eine regional unterschiedliche Vulnerabilität gegen eine einmalige MA-Intoxikation vermitteln können. Allerdings sind über die regionalen Prozesse hinaus die vielfältigen Verbindungen der limbopräfrontalen Gebiete untereinander von Bedeutung, ermöglichen diese doch erst den wechselseitigen Austausch von Aktivitäten, die bei adaptiven Reifungsvorgängen strukturierend auf die lokalen neuronalen Netze einwirken. Im nächsten Abschnitt wird deshalb auf die Organisation der limbopräfrontalen Netzwerke eingegangen.

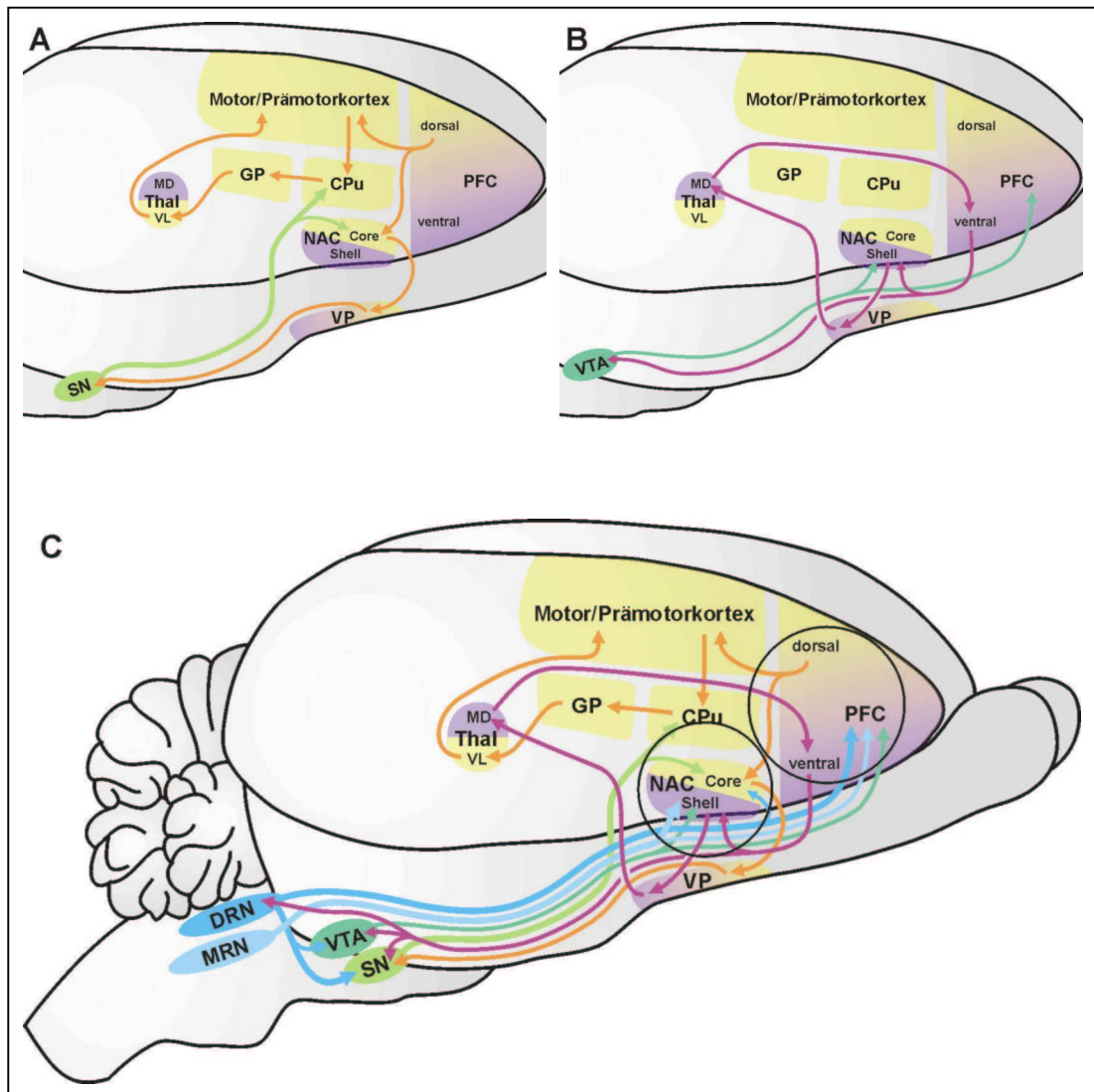


Abb. 4.2: Kerngebiete und Verbindungen der limbopräfrontalen und der motorischen Netzwerke.

(A) Motorische Bahnen. Dargestellt sind die dorsale thalamische, sowie die mesenzephalische motorische Schleife, die durch die DAerge mesostriäre Projektion in der CPu konvergieren. (B) Limbopräfrontale Bahnen. Die frontale Schleife führt über das basale Vorderhirn zum mediodorsalen Thalamus zurück in den PFC. Die mesenzephalische Schleife konvergiert über die DAerge Innervation des Shell und des PFC mit der frontalen Schleife. (C) Gesamtdarstellung der beiden Subsysteme mit der monoaminergen Innervation der untersuchten Gebiete PFC und NAC (Kreise). Zu beachten sind die präfrontalen Projektionen ins Mesenzephalon und die 5-HTergen Afferenzen der DAergen Kerne (nähere Erläuterungen finden sich im Text).

CPu Caudatus/Putamen
 DRN Nucleus raphe dorsalis
 GP Globus pallidus
 MD Thalamus, mediodorsal
 MRN Nucleus raphe medialis

SN Substantia nigra
 VL Thalamus, ventrolateral
 VP Ventrales Pallidum
 VTA Ventrale tegmentale area

4.4 Zur Beeinträchtigung der Funktion limbopräfrontaler Netzwerke

Wir vermuten aufgrund der vielfältigen Verbindungen des PFC und des NAC, daß epigenetisch induzierte Modifikationen der morphologischen und der physiologischen Parameter nicht auf diese beiden Gebiete beschränkt sind. Vielmehr ist zu erwarten, daß sich die Struktur ganzer

Funktionssysteme während der postnatalen aktivitätsgesteuerten Reifung an extrinsische Einflüsse adaptiert und Störungen dauerhaft in die funktionellen Verknüpfungen der betroffenen neuronalen Netze „eingeschrieben“ werden. An dieser Stelle bietet sich ein Angriffspunkt für die Umwelt, im engeren Wortsinn substanziiell auf das Gehirn einzuwirken. Deshalb werden die Befunde zur Faserdichte der 5-HTergen und der DAergen Innervation nun im direkten Zusammenhang mit der Konnektivität des PFC und des NAC diskutiert. Hierzu wird in Abb. 4.2 ein Überblick der Verbindungen limbischer und motorischer Areale präsentiert.

Funktionelle Verbindungen des PFC

In unserer Arbeitsgruppe erhobene Befunde erbringen den Nachweis, daß die Dichte und die Anordnung von präfrontalen Projektionen in den parietalen Kortex (Bagorda et al., 2001) und in das dorsale Striatum (Lehmann, 2001) in Abhängigkeit von den Aufzuchtbedingungen und der Einwirkung einer frühen MA-Intoxikation gestört sind. Mit dieser Beeinträchtigung der efferenten Verbindungen des PFC gehen Veränderungen der präfrontalen DAergen (Dawirs et al., 1994; Neddens et al., 2001; Winterfeld et al., 1998) und der GABAergen (Nossol et al., 1997) Innervation einher. Darüberhinaus ist die 5-HTerge Innervationsdichte im PFC und im NAC (vorliegende Arbeit), sowie im parietalen Kortex (Bagorda et al., 2001) und im dorsalen Striatum (Lehmann, 2001) verändert. Dies ist ein Hinweis auf funktionelle Störungen der adaptiven Reifung des Kortex, die mittels der präfrontalen Projektionen über den PFC hinaus weitere Gebiete erfassen können. Der veränderten Verteilung der 5-HTergen Fasern auf die Laminae des PFC könnte hierbei ein entscheidender Einfluß zukommen, da der Aktivitätsfluss durch die vertikalen Kolumnen des PFC höchstwahrscheinlich deutlich verzerrt wird und die Signalcodierung der efferenten Pyramidenzellen in dysfunktionaler Weise verändert sein sollte. Dies trifft insbesondere auf Lamina III zu, wo 5-HT darüberhinaus den exzitatorischen Einfluß der afferenten thalamischen Terminalien aus dem mediodorsalen Nucleus moduliert (Mantz et al., 1990). Dieser Kern wird auch als „limbischer Thalamus“ bezeichnet, da er konvergierende Afferenzen aus dem piriformen Kortex, der basolateralen Amygdala, dem entorhinalen Kortex, dem ventralen Pallidum und dem ventralen PFC erhält (Groenewegen, 1988; Kuroda und Price, 1991; Ray und Price, 1992). Die Veränderung des Einflusses dieser Sammelstation auf die Signalverarbeitung im PFC könnte bedeuten, daß präfrontale Aktivitäten nicht hinreichend mit den Vorgängen in anderen Hirnarealen koordiniert sind.

Der PFC besitzt direkte Projektionen zur ventralen tegmental Area (Lewis und Sesack, 1997; Sesack und Pickel, 1992), die wiederum mittels GABAerger und DAerger Projektionen inhibitorisch auf den PFC einwirkt (Pirot et al., 1992). Neuere elektronenmikroskopische Analysen zeigen, daß die DAerge Zellpopulation selektiv präfrontale Afferenzen erhält (Carr und Sesack, 1999). Es werden gezielt Neurone innerviert, die zurück zum PFC sowie zum NAC projizieren (Carr und Sesack, 2000). Der ventrale PFC verfügt auch über Projektionen zu den medialen und dorsalen Raphekernen (Hajos et al., 1998; Sesack et al., 1989; Van Bockstaele et al., 1993) und weist die größte 5-HTerge Faser- und Rezeptordichte sowie den höchsten 5-HT-Umsatz aller neokortikalen Bereiche auf (Bengel et al., 1997; Hoyer et al., 1994). Es ergeben sich also direkte

mesopräfrontale Rückkopplungsschleifen für beide monoaminergen Transmittersysteme (Abb. 4.2.C). Der PFC ist damit in einer Position, nicht nur die Aktivität der eigenen aminergen Innervation zu beeinflussen, sondern darüber hinaus die Ausschüttung von 5-HT und DA in weiteren kortikalen und subkortikalen Arealen des Telenzephalons zu modulieren. Besonders ausgeprägt ist der Einfluß auf die aminerge Innervation von Teilen der Basalganglien, wie dem NAC und der Substantia nigra. Von Bedeutung ist in diesem Zusammenhang, daß die Substantia nigra zu den am stärksten 5-HTerg innervierten Hirngebieten zählt. Diese Afferenz stammt hauptsächlich aus der Zellgruppe B7 der dorsalen Raphe (Vertes, 1991). Der PFC kann also sowohl auf direktem wie auf indirektem Wege Einfluß auf die Aktivität motorischer Areale und damit auf das beobachtbare Verhalten nehmen. Insofern besteht wiederum die Möglichkeit, daß ein dysfunktional eingebundener PFC die Koordination von Aktivitäten in motorischen Hirngebieten stört.

Im Gegensatz zu anderen kortikalen Gebieten führt die Implantation von Elektroden im PFC zu intracranialer Selbststimulation über die Aktivierung belohnender Bahnen (Rolls und Cooper, 1973; Routtenberg und Sloan, 1972). Für diesen Effekt könnte die reziproke Verbindung orbitaler präfrontaler Areale mit dem Hypothalamus verantwortlich sein, der von keinem anderen Kortextbereich innerviert wird (Buchanan et al., 1994) und in dem es bekanntermaßen zu massiver Selbststimulation kommt (Olds und Milner, 1954). Über diese Verbindung nimmt der PFC Einfluß auf die Steuerung der Homöostase und die Aktivität des vegetativen Nervensystems, was für physiologische Funktionen – z.B. im Rahmen von Stressantworten – entscheidend ist. Der PFC kann also aktiv in die Steuerung von autonomen Reaktionen des Körpers eingreifen, die wiederum auf das gesamte Zentralnervensystem zurückwirken (Saper, 2000; Van Eden und Buijs, 2000) und dort weitere Reaktionen auslösen können. Die Fähigkeit, angemessen auf Stress zu reagieren, hängt außerdem von einer intakten Katecholamin-Innervation des PFC ab (Anisman und Sklar, 1979; Arnsten, 1998). Somit besteht die Möglichkeit, daß durch die beschriebene Verzerrung der monoaminergen Innervation des PFC eine Art Teufelskreis erreicht wird und Tiere mit einer daraus resultierenden funktionellen Läsion des PFC sogar die Standardlaborhaltung als Stress empfinden könnten (King et al., 1997).

Funktionelle Verbindungen des NAC

Die Befunde zur Wirkung epigenetischer Faktoren auf die Dichte der monoaminergen Innervation des NAC legen den Schluß nahe, daß bestimmte Faserpopulationen in ihrer postnatalen Reifung gestört werden können und andere Fasern infolgedessen mit einer Hyperinnervation reagieren. Eine solche Reaktion ist vor allem nach einer MA-Intoxikation zu erwarten, da selektiv Transportertragende DAerge Fasern aus der Substantia nigra und 5-HTerge Fasern aus der dorsalen Raphe geschädigt werden. Die hier vorgelegten Ergebnisse legen den Schluß nahe, daß es im Zuge eines aktivitätsgesteuerten Umbaus der lokalen neuronalen Verknüpfungen zu einer 5-HTergen Hyperinnervation des NAC durch Fasern aus der medialen Raphe kommt. Wie ist dieses veränderte Innervationsmuster funktional zu bewerten?

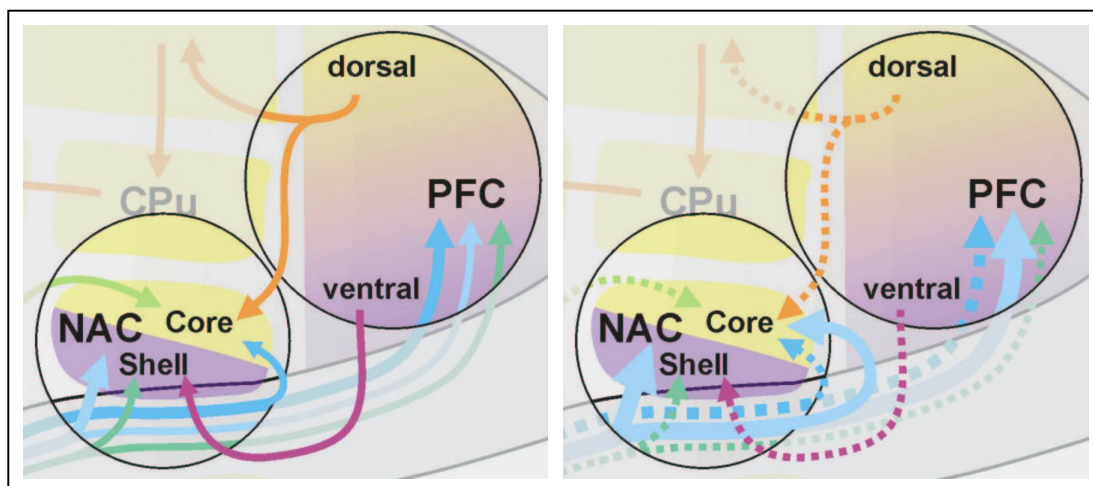


Abb. 4.3: Modell der aktivitätsgesteuerten Veränderungen des limbopräfrontalen Netzwerkes im Zuge der postnatalen Reifung.

(A) Verbindungen und monoaminerge Innervation des PFC und des NAC bei seminaturaler Aufzucht. (B) Infolge einer frühen pharmakologischen Intervention oder restriktiver Aufzucht kommt es zu einer Verzerrung der Struktur der limbopräfrontalen Verbindungen. Die monoaminergen Faserpopulationen aus der VTA (grün) und der dorsalen Raphe (dunkelblau) sind vermindert gereift, die 5-HTerge Innervation aus der medialen Raphe (hellblau) reagiert mit einer Erhöhung der Faserdichte. Der PFC wird in seiner Funktion geschädigt, mit der Folge, daß die Aktivität der Basalganglien der präfrontalen Kontrolle (orange und violett) entgleitet.

Die Subareale des NAC werden durch topisch angeordnete Projektionen aus verschiedenen Hirngebieten erreicht, deren konvergierende Aktivitäten simultan verarbeitet und in motorische Handlungen umgesetzt werden. Dem NAC kommt insofern insgesamt eine assoziative Funktion zu (Pierce und Kalivas, 1997). Für ein tieferes Verständnis der Bedeutung der hier erhobenen Befunde bietet es sich allerdings an, die Verbindungen der Subareale zunächst noch einmal getrennt zu betrachten. Der Core erhält Afferenzen aus dem dorsalen PFC (Hajos et al., 1998) und der dorsalen Hippocampusformation (Brog et al., 1993), sowie aus der basolateralen Amygdala und dem lateralen Hypothalamus (Otake und Nakamura, 2000). Bidirektionale Verbindungen bestehen mit der Substantia nigra pars compacta und starke efferente Projektionen werden zum ventralen Pallidum entsandt (Heimer et al., 1991). Der Shell erhält Afferenzen aus dem ventralen PFC und der ventralen Hippocampusformation (Brog et al., 1993). Es besteht eine reziproke Verbindung mit der ventralen tegmentalen Area, desweiteren sind unidirektionale Projektionen zum lateralen Hypothalamus und zum ventralen Pallidum beschrieben (Otake und Nakamura, 2000).

Bei genauerer Analyse der topischen Zuordnungen dieses „limbomotorischen“ Netzwerkes ist festzustellen, daß Verbindungen hauptsächlich zwischen funktionell ähnlichen Arealen bestehen. Beispielsweise projiziert das motorische Subareal des NAC – der Core – in die Substantia nigra pars compacta, dem Ursprungskern der DAergen Innervation des dorsalen Striatums. Der dorsale PFC hat unidirektionale Verbindungen sowohl in den Core als auch in den prämotorischen Kortex. Der Shell hingegen projiziert zur ventralen tegmentalen Area und erhält konvergierende Afferenzen aus den ventralen Bereichen des PFC und der Hippocampusformation, die in enger Verbindung zu limbischen Arealen wie der Amygdala und dem piriformen Kortex

stehen. Diese Zuordnung von miteinander verbundenen Bereichen legt den Schluß nahe, daß die hier angesprochenen Hirnareale in zwei parallelen Netzwerken organisiert sind (Abb. 4.2), die in einigen Bereichen miteinander in Wechselwirkung treten (vergl. Price et al., 1996). Auch die Projektion des 5-HTergen Transmittersystems folgt diesem Schema. Am Beispiel der Innervation des PFC und des NAC wurde bereits nachgewiesen, daß Gebiete mit funktionell ähnlichen Einbindungen durch Kollaterale der gleichen 5-HTergen Projektionsneurone innerviert werden (Van Bockstaele et al., 1993).

Zu den Schnittstellen dieser parallel organisierten motorischen und limbischen Netzwerke gehört der NAC. Der Core wird durch Transporter-tragende monoaminerge Fasern innerviert, die durch einen hohen Transmitterumsatz und phasische Aktivität gekennzeichnet sind. Der Shell wird hingegen von Fasern mit einer deutlich geringeren Umsatzrate innerviert, die die „medium spiny cells“ und ihre Afferenzen tonisch modulieren. Kommt es nun zu einer Verzerrung der monoaminergen Innervationsmuster, infolge des Einflusses von MA oder restriktiven Aufzuchtbedingungen, so wird die phasische Aktivität im Core deutlich beeinträchtigt (Jones et al., 1992). Desweiteren ist zu vermuten, daß die Modulation afferenter glutamaterger Fasern aus der basolateralen Amygdala, der Hippocampusformation und dem PFC gestört ist (Abb. 4.3) (Burns et al., 1996). Funktionell geschädigten Tieren fehlt insofern die Möglichkeit, angemessen auf Stress zu reagieren (referiert in: Cabib und Puglisi-Allegra, 1996). Weitere Folgen können erhöhte Ängstlichkeit und die Generierung stereotypen Verhaltens sein (Alheid und Heimer, 1996).

4.5 Fazit

Die vorliegende Arbeit liefert deutliche Anhaltspunkte für die adaptive Reifung der monoaminergen Faserpopulationen in limbomotorischen Hirngebieten, die in wechselseitiger Beeinflussung aktivitätsgesteuert zu unterschiedlich strukturierten neuronalen Netzwerken führt. Die dabei gewonnenen Erkenntnisse und vor allem das Prinzip der umweltabhängigen Wirkung von psychoaktiven Substanzen bedürfen der Verifizierung und des Ausbaus. Es erscheint mir insbesondere aus zweierlei Gründen dringend erforderlich, diese Forschungsrichtung zu intensivieren:

1. Eine verminderte DA-Aktivität bei gleichzeitiger Erhöhung des 5-HT-Umsatzes im PFC wurde im Zusammenhang mit kognitiven Defiziten bei Schizophreniekranken bereits vor Jahren postuliert (Roth und Meltzer, 1995). Die einmalige MA-Applikation verursacht eine solche Veränderung des DA/5-HT-Verhältnisses im PFC und im NAC und bietet sich daher als experimentell zugängliches Arbeitsmodell zur Untersuchung wichtiger Aspekte psychotischer Erkrankungen an.
2. Das Studium der plastischen Vorgänge im Nervensystem – insbesondere der wechselseitigen Beeinflussungen der monoaminergen Transmittersysteme während langer Zeitabschnitte – ist von grundlegender Bedeutung für das Verständnis höherer Hirnfunktionen. In der vorliegenden Arbeit lag der Fokus auf der neuronalen Dynamik während der juvenilen Phase. Diese Forschung sollte auf das adulte Gehirn ausgedehnt werden, um am hier etablierten Tiermodell zu untersuchen, ob sich die neuronalen Netzwerke auf dem erkannten pathologischen Niveau

stabilisieren oder sich vielmehr im alternden Gehirn weiter fortschreitend destabilisieren und letztlich zur Genese neurologischer Erkrankungen führen können. Diese Erkenntnis aus der Grundlagenforschung wäre in mehreren Zusammenhängen von großem Wert für die medizinische Praxis, beispielsweise für das Verständnis der Ätiologie verschiedener neurologischer Störungen – etwa der Parkinson'schen Krankheit – oder der individuellen Prädisposition für Suchterkrankungen.

5. Statistische Daten

5.1 Präfrontaler Kortex

Meßwerte, Gehege			
Kontr I/II	Mittelwert ± Standardabweichung	7,37 ± 1,16	n = 5
MA I/II	Mittelwert ± Standardabweichung	6,63 ± 1,38	n = 10
Kontr V/VI	Mittelwert ± Standardabweichung	5,52 ± 1,32	n = 5
MA V/VI	Mittelwert ± Standardabweichung	4,99 ± 1,33	n = 10
Tests: Kontrolle gegen MA			
I/II	F-Test	p = 0,7912	n.s.
	t-Test	p = 0,3240	n.s.
V/VI	F-Test	p = 0,9187	n.s.
	t-Test	p = 0,4863	n.s.
Tests: Laminae I/II gegen Laminae V/VI			
Kontrolle	F-Test	p = 0,8048	n.s.
	t-Test	p = 0,0189	*
MA	F-Test	p = 0,9196	n.s.
	t-Test	p = 0,0006	***

Tabelle zur Abb. 3.4: Vergleich der dopaminergen Innervation superfizieller und tiefer Laminae des medialen präfrontalen Kortex bei Gehegetieren: Meßwerte und statistische Tests.

Tests, rostral: links gegen rechts			
Gehege Kontr	F-Test	p = 0,4829	n.s.
	t-Test (abhängige Stichproben)	p = 0,0132	*
Gehege MA	F-Test	p = 0,0041	**
	t-Test (abhängige Stichproben)	p = 0,0046	**
Käfig Kontr	F-Test	p = 0,6367	n.s.
	t-Test (abhängige Stichproben)	p = 0,0001	***
Käfig MA	F-Test	p = 0,4289	n.s.
	t-Test (abhängige Stichproben)	p = 0,0175	*
Tests, caudal: links gegen rechts			
Gehege Kontr	F-Test	p = 0,0006	***
	t-Test (abhängige Stichproben)	p = 0,0007	***
Gehege MA	F-Test	p = 0,0001	***
	t-Test (abhängige Stichproben)	p = 0,0005	***
Käfig Kontr	F-Test	p = 0,0128	**
	t-Test (abhängige Stichproben)	p = 0,0007	***
Käfig MA	F-Test	p = 0,0925	n.s.
	t-Test (abhängige Stichproben)	p = 0,0111	*

Tabelle zur Abb. 3.7: Die serotoninerge Innervation des medialen präfrontalen Kortex im rechts/links-Vergleich: Statistische Tests.

Mittelwerte und Standardabweichungen: siehe Tabelle zur Abb. 3.6, Seite 53.

Meßwerte, rostral: AI			
Gehege Kontr AI	Mittelwert ± Standardabweichung	100,0 ± 31,91	n = 5
Gehege MA AI	Mittelwert ± Standardabweichung	77,49 ± 14,05	n = 9
Käfig Kontr AI	Mittelwert ± Standardabweichung	100,0 ± 31,99	n = 8
Käfig MA AI	Mittelwert ± Standardabweichung	69,34 ± 28,54	n = 9
Meßwerte, rostral: LO			
Gehege Kontr LO	Mittelwert ± Standardabweichung	87,15 ± 24,59	n = 5
Gehege MA LO	Mittelwert ± Standardabweichung	106,37 ± 36,4	n = 9
Käfig Kontr LO	Mittelwert ± Standardabweichung	118,98 ± 43,81	n = 8
Käfig MA LO	Mittelwert ± Standardabweichung	68,38 ± 23,19	n = 9
Meßwerte, caudal: AI			
Gehege Kontr AI	Mittelwert ± Standardabweichung	109,89 ± 26,54	n = 5
Gehege MA AI	Mittelwert ± Standardabweichung	92,32 ± 23,81	n = 9
Käfig Kontr AI	Mittelwert ± Standardabweichung	90,32 ± 28,16	n = 8
Käfig MA AI	Mittelwert ± Standardabweichung	70,94 ± 21,27	n = 9
Meßwerte, caudal: LO			
Gehege Kontr LO	Mittelwert ± Standardabweichung	90,08 ± 19,91	n = 5
Gehege MA LO	Mittelwert ± Standardabweichung	113,79 ± 29,96	n = 9
Käfig Kontr LO	Mittelwert ± Standardabweichung	96,84 ± 24,64	n = 8
Käfig MA LO	Mittelwert ± Standardabweichung	72,62 ± 16,93	n = 9
Tests, rostral: AI gegen LO			
Gehege Kontr	F-Test	p = 0,6269	n.s.
	t-Test (abhängige Stichproben)	p = 0,2522	n.s.
Gehege MA	F-Test	p = 0,0145	*
	t-Test (abhängige Stichproben)	p = 0,0416	*
Käfig Kontr: AI gegen LO	F-Test	p = 0,4652	n.s.
	t-Test (abhängige Stichproben)	p = 0,1322	n.s.
Käfig MA: AI / LO	F-Test	p = 0,5978	n.s.
	t-Test (abhängige Stichproben)	p = 0,9177	n.s.
Tests, rostral: Kontrolle gegen MA			
Gehege AI	F-Test	p = 0,0477	*
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,1954	n.s.
Käfig AI	F-Test	p = 0,7503	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,0541	n.s.
Gehege LO	F-Test	p = 0,4696	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,3168	n.s.
Käfig LO	F-Test	p = 0,1152	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,0119	*
Tests, caudal: AI gegen LO			
Gehege Kontr	F-Test	p = 0,5953	n.s.
	t-Test (abhängige Stichproben)	p = 0,2055	n.s.
Gehege MA	F-Test	p = 0,5301	n.s.
	t-Test (abhängige Stichproben)	p = 0,0887	n.s.
Käfig Kontr	F-Test	p = 0,6992	n.s.
	t-Test (abhängige Stichproben)	p = 0,7547	n.s.
Käfig MA	F-Test	p = 0,5293	n.s.
	t-Test (abhängige Stichproben)	p = 0,8728	n.s.
Tests, caudal: Kontrolle gegen MA			
Gehege AI	F-Test	p = 0,7316	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,2989	n.s.
Käfig AI	F-Test	p = 0,4491	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,1284	n.s.
Gehege LO	F-Test	p = 0,4528	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,1410 [^]	n.s.
Käfig LO	F-Test	p = 0,3066	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,0269	*

Tabelle zur Abb. 3.5: Die dopaminerge Innervation der Subareale des rechten orbitalen präfrontalen Kortex: Meßwerte und statistische Tests.

Meßwerte, rostral: links			
Gehege Kontr	Mittelwert ± Standardabweichung	1,52 ± 0,56	n = 9
Gehege MA	Mittelwert ± Standardabweichung	1,49 ± 0,39	n = 8
Käfig Kontr	Mittelwert ± Standardabweichung	1,70 ± 0,45	n = 9
Käfig MA	Mittelwert ± Standardabweichung	1,68 ± 0,76	n = 7
Meßwerte, rostral: rechts			
Gehege Kontr	Mittelwert ± Standardabweichung	2,17 ± 0,44	n = 9
Gehege MA	Mittelwert ± Standardabweichung	3,03 ± 1,21	n = 8
Käfig Kontr	Mittelwert ± Standardabweichung	2,84 ± 0,54	n = 9
Käfig MA	Mittelwert ± Standardabweichung	3,04 ± 1,07	n = 7
Meßwerte, caudal: links			
Gehege Kontr	Mittelwert ± Standardabweichung	0,95 ± 0,24	n = 9
Gehege MA	Mittelwert ± Standardabweichung	1,45 ± 0,28	n = 8
Käfig Kontr	Mittelwert ± Standardabweichung	1,30 ± 0,52	n = 9
Käfig MA	Mittelwert ± Standardabweichung	1,41 ± 0,41	n = 7
Meßwerte, caudal: rechts			
Gehege Kontr	Mittelwert ± Standardabweichung	2,67 ± 1,09	n = 9
Gehege MA	Mittelwert ± Standardabweichung	4,17 ± 1,29	n = 8
Käfig Kontr	Mittelwert ± Standardabweichung	3,18 ± 1,32	n = 9
Käfig MA	Mittelwert ± Standardabweichung	2,96 ± 1,04	n = 7
Tests, rostral: Kontrolle gegen MA			
Gehege, links	F-Test	p = 0,3122	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,9050	n.s.
Käfig, links	F-Test	p = 0,1655	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,9335	n.s.
Gehege, rechts	F-Test	p = 0,0066	***
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,0708	n.s.
Käfig, rechts	F-Test	p = 0,0602	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,0612	n.s.
Tests, rostral: Gehege- gegen Käfigaufzucht			
Kontr, links	F-Test	p = 0,5288	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,4559	n.s.
MA, links	F-Test	p = 0,0812	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,5245	n.s.
Kontr, rechts	F-Test	p = 0,5870	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,0069	**
MA, rechts	F-Test	p = 0,7860	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,9932	n.s.
Tests, caudal: Kontrolle gegen MA			
Gehege, links	F-Test	p = 0,6815	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,0009	***
Käfig, links	F-Test	p = 0,6859	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,6981	n.s.
Gehege, rechts	F-Test	p = 0,6320	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,0166	*
Käfig, rechts	F-Test	p = 0,5793	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,7108	n.s.
Tests, caudal: Gehege- gegen Käfigaufzucht			
Kontr, links	F-Test	p = 0,0538	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,0960	n.s.
MA, links	F-Test	p = 0,3122	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,8277	n.s.
Kontr, rechts	F-Test	p = 0,5727	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,3369	n.s.
MA, rechts	F-Test	p = 0,6251	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,0696	n.s.

Tabelle zur Abb. 3.6: Die serotoninerge Innervation des medialen präfrontalen Kortex beider Hirnhemisphären: Meßwerte und statistische Tests.

Meßwerte, rostral			
La I: Gehege Kontr	Mittelwert ± Standardabweichung	2,33 ± 0,93	n = 9
La I: Gehege MA	Mittelwert ± Standardabweichung	2,18 ± 0,37	n = 8
La I: Käfig Kontr	Mittelwert ± Standardabweichung	1,84 ± 0,58	n = 9
La I: Käfig MA	Mittelwert ± Standardabweichung	2,55 ± 0,88	n = 7
La II: Gehege Kontr	Mittelwert ± Standardabweichung	1,81 ± 0,71	n = 9
La II: Gehege MA	Mittelwert ± Standardabweichung	1,76 ± 0,39	n = 8
La II: Käfig Kontr	Mittelwert ± Standardabweichung	1,83 ± 0,60	n = 9
La II: Käfig MA	Mittelwert ± Standardabweichung	1,96 ± 0,93	n = 7
La IIIa: Gehege Kontr	Mittelwert ± Standardabweichung	1,21 ± 0,55	n = 9
La IIIa: Gehege MA	Mittelwert ± Standardabweichung	1,23 ± 0,75	n = 8
La IIIa: Käfig Kontr	Mittelwert ± Standardabweichung	1,72 ± 0,48	n = 9
La IIIa: Käfig MA	Mittelwert ± Standardabweichung	1,35 ± 0,81	n = 7
Lae IIIb/V: Gehege Kontr	Mittelwert ± Standardabweichung	1,18 ± 0,34	n = 9
Lae IIIb/V: Gehege MA	Mittelwert ± Standardabweichung	1,35 ± 0,30	n = 8
Lae IIIb/V: Käfig Kontr	Mittelwert ± Standardabweichung	1,75 ± 0,49	n = 9
Lae IIIb/V: Käfig MA	Mittelwert ± Standardabweichung	1,51 ± 0,59	n = 7
La V: Gehege Kontr	Mittelwert ± Standardabweichung	1,06 ± 0,42	n = 9
La V: Gehege MA	Mittelwert ± Standardabweichung	0,92 ± 0,48	n = 8
La V: Käfig Kontr	Mittelwert ± Standardabweichung	1,38 ± 0,40	n = 9
La V: Käfig MA	Mittelwert ± Standardabweichung	1,02 ± 0,71	n = 7
Meßwerte, caudal			
La I: Gehege Kontr	Mittelwert ± Standardabweichung	1,49 ± 0,46	n = 9
La I: Gehege MA	Mittelwert ± Standardabweichung	2,43 ± 0,36	n = 8
La I: Käfig Kontr	Mittelwert ± Standardabweichung	2,01 ± 0,39	n = 9
La I: Käfig MA	Mittelwert ± Standardabweichung	2,21 ± 0,71	n = 7
La II: Gehege Kontr	Mittelwert ± Standardabweichung	1,02 ± 0,37	n = 9
La II: Gehege MA	Mittelwert ± Standardabweichung	1,58 ± 0,37	n = 8
La II: Käfig Kontr	Mittelwert ± Standardabweichung	1,54 ± 0,53	n = 9
La II: Käfig MA	Mittelwert ± Standardabweichung	1,50 ± 0,54	n = 7
La IIIa: Gehege Kontr	Mittelwert ± Standardabweichung	0,31 ± 0,27	n = 9
La IIIa: Gehege MA	Mittelwert ± Standardabweichung	1,03 ± 0,56	n = 8
La IIIa: Käfig Kontr	Mittelwert ± Standardabweichung	0,98 ± 0,63	n = 9
La IIIa: Käfig MA	Mittelwert ± Standardabweichung	0,98 ± 0,59	n = 7
Lae IIIb/V: Gehege Kontr	Mittelwert ± Standardabweichung	0,91 ± 0,29	n = 9
Lae IIIb/V: Gehege MA	Mittelwert ± Standardabweichung	1,27 ± 0,32	n = 8
Lae IIIb/V: Käfig Kontr	Mittelwert ± Standardabweichung	1,20 ± 0,60	n = 9
Lae IIIb/V: Käfig MA	Mittelwert ± Standardabweichung	1,17 ± 0,33	n = 7
La V: Gehege Kontr	Mittelwert ± Standardabweichung	0,94 ± 0,23	n = 9
La V: Gehege MA	Mittelwert ± Standardabweichung	1,28 ± 0,30	n = 8
La V: Käfig Kontr	Mittelwert ± Standardabweichung	1,37 ± 0,50	n = 9
La V: Käfig MA	Mittelwert ± Standardabweichung	1,20 ± 0,20	n = 7
La VI: Gehege Kontr	Mittelwert ± Standardabweichung	1,01 ± 0,29	n = 9
La VI: Gehege MA	Mittelwert ± Standardabweichung	1,21 ± 0,28	n = 8
La VI: Käfig Kontr	Mittelwert ± Standardabweichung	1,51 ± 1,63	n = 9
La VI: Käfig MA	Mittelwert ± Standardabweichung	1,40 ± 0,38	n = 7

Tabelle 1 zur Abb. 3.8: Die serotoninerge Innervation der Laminae des rostralen medialen präfrontalen Kortex der linken Hemisphäre: Mittelwerte und Standardabweichungen.

Tests, rostral: Kontrolle gegen MA			
La I: Gehege	F-Test	p = 0,0178	*
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,6830	n.s.
La I: Käfig	F-Test	p = 0,2609	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,0715	n.s.
La II: Gehege	F-Test	p = 0,1138	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,8544	n.s.
La II: Käfig	F-Test	p = 0,2597	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,7368	n.s.
La IIIa: Gehege	F-Test	p = 0,4282	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,9434	n.s.
La IIIa: Käfig	F-Test	p = 0,1751	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,2683	n.s.
Lae IIIb/V: Gehege	F-Test	p = 0,7340	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,2840	n.s.
Lae IIIb/V: Käfig	F-Test	p = 0,5962	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,3876	n.s.
La V: Gehege	F-Test	p = 0,7499	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,5469	n.s.
La V: Käfig	F-Test	p = 0,1328	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,2170	n.s.
Tests, caudal: Kontrolle gegen MA			
La I: Gehege	F-Test	p = 0,4783	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,0003	***
La I: Käfig	F-Test	p = 0,1440	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,4994	n.s.
La II: Gehege	F-Test	p = 0,8372	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,0054	**
La II: Käfig	F-Test	p = 0,8807	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,8880	n.s.
La IIIa: Gehege	F-Test	p = 0,0890	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,0028	**
La IIIa: Käfig	F-Test	p = 0,9689	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,9896	n.s.
Lae IIIb/V: Gehege	F-Test	p = 0,9683	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,0297	*
Lae IIIb/V: Käfig	F-Test	p = 0,2688	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,9050	n.s.
La V: Gehege	F-Test	p = 0,4618	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,0304	*
La V: Käfig	F-Test	p = 0,1051	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,4873	n.s.
La VI: Gehege	F-Test	p = 0,7771	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,1642	n.s.
La VI: Käfig	F-Test	p = 0,3409	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,7178	n.s.

Tabelle 2 zur Abb. 3.8: Statistische Tests zur serotoninergen Innervation des medialen präfrontalen Kortex der linken Hirnhemisphäre: Kontrolle gegen Methamphetamin.

Tests, rostral: Gehege- gegen Käfigaufzucht			
La I: Kontr	F-Test	p = 0,2012	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,2071	n.s.
La I: MA	F-Test	p = 0,0270	*
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,3291	n.s.
La II: Kontr	F-Test	p = 0,6408	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,9550	n.s.
La II: MA	F-Test	p = 0,0296	*
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,6063	n.s.
La IIIa: Kontr	F-Test	p = 0,6997	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,0561	n.s.
La IIIa: MA	F-Test	p = 0,8288	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,7601	n.s.
Lae IIIb/V: Kontr	F-Test	p = 0,3655	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,0151	*
Lae IIIb/V: MA	F-Test	p = 0,0845	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,5091	n.s.
La V: Kontr	F-Test	p = 0,8427	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,1253	n.s.
La V: MA	F-Test	p = 0,3111	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,7406	n.s.
Tests, caudal: Gehege- gegen Käfigaufzucht			
La I: Kontr	F-Test	p = 0,6613	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,0231	*
La I: MA	F-Test	p = 0,0828	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,5289	n.s.
La II: Kontr	F-Test	p = 0,3730	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,0337	*
La II: MA	F-Test	p = 0,2542	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,7761	n.s.
La IIIa: Kontr	F-Test	p = 0,0363	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,0138	*
La IIIa: MA	F-Test	p = 0,7040	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,8553	n.s.
Lae IIIb/V: Kontr	F-Test	p = 0,0759	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,2359	n.s.
Lae IIIb/V: MA	F-Test	p = 0,7394	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,6299	n.s.
La V: Kontr	F-Test	p = 0,0533	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,0413	*
La V: MA	F-Test	p = 0,4716	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,9297	n.s.
La VI: Kontr	F-Test	p = 0,5353	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,0624	n.s.
La VI: MA	F-Test	p = 0,3672	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,2713	n.s.

Tabelle 3 zur Abb. 3.8: Statistische Tests zur serotoninergen Innervation des medialen präfrontalen Kortex der linken Hirnhemisphäre: Gehege- gegen Käfigaufzucht.

Werte, rostral			
La I: Gehege Kontr	Mittelwert ± Standardabweichung	2,68 ± 0,46	n = 9
La I: Gehege MA	Mittelwert ± Standardabweichung	4,02 ± 1,73	n = 8
La I: Käfig Kontr	Mittelwert ± Standardabweichung	3,30 ± 0,73	n = 9
La I: Käfig MA	Mittelwert ± Standardabweichung	4,06 ± 1,59	n = 7
La II: Gehege Kontr	Mittelwert ± Standardabweichung	2,37 ± 0,57	n = 9
La II: Gehege MA	Mittelwert ± Standardabweichung	3,26 ± 1,34	n = 8
La II: Käfig Kontr	Mittelwert ± Standardabweichung	3,30 ± 0,45	n = 9
La II: Käfig MA	Mittelwert ± Standardabweichung	3,25 ± 1,37	n = 7
La IIIa: Gehege Kontr	Mittelwert ± Standardabweichung	2,02 ± 0,45	n = 9
La IIIa: Gehege MA	Mittelwert ± Standardabweichung	2,65 ± 1,04	n = 8
La IIIa: Käfig Kontr	Mittelwert ± Standardabweichung	2,81 ± 0,63	n = 9
La IIIa: Käfig MA	Mittelwert ± Standardabweichung	2,79 ± 0,83	n = 7
Lae IIIb/V: Gehege Kontr	Mittelwert ± Standardabweichung	1,93 ± 0,53	n = 9
Lae IIIb/V: Gehege MA	Mittelwert ± Standardabweichung	2,74, ± 1,11	n = 8
Lae IIIb/V: Käfig Kontr	Mittelwert ± Standardabweichung	2,61 ± 0,56	n = 9
Lae IIIb/V: Käfig MA	Mittelwert ± Standardabweichung	2,55 ± 0,96	n = 7
La V: Gehege Kontr	Mittelwert ± Standardabweichung	1,87 ± 0,42	n = 9
La V: Gehege MA	Mittelwert ± Standardabweichung	2,51 ± 0,99	n = 8
La V: Käfig Kontr	Mittelwert ± Standardabweichung	2,20 ± 0,63	n = 9
La V: Käfig MA	Mittelwert ± Standardabweichung	2,56 ± 1,00	n = 7
Werte, caudal			
La I: Gehege Kontr	Mittelwert ± Standardabweichung	4,14 ± 1,48	n = 9
La I: Gehege MA	Mittelwert ± Standardabweichung	5,06 ± 1,51	n = 8
La I: Käfig Kontr	Mittelwert ± Standardabweichung	3,83 ± 1,93	n = 9
La I: Käfig MA	Mittelwert ± Standardabweichung	4,17 ± 1,78	n = 7
La II: Gehege Kontr	Mittelwert ± Standardabweichung	3,18 ± 1,04	n = 9
La II: Gehege MA	Mittelwert ± Standardabweichung	4,91 ± 1,56	n = 8
La II: Käfig Kontr	Mittelwert ± Standardabweichung	4,02 ± 1,49	n = 9
La II: Käfig MA	Mittelwert ± Standardabweichung	3,34 ± 1,35	n = 7
La IIIa: Gehege Kontr	Mittelwert ± Standardabweichung	2,00 ± 0,72	n = 9
La IIIa: Gehege MA	Mittelwert ± Standardabweichung	3,83 ± 1,16	n = 8
La IIIa: Käfig Kontr	Mittelwert ± Standardabweichung	2,85 ± 1,19	n = 9
La IIIa: Käfig MA	Mittelwert ± Standardabweichung	2,62 ± 1,00	n = 7
Lae IIIb/V: Gehege Kontr	Mittelwert ± Standardabweichung	2,06 ± 1,18	n = 9
Lae IIIb/V: Gehege MA	Mittelwert ± Standardabweichung	3,60 ± 1,41	n = 8
Lae IIIb/V: Käfig Kontr	Mittelwert ± Standardabweichung	2,65 ± 1,12	n = 9
Lae IIIb/V: Käfig MA	Mittelwert ± Standardabweichung	2,34 ± 1,08	n = 7
La V: Gehege Kontr	Mittelwert ± Standardabweichung	2,24 ± 1,18	n = 9
La V: Gehege MA	Mittelwert ± Standardabweichung	3,71 ± 1,13	n = 8
La V: Käfig Kontr	Mittelwert ± Standardabweichung	2,76 ± 1,26	n = 9
La V: Käfig MA	Mittelwert ± Standardabweichung	2,51 ± 0,72	n = 7
La VI: Gehege Kontr	Mittelwert ± Standardabweichung	2,41 ± 1,21	n = 9
La VI: Gehege MA	Mittelwert ± Standardabweichung	3,90 ± 1,25	n = 8
La VI: Käfig Kontr	Mittelwert ± Standardabweichung	2,95 ± 1,47	n = 9
La VI: Käfig MA	Mittelwert ± Standardabweichung	2,78 ± 0,91	n = 7

Tabelle 1 zur Abb. 3.9: Die serotoninerge Innervation des rostralen medialen präfrontalen Kortex der rechten Hirnhemisphäre. Mittelwerte und Standardabweichungen.

Tests, rostral: Kontr gegen MA			
La I: Gehege	F-Test	p = 0,0006	***
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,0515	n.s.
La I: Käfig	F-Test	p = 0,0378	*
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,2716	n.s.
La II: Gehege	F-Test	p = 0,0185	**
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,0931	n.s.
La II: Käfig	F-Test	p = 0,0153	*
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,9089	n.s.
La IIIa: Gehege	F-Test	p = 0,0203	**
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,1249	n.s.
La IIIa: Käfig	F-Test	p = 0,5791	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,9856	n.s.
Lae IIIb/V: Gehege	F-Test	p = 0,0415	*
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,0710	n.s.
Lae IIIb/V: Käfig	F-Test	p = 0,1467	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,8711	n.s.
La V: Gehege	F-Test	p = 0,0207	**
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,1014	n.s.
La V: Käfig	F-Test	p = 0,2007	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,3684	n.s.
Tests, caudal: Kontr gegen MA			
La I: Gehege	F-Test	p = 0,9430	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,2135	n.s.
La I: Käfig	F-Test	p = 0,8804	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,7076	n.s.
La II: Gehege	F-Test	p = 0,2570	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,0122	*
La II: Käfig	F-Test	p = 0,8507	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,3283	n.s.
La IIIa: Gehege	F-Test	p = 0,1795	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,0008	***
La IIIa: Käfig	F-Test	p = 0,7048	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,6614	n.s.
Lae IIIb/V: Gehege	F-Test	p = 0,5052	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,0195	*
Lae IIIb/V: Käfig	F-Test	p = 0,9934	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,5599	n.s.
La V: Gehege	F-Test	p = 0,9289	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,0167	*
La V: Käfig	F-Test	p = 0,1784	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,6369	n.s.
La VI: Gehege	F-Test	p = 0,9102	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,0208	*
La VI: Käfig	F-Test	p = 0,2456	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,7796	n.s.

Tabelle 2 zur Abb. 3.9: Die serotoninerge Innervation des caudalen medialen präfrontalen Kortex der rechten Hirnhemisphäre: Statistische Tests.

Tests, rostral: Gehege- gegen Käfigaufzucht			
La I: Kontr	F-Test	p = 0,1846	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,0375	*
La I: MA	F-Test	p = 0,8587	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,9639	n.s.
La II: Kontr	F-Test	p = 0,9012	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,0014	**
La II: MA	F-Test	p = 0,9393	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,9822	n.s.
La IIIa: Kontr	F-Test	p = 0,2215	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,0089	**
La IIIa: MA	F-Test	p = 0,5924	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,7776	n.s.
Lae IIIb/V: Kontr	F-Test	p = 0,8757	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,0119	*
Lae IIIb/V: MA	F-Test	p = 0,7367	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,7284	n.s.
La V: Kontr	F-Test	p = 0,2642	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,1917	n.s.
La V: MA	F-Test	p = 0,9499	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,9217	n.s.
Tests, caudal: Gehege- gegen Käfigaufzucht			
La I: Kontr	F-Test	p = 0,4336	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,6791	n.s.
La I: MA	F-Test	p = 0,6717	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,3118	n.s.
La II: Kontr	F-Test	p = 0,2895	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,1420	n.s.
La II: MA	F-Test	p = 0,7382	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,0591	n.s.
La IIIa: Kontr	F-Test	p = 0,1379	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,0568	n.s.
La IIIa: MA	F-Test	p = 0,7339	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,0508	n.s.
Lae IIIb/V: Kontr	F-Test	p = 0,9763	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,2215	n.s.
Lae IIIb/V: MA	F-Test	p = 0,5357	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,0774	n.s.
La V: Kontr	F-Test	p = 0,8594	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,3237	n.s.
La V: MA	F-Test	p = 0,2927	*
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,0319	n.s.
La VI: Kontr	F-Test	p = 0,5685	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,3537	n.s.
La VI: MA	F-Test	p = 0,4555	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,0712	n.s.

Tabelle 3 zur Abb. 3.9: Statistische Tests zur serotoninergen Innervation des medialen präfrontalen Kortex der rechten Hirnhemisphäre: Gehege- gegen Käfigaufzucht.

Tests, rostral: Gehege- gegen Käfigaufzucht			
Kontr	ANOVA		
	Stichproben	p = 0,4559	n.s.
	Gradienten	p = 4,21E-11	***
	Wechselwirkung	p = 1,11E-5	***
MA	ANOVA		
	Stichproben	p = 0,5245	n.s.
	Gradienten	p = 4,56E-18	***
	Wechselwirkung	p = 0,7266	n.s.
Tests, rostral: Kontr gegen MA			
Gehege	ANOVA		
	Stichproben	p = 0,9050	n.s.
	Gradienten	p = 9,21E-17	***
	Wechselwirkung	p = 0,5934	n.s.
Käfig	ANOVA		
	Stichproben	p = 0,9335	*
	Gradienten	p = 2,74E-13	***
	Wechselwirkung	p = 9,78E-7	***
Tests, caudal: Gehege- gegen Käfigaufzucht			
Kontr	ANOVA		
	Stichproben	p = 0,0192	*
	Gradienten	p = 8,64E-16	***
	Wechselwirkung	p = 0,4985	n.s.
MA	ANOVA		
	Stichproben	p = 0,8277	n.s.
	Gradienten	p = 1,40E-18	***
	Wechselwirkung	p = 0,6150	n.s.
Tests, caudal: Kontr gegen MA			
Gehege	ANOVA		
	Stichproben	p = 0,0009	***
	Gradienten	p = 5,30E-23	***
	Wechselwirkung	p = 0,0003	***
Käfig	ANOVA		
	Stichproben	p = 0,9168	n.s.
	Gradienten	p = 2,92E-12	***
	Wechselwirkung	p = 0,7166	n.s.

Tabelle 1 zur Abb. 3.10: Statistische Tests zur serotoninergen Innervation des linken medialen präfrontalen Kortex.

Mittelwerte und Standardabweichungen: siehe Tabelle 1 zur Abb. 3.8, Seite 69.

Tests, rostral: Gehege- gegen Käfigaufzucht			
Kontr	ANOVA		
	Stichproben	p = 0,0069	**
	Gradienten	p = 7,56E-15	***
	Wechselwirkung	p = 0,0544	n.s.
MA	ANOVA		
	Stichproben	p = 0,9932	n.s.
	Gradienten	p = 1,88E-11	***
	Wechselwirkung	p = 0,9262	n.s.
Tests, rostral: Kontr gegen MA			
Gehege	ANOVA		
	Stichproben	p = 0,0498	*
	Gradienten	p = 1,89E-15	***
	Wechselwirkung	p = 0,0219	*
Käfig	ANOVA		
	Stichproben	p = 0,6117	n.s.
	Gradienten	p = 7,47E-11	***
	Wechselwirkung	p = 0,0589	n.s.
Tests, caudal: Gehege- gegen Käfigaufzucht			
Kontr	ANOVA		
	Stichproben	p = 0,3369	n.s.
	Gradienten	p = 1,29E-22	***
	Wechselwirkung	p = 0,0037	**
MA	ANOVA		
	Stichproben	p = 0,0696	n.s.
	Gradienten	p = 3,75E-13	***
	Wechselwirkung	p = 0,6703	n.s.
Tests, caudal: Kontr gegen MA			
Gehege	ANOVA		
	Stichproben	p = 0,0166	*
	Gradienten	p = 5,48E-25	***
	Wechselwirkung	p = 0,0252	*
Käfig	ANOVA		
	Stichproben	p = 0,7101	n.s.
	Gradienten	p = 1,39E-12	***
	Wechselwirkung	p = 0,2783	n.s.

Tabelle 2 zur Abb. 3.10: Statistische Tests zur serotoninergen Innervation des rechten medialen präfrontalen Kortex.

Mittelwerte und Standardabweichungen: siehe Tabelle 1 zur Abb. 3.9, Seite 72.

Meßwerte, rostral: AI			
Gehege Kontr AI	Mittelwert ± Standardabweichung	1,71 ± 0,45	n = 9
Gehege MA AI	Mittelwert ± Standardabweichung	1,82 ± 0,55	n = 11
Käfig Kontr AI	Mittelwert ± Standardabweichung	1,53 ± 0,27	n = 10
Käfig MA AI	Mittelwert ± Standardabweichung	1,34 ± 0,87	n = 7
Meßwerte, rostral: LO			
Gehege Kontr LO	Mittelwert ± Standardabweichung	1,54 ± 0,33	n = 9
Gehege MA LO	Mittelwert ± Standardabweichung	1,95 ± 0,43	n = 11
Käfig Kontr LO	Mittelwert ± Standardabweichung	1,86 ± 0,43	n = 10
Käfig MA LO	Mittelwert ± Standardabweichung	1,81 ± 0,82	n = 7
Meßwerte, caudal: AI			
Gehege Kontr AI	Mittelwert ± Standardabweichung	1,51 ± 0,50	n = 9
Gehege MA AI	Mittelwert ± Standardabweichung	1,89 ± 0,43	n = 11
Käfig Kontr AI	Mittelwert ± Standardabweichung	1,70 ± 0,59	n = 10
Käfig MA AI	Mittelwert ± Standardabweichung	1,43 ± 0,87	n = 7
Meßwerte, caudal: LO			
Gehege Kontr LO	Mittelwert ± Standardabweichung	1,14 ± 0,21	n = 9
Gehege MA LO	Mittelwert ± Standardabweichung	1,59 ± 0,36	n = 11
Käfig Kontr LO	Mittelwert ± Standardabweichung	1,42 ± 0,31	n = 10
Käfig MA LO	Mittelwert ± Standardabweichung	1,39 ± 0,35	n = 7
Tests, rostral: Gehege- gegen Käfigaufzucht			
AI: Kontr	F-Test	p = 0,1677	n.s.
	t-Test (abhängige Stichproben)	p = 0,2298	n.s.
AI: MA	F-Test	p = 0,1714	n.s.
	t-Test (abhängige Stichproben)	p = 0,1563	n.s.
LO: Kontr	F-Test	p = 0,5630	n.s.
	t-Test (abhängige Stichproben)	p = 0,0883	n.s.
LO: MA	F-Test	p = 0,0611	n.s.
	t-Test (abhängige Stichproben)	p = 0,6097	n.s.
Tests, rostral: Kontrolle gegen MA			
Gehege AI	F-Test	p = 0,5763	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,6300	n.s.
Käfig AI	F-Test	p = 0,0029	***
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,6002	n.s.
Gehege LO	F-Test	p = 0,4522	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,0250	*
Käfig LO	F-Test	p = 0,0795	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,8751	n.s.
Tests, caudal: Gehege- gegen Käfigaufzucht			
AI: Kontr	F-Test	p = 0,6501	n.s.
	t-Test (abhängige Stichproben)	p = 0,4518	n.s.
AI: MA	F-Test	p = 0,0539	n.s.
	t-Test (abhängige Stichproben)	p = 0,1609	n.s.
LO: Kontr	F-Test	p = 0,9940	n.s.
	t-Test (abhängige Stichproben)	p = 0,0376	*
LO: MA	F-Test	p = 0,9660	n.s.
	t-Test (abhängige Stichproben)	p = 0,2834	n.s.
Tests, caudal: Kontrolle gegen MA			
Gehege AI	F-Test	p = 0,6519	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,0827	n.s.
Käfig AI	F-Test	p = 0,2537	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,4518	n.s.
Gehege LO	F-Test	p = 0,1414	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,0036	**
Käfig LO	F-Test	p = 0,7213	n.s.
	t-Test (unabhängige Stichproben)	p = 0,8718	n.s.

Tabelle zur Abb. 3.11: Die serotoninerge Innervation der Subareale des rechten orbitalen präfrontalen Kortex: Meßwerte und statistische Tests.

5.2 Nucleus accumbens

Meßwerte, Kontr: Core			
Schnitt 1	Mittelwert ± Standardabweichung	2,88 ± 2,16	n = 5
Schnitt 2	Mittelwert ± Standardabweichung	3,94 ± 2,35	n = 5
Schnitt 3	Mittelwert ± Standardabweichung	3,20 ± 1,49	n = 5
Schnitt 4	Mittelwert ± Standardabweichung	2,37 ± 1,69	n = 5
Schnitt 5	Mittelwert ± Standardabweichung	2,34 ± 1,42	n = 5
Schnitt 6	Mittelwert ± Standardabweichung	2,69 ± 2,01	n = 5
Meßwerte, Kontr: Shell			
Schnitt 1	Mittelwert ± Standardabweichung	4,77 ± 3,05	n = 5
Schnitt 2	Mittelwert ± Standardabweichung	5,30 ± 3,38	n = 5
Schnitt 3	Mittelwert ± Standardabweichung	5,10 ± 2,06	n = 5
Schnitt 4	Mittelwert ± Standardabweichung	5,54 ± 2,08	n = 5
Schnitt 5	Mittelwert ± Standardabweichung	6,14 ± 2,75	n = 5
Schnitt 6	Mittelwert ± Standardabweichung	6,21 ± 1,64	n = 5
Meßwerte, MA: Core			
Schnitt 1	Mittelwert ± Standardabweichung	1,52 ± 0,90	n = 5
Schnitt 2	Mittelwert ± Standardabweichung	1,38 ± 0,94	n = 5
Schnitt 3	Mittelwert ± Standardabweichung	1,41 ± 1,13	n = 5
Schnitt 4	Mittelwert ± Standardabweichung	1,08 ± 1,15	n = 5
Schnitt 5	Mittelwert ± Standardabweichung	1,25 ± 0,90	n = 5
Schnitt 6	Mittelwert ± Standardabweichung	1,35 ± 1,07	n = 5
Meßwerte, MA: Shell			
Schnitt 1	Mittelwert ± Standardabweichung	2,50 ± 0,99	n = 5
Schnitt 2	Mittelwert ± Standardabweichung	2,20 ± 0,64	n = 5
Schnitt 3	Mittelwert ± Standardabweichung	2,46 ± 1,37	n = 5
Schnitt 4	Mittelwert ± Standardabweichung	2,39 ± 1,48	n = 5
Schnitt 5	Mittelwert ± Standardabweichung	2,87 ± 1,36	n = 5
Schnitt 6	Mittelwert ± Standardabweichung	2,82 ± 1,21	n = 5
Tests: Kontr gegen MA			
Core	ANOVA		
	Stichproben	p = 0,0137	*
	Gradienten	p = 0,0069	**
	Wechselwirkung	p = 0,0807	n.s.
Shell	ANOVA		
	Stichproben	p = 0,0008	***
	Gradienten	p = 0,0028	**
	Wechselwirkung	p = 0,1950	n.s.

Tabelle zur Abb. 3.12: Vergleich der dopaminergen Innervation des rechten Nucleus accumbens bei Gehegetieren: Meßwerte und statistische Tests.

Meßwerte, Gehege-Kontr: Core			
Schnitt 1	Mittelwert ± Standardabweichung	1,81 ± 0,44	n = 10
Schnitt 2	Mittelwert ± Standardabweichung	1,84 ± 0,58	n = 10
Schnitt 3	Mittelwert ± Standardabweichung	2,00 ± 0,88	n = 10
Schnitt 4	Mittelwert ± Standardabweichung	2,10 ± 1,00	n = 10
Schnitt 5	Mittelwert ± Standardabweichung	2,10 ± 0,78	n = 10
Schnitt 6	Mittelwert ± Standardabweichung	2,32 ± 0,90	n = 10
Meßwerte, Gehege-Kontr: Shell			
Schnitt 1	Mittelwert ± Standardabweichung	2,02 ± 0,56	n = 10
Schnitt 2	Mittelwert ± Standardabweichung	2,07 ± 0,54	n = 10
Schnitt 3	Mittelwert ± Standardabweichung	2,30 ± 0,70	n = 10
Schnitt 4	Mittelwert ± Standardabweichung	2,34 ± 0,84	n = 10
Schnitt 5	Mittelwert ± Standardabweichung	2,18 ± 0,63	n = 10
Schnitt 6	Mittelwert ± Standardabweichung	2,42 ± 0,94	n = 10
Meßwerte, Gehege-MA: Core			
Schnitt 1	Mittelwert ± Standardabweichung	2,21 ± 1,33	n = 12
Schnitt 2	Mittelwert ± Standardabweichung	2,41 ± 1,19	n = 12
Schnitt 3	Mittelwert ± Standardabweichung	2,31 ± 1,24	n = 12
Schnitt 4	Mittelwert ± Standardabweichung	2,55 ± 1,16	n = 12
Schnitt 5	Mittelwert ± Standardabweichung	2,90 ± 1,30	n = 12
Schnitt 6	Mittelwert ± Standardabweichung	2,95 ± 1,25	n = 12
Meßwerte, Gehege-MA: Shell			
Schnitt 1	Mittelwert ± Standardabweichung	2,78 ± 0,96	n = 12
Schnitt 2	Mittelwert ± Standardabweichung	2,91 ± 0,98	n = 12
Schnitt 3	Mittelwert ± Standardabweichung	3,03 ± 1,10	n = 12
Schnitt 4	Mittelwert ± Standardabweichung	3,39 ± 1,14	n = 12
Schnitt 5	Mittelwert ± Standardabweichung	3,29 ± 1,23	n = 12
Schnitt 6	Mittelwert ± Standardabweichung	3,35 ± 1,33	n = 12
Meßwerte, Käfig-Kontr: Core			
Schnitt 1	Mittelwert ± Standardabweichung	3,58 ± 1,68	n = 10
Schnitt 2	Mittelwert ± Standardabweichung	3,37 ± 1,25	n = 10
Schnitt 3	Mittelwert ± Standardabweichung	3,67 ± 1,65	n = 10
Schnitt 4	Mittelwert ± Standardabweichung	2,80 ± 0,81	n = 10
Schnitt 5	Mittelwert ± Standardabweichung	3,30 ± 1,07	n = 10
Schnitt 6	Mittelwert ± Standardabweichung	4,38 ± 1,50	n = 10
Meßwerte, Käfig-Kontr: Shell			
Schnitt 1	Mittelwert ± Standardabweichung	3,59 ± 1,29	n = 10
Schnitt 2	Mittelwert ± Standardabweichung	3,80 ± 1,10	n = 10
Schnitt 3	Mittelwert ± Standardabweichung	3,74 ± 1,40	n = 10
Schnitt 4	Mittelwert ± Standardabweichung	3,30 ± 1,19	n = 10
Schnitt 5	Mittelwert ± Standardabweichung	3,69 ± 1,50	n = 10
Schnitt 6	Mittelwert ± Standardabweichung	4,46 ± 1,60	n = 10
Meßwerte, Käfig-MA: Core			
Schnitt 1	Mittelwert ± Standardabweichung	2,94 ± 1,16	n = 9
Schnitt 2	Mittelwert ± Standardabweichung	2,80 ± 1,54	n = 9
Schnitt 3	Mittelwert ± Standardabweichung	3,01 ± 1,36	n = 9
Schnitt 4	Mittelwert ± Standardabweichung	3,27 ± 1,69	n = 9
Schnitt 5	Mittelwert ± Standardabweichung	3,46 ± 1,65	n = 9
Schnitt 6	Mittelwert ± Standardabweichung	3,65 ± 1,46	n = 9
Meßwerte, Käfig-MA: Shell			
Schnitt 1	Mittelwert ± Standardabweichung	3,03 ± 0,89	n = 9
Schnitt 2	Mittelwert ± Standardabweichung	3,03 ± 1,24	n = 9
Schnitt 3	Mittelwert ± Standardabweichung	3,09 ± 1,04	n = 9
Schnitt 4	Mittelwert ± Standardabweichung	2,98 ± 1,20	n = 9
Schnitt 5	Mittelwert ± Standardabweichung	3,33 ± 1,08	n = 9
Schnitt 6	Mittelwert ± Standardabweichung	3,31 ± 1,64	n = 9

Tabelle 1 zur Abb. 3.13: Vergleich der serotonergen Innervation des rechten Nucleus accumbens: Mittelwerte und Standardabweichungen.

Tests, Core: Gehege- gegen Käfigaufzucht			
Kontr	ANOVA		
	Stichproben	p = 0,0021	**
	Gradienten	p = 0,0019	**
	Wechselwirkung	p = 0,0386	*
MA	ANOVA		
	Stichproben	p = 0,2442	n.s.
	Gradienten	p = 0,0018	**
	Wechselwirkung	p = 0,9618	n.s.
Tests, Core: Kontr gegen MA			
Gehege	ANOVA		
	Stichproben	p = 0,1977	n.s.
	Gradienten	p = 0,0057	**
	Wechselwirkung	p = 0,7919	n.s.
Käfig	ANOVA		
	Stichproben	p = 0,5702	n.s.
	Gradienten	p = 0,0031	**
	Wechselwirkung	p = 0,0814	n.s.
Tests, Shell: Gehege- gegen Käfigaufzucht			
Kontr	ANOVA		
	Stichproben	p = 0,0020	**
	Gradienten	p = 0,0067	**
	Wechselwirkung	p = 0,0814	n.s.
MA	ANOVA		
	Stichproben	p = 0,9928	n.s.
	Gradienten	p = 0,1269	n.s.
	Wechselwirkung	p = 0,6185	n.s.
Tests, Shell: Kontr gegen MA			
Gehege	ANOVA		
	Stichproben	p = 0,0219	*
	Gradienten	p = 0,0089	**
	Wechselwirkung	p = 0,7779	n.s.
Käfig	ANOVA		
	Stichproben	p = 0,2409	n.s.
	Gradienten	p = 0,0251	*
	Wechselwirkung	p = 0,4119	n.s.

Tabelle 2 zur Abb. 3.13: Vergleich der serotoninerger Innervation des rechten Nucleus accumbens: Statistische Tests.

6. Eigene Arbeiten

Publikationen

Neddens J, Brandenburg K, Teuchert-Noodt G, Dawirs RR (2001): Differential environment alters ontogeny of dopamine innervation of the orbital prefrontal cortex in gerbils. *J Neurosci Res* 63: 209-213.

Teile der vorliegenden Dissertation wurden zuvor in Absprache mit Prof. Teuchert-Noodt im unten stehenden Artikel veröffentlicht. Dies sind insbesondere Teile der Einleitung zum Nucleus accumbens (Abschnitt 1.4), die Ergebnisse zur Dopamin-Innervation des N. accumbens (Abschnitt 3.2) sowie Teile der Diskussion zum N. accumbens (Abschnitt 4.3).

Neddens J, Lesting J, Dawirs RR, Teuchert-Noodt G (2002): An early methamphetamine challenge suppresses the maturation of dopamine fibres in the nucleus accumbens of gerbils: on the significance of rearing conditions. *J Neural Transm* 109: 141-155.

Posterbeitrag

Neddens J, Lesting J, Dawirs RR, Teuchert-Noodt G (2001): A single early methamphetamine application suppresses the maturation of dopamine fibres in the nucleus accumbens of gerbils. *Proc 28th Göttingen Neurobiol Conf, Vol 2: 856.*

Projekte

Kleinprojekt, Universität Bielefeld, FIF 94, OZ 20.940.76 (1999/2000): 5-HT-Reifung in der Maus. Antragsteller und federführender Projektleiter.

Kleinprojekt, Universität Bielefeld, FIF 94, OZ 20.940.26 (2001/2002): 5-HT im limbischen System der Maus. Antragsteller und federführender Projektleiter.

Betreuungsleistungen

Busche A (2000): Zum Einfluss der einmaligen Methamphetamingabe auf die Dopaminreifung im limbopräfrontalen System von Gerbils (*Meriones unguiculatus*) unter verschiedenen Aufzuchtbedingungen. Eine qualitative Bewertung. Diplomarbeit, Universität Bielefeld.

Dinter C (2002): Zum Einfluß extrinsischer Faktoren auf die Serotonin-Reifung im hippocampalen Dentatus. Eine immunhistochemische quantitative Studie an *Meriones unguiculatus*. Schriftliche Hausarbeit für das Lehramt, Sekundarstufe I und II, Universität Bielefeld. (in Vorbereitung).

Falke M-T (1999): Die Bedeutung von Serotonin für höhere Hirnfunktionen: Eine immunhistochemische Studie am Modell der Maus. Schriftliche Hausarbeit für das Lehramt, Sekundarstufe I und II, Universität Bielefeld.

Griese B (2000): Zum Einfluss von Haltungsbedingungen und von Methamphetamin auf die serotoninerge Innervation im präfrontalen Cortex der Wüstenrennmaus (*Meriones*

unguiculatus). Eine qualitative immunhistochemische Bewertung. Diplomarbeit, Universität Bielefeld.

Maschmann I (2002): Zur Reifung der Faserdichte von Serotonin (5-HT) im Stirnhirn unter seminaturallicher versus restriktiver Aufzucht: Eine quantitative immunhistochemische Bestimmung an Rennmäusen (*Meriones unguiculatus*). Schriftliche Hausarbeit für das Lehramt, Sekundarstufe I, Universität Bielefeld. (in Vorbereitung).

7. Literatur

- Abercrombie ED, Keefe KA, DiFrischia DS, Zigmond MJ (1989): Differential effect of stress on in vivo dopamine release in striatum, nucleus accumbens, and medial frontal cortex. *J Neurochem* 52: 1655-1658.
- Abi-Saab WA, Bubser M, Roth RH, Deutch AY (1999): 5-HT₂ receptor regulation of extracellular GABA levels in the prefrontal cortex. *Neuropsychopharmacol* 20: 92-96.
- Agnati LF, Zoli M, Strömberg I, Fuxe K (1995): Intercellular communication in the brain: wiring versus volume transmission. *Neurosci* 69: 711-726.
- Alheid GF, Heimer L (1996): Theories of basal forebrain organization and the "emotional motor system". *Progr Brain Res* 107: 461-484.
- Anisman H, Sklar LS (1979): Catecholamine depletion in mice upon reexposure to stress: Mediation of the escape deficits produced by inescapable shock. *J Comp Phys Psych* 93: 610-625.
- Arnsten AFT (1998): Catecholamine modulation of prefrontal cortical cognitive function. *Trends Cogn Sci* 2: 436-447.
- Arnsten AFT, Goldman-Rakic PS (1984): Selective prefrontal cortical projections to the region of the locus coeruleus and raphe nuclei in the rhesus monkey. *Brain Res* 306: 9-18.
- Audet MA, Descarries L, Doucet G (1989): Quantified regional and laminar distribution of the serotonin innervation in the anterior half of adult rat cerebral cortex. *J Chem Neuroanat* 2: 29-44.
- Axt KJ, Molliver ME (1991): Immunocytochemical evidence for methamphetamine-induced serotonergic axon loss in the rat brain. *Synapse* 9: 302-313.
- Axt KJ, Molliver ME, Qian Y, Blakely RD (1995): Subtypes of 5-HT axons differ in their expression of serotonin transporter. *Soc Neurosci Abstr* 21: 865.
- Azmitia EC (1999): Serotonin neurons, neuroplasticity, and homeostasis of neural tissue. *Neuropsychopharmacol* 21: 33S-45S.
- Azmitia EC, Segal M (1978): An autoradiographic analysis of the differential ascending projections of the dorsal and median raphe nuclei in the rat. *J Comp Neurol* 179: 641-667.
- Azmitia EC, Buchan AM, Williams JH (1978): Structural and functional restoration by collateral sprouting of hippocampal 5-HT axons. *Nature* 274: 374-376.
- Bachevalier J (1990): Ontogenetic development of habit and memory formation in primates. *Ann New York Acad Sci* 608: 457-484.
- Bagorda F, Lehmann K, Schroeder U, Teuchert-Noodt G (2001): The maturation of overlapping serotonergic and prefrontofugal afferents is affected by pharmacological and environmental interventions in gerbils. *Proc 28th Göttingen Neurobiol Conference, Vol II*: 855.
- Bardo MT, Valone JM, Robinet PM, Shaw WB, Dwoskin LP (1999): Environmental enrichment enhances the stimulant effect of intravenous amphetamine: search for a cellular mechanism in the nucleus accumbens. *Psychobiol* 27: 292-299.
- Barnes JM, Barnes NM, Champaneria S, Costall B, Naylor RJ (1990): Characterization and autoradiographic localisation of 5-HT₃ receptor recognition sites identified with [³H]-(-)-zacopride in the forebrain of the rat. *Neuropharmacol* 29:1037-1045,.
- Beasley CL, Reynolds GP (1997): Parvalbumin-immunoreactive neurons are reduced in the prefrontal cortex of schizophrenics. *Schiz Res* 24: 349-355.
- Benes FM, Vincent SL, Alsterberg G, Bird ED, SanGiovanni JP (1992): Increased GABA_A receptor binding in superficial layers of cingulate cortex in schizophrenics. *J Neurosci* 12: 924-929.

- Benes FM, Taylor JB, Cunningham MC (2000): Convergence and plasticity of monoaminergic systems in the medial prefrontal cortex during the postnatal period: implications for the development of psychopathology. *Cereb Cortex* 10: 1014-1027.
- Bengel D, Jöhren O, Andrews AM, Heils A, Mößner R, Sanvitto GI, Saavedra JM, Lesch K-L, Murphy DL (1997): Cellular localization and expression of the serotonin transporter in mouse brain. *Brain Res* 778: 338-345.
- Berendse HW, Voorn P, Te Kortschot A, Groenewegen HJ (1988): Nuclear origin of thalamic afferents of the ventral striatum determines their relation to patch/matrix configurations in enkephalin-immunoreactivity in the rat. *J Chem Neuroanat* 1: 3-10.
- Berendse HW, Galis-de Graaf Y, Groenewegen HJ (1992): Topographical organization and relationship with ventral striatal compartments of prefrontal corticostriatal projections in the rat. *J Comp Neurol* 316: 314-347.
- Blaesing B, Nossoll M, Teuchert-Noodt G, Dawirs RR (2001): Postnatal maturation of prefrontal pyramidal neurones is sensitive to a single early dose of methamphetamine in gerbils (*Meriones unguiculatus*). *J Neural Transm* 108: 101-113.
- Blanc G, Herve D, Simon H, Lisoprawski A, Glowinski J, Tassin JP (1980): Response to stress of mesocortico-frontal dopaminergic neurones in rats after long-term isolation. *Nature* 284: 265-267.
- Broderick PA, Phelix CF (1997): I. Serotonin (5-HT) within dopamine reward circuits signals open-field behavior. II. Basis for 5-HT-DA interaction in cocaine dysfunctional behavior. *Neurosci Biobehav Rev* 21(3): 227-260.
- Broening HW, Pu C, Vorhees CV (1997) Methamphetamine selectively damages dopaminergic innervation to the nucleus accumbens core while sparing the shell. *Synapse* 27: 153-160.
- Brog JS, Salyapongse A, Deutch AY, Zahm DS (1993): The patterns of afferent innervation of the core and shell in the "accumbens" part of the rat ventral striatum: immunohistochemical detection of retrogradely transported fluoro-gold. *J Comp Neurol* 338: 255-278.
- Brown P, Molliver ME (2000): Dual serotonin (5-HT) projections to the nucleus accumbens core and shell: relation of the 5-HT transporter to amphetamine-induced neurotoxicity. *J Neurosci* 20(5):1952-1963.
- Bubser M, Schmidt WJ (1990): 6-Hydroxydopamine lesion of the rat prefrontal cortex increases locomotor activity, impairs acquisition of delayed alternation tasks, but does not affect uninterrupted tasks in the radial maze. *Behav Brain Res* 37: 157-168.
- Buchanan SL, Thompson RH, Maxwell BL, Powell DA (1994): Efferent connections of the medial prefrontal cortex in the rabbit. *Exp Brain Res* 100: 469-483.
- Burns LH, Annett L, Kelley AE, Everitt BJ, Robbins TW (1996): Effects of lesions to amygdala, ventral subiculum, medial prefrontal cortex, and nucleus accumbens to the reaction to novelty: implication for limbic-striatal interactions. *Behav Neurosci* 110(1): 60-73.
- Busche A (2000): Zum Einfluss der einmaligen Methamphetamingabe auf die Dopaminreifung im limbo-präfrontalen System von Gerbils (*Meriones unguiculatus*) unter verschiedenen Aufzuchtbedingungen. Eine qualitative Bewertung. Diplomarbeit, Universität Bielefeld.
- Cabib S, Puglisi-Allegra S (1996): Stress, depression and the mesolimbic dopamine system. *Psychopharmacol* 128: 331-342.
- Cabib S, D'Amato FR, Neveu PJ, Deleplanque B, Le Moal M, Puglisi-Allegra S (1995): Paw preference and brain dopamine asymmetries. *Neurosci* 64: 427-432.
- Cannon WB (1929): Organization of physiological homeostasis. *Physiol Rev* 9: 399-431.
- Carboni E, Imperato A, Perrezani L, Di Chiara G (1989) Amphetamine, cocaine, phencyclidine and nomifensine increase extracellular dopamine concentration preferentially in the nucleus accumbens of freely moving rats. *Neurosci* 28: 653-661.

- Carlson JN, Visker KE, Nielsen DM, Keller RW, Glick SD (1996): Chronic antidepressant drug treatment reduces turning behavior and increases dopamine levels in the medial prefrontal cortex. *Brain Res* 707: 122-126.
- Carr DB, Sesack SR (1999): Projections from the rat prefrontal cortex to the ventral tegmental area. Association with GABA- or TH-immunoreactive mesocortical neurons. Abstract 21st International Summerschool of Brain Research: 96.
- Carr DB, Sesack SR (2000): Projections from the rat prefrontal cortex to the ventral tegmental area: target specificity in the synaptic associations with mesoaccumbens and mesocortical neurons. *J Neurosci* 20(10): 3864-3873.
- Carter CJ, Pycock CJ (1980): Behavioural and biochemical effects of dopamine and noradrenaline depletion within the medial prefrontal cortex of the rat. *Brain Res* 192: 163-176.
- Cass WA, Manning MW (1999): Recovery of presynaptic dopaminergic functioning in rats treated with neurotoxic doses of methamphetamine. *J Neurosci* 19(17): 7653-7660.
- Chagnac-Amitai Y, Connors BW (1989): Horizontal spread of synchronized activity in neocortex and its control by GABA-mediated inhibition. *J Neurophysiol* 61: 747-758.
- Chen J, van Praag HM, Gardner EL (1991): Activation of 5-HT₃ receptor by 1-phenylbiguanide increases dopamine release in the rat nucleus accumbens. *Brain Res* 543: 354-357.
- Chen J, Paredes W, Van Praag HM, Lowinson JH, Gardner EL (1992): Presynaptic dopamine release is enhanced by 5-HT₃ receptor activation in medial prefrontal cortex of freely moving rats. *Synapse* 10: 264-266.
- Condé F, Maire-Lepoivre E, Audinat E, Crépel F (1995): Afferent connections of the medial frontal cortex of the rat. II. Cortical and subcortical afferents. *J Comp Neurol* 352: 567-593.
- Crespi F, Jouvet M (1984): Has the raphe dorsalis nucleus an asymmetric function? *Exp Brain Res* 56: 403-409.
- Crespi F, Wright IK, Möbius C (1992): Isolation rearing of rats alters release of 5-hydroxytryptamine and dopamine in the frontal cortex: An *in vivo* electrochemical study. *Exp Brain Res* 88: 495-501.
- Dawirs RR, Teuchert-Noodt G, Czaniera R (1993): Maturation of the dopamine innervation during prefrontal postnatal development of the prefrontal cortex of gerbils (*Meriones unguiculatus*): A quantitative immunocytochemical study. *J Hirnforsch* 34: 281-290.
- Dawirs RR, Teuchert-Noodt G, Czaniera R (1994): The postnatal maturation of dopamine innervation in the prefrontal cortex of gerbils (*Meriones unguiculatus*) is sensitive to an early single dose of methamphetamine. A quantitative immunocytochemical study. *J Brain Res* 35: 195-204.
- Dawirs RR, Teuchert-Noodt G, Czaniera R (1996): Ontogeny of PFC-related behaviours is sensitive to a single non-invasive dose of methamphetamine in neonatal gerbils (*Meriones unguiculatus*). *J Neural Transm* 103: 1235-1245.
- Dawirs RR, Teuchert-Noodt G, Nossoll M (1997): Pharmacologically induced neural plasticity in the prefrontal cortex of adult gerbils (*Meriones unguiculatus*). *Eur J Pharmacol* 327: 117-123.
- De Brabander JM, De Bruin JPC, Van Eden CG (1991): Comparison of the effects of neonatal and adult medial prefrontal cortex lesions on food hoarding and spatial delayed alternation. *Behav Brain Res* 42: 67-75.
- De Bruin JPC, van Oyen HGM, van de Poll N (1983): Behavioural changes following lesions of the orbital prefrontal cortex in male rats. *Behav Brain Res* 10: 209-232.
- De Deurwaerdère P, Spampinato U (1999): Role of serotonin_{2A} and serotonin_{2B/2C} receptor subtypes in the control of accumbal and striatal dopamine release elicited *in vivo* by dorsal raphe nucleus electrical stimulation. *J Neurochem* 73: 1033-1042.

- Deniau JM, Menetrey A, Thierry AM (1994): Indirect nucleus accumbens input to the prefrontal cortex via the substantia nigra pars reticulata: a combined anatomical and electrophysiological study in the rat. *Neurosci* 61: 533-545.
- Descarries L, Lemay B, Doucet G, Berger B (1987): Regional and laminar density of the dopamine innervation in adult rat cerebral cortex. *Neurosci* 21: 807-824.
- Deutch AY, Cameron DS (1992) Pharmacological characterization of dopamine systems in the nucleus accumbens core and shell. *Neurosci* 46: 49-56.
- Deutch AY, Roth RH (1990): The determinants of stress-induced activation of the prefrontal cortical dopamine system. *Progr Brain Res* 85: 367-403.
- De Vito MJ, Wagner GC (1989): Methamphetamine-induced neuronal damage: a possible role for free radicals. *Neuropharmacol* 28: 1145-1150.
- Dinter C (2002): Einfluß extrinsischer Faktoren auf die Serotonin-Reifung im hippocampalen Dentatus. Eine immunhistochemische quantitative Studie an *Meriones unguiculatus*. Schriftliche Hausarbeit für das Lehramt, Sekundarstufe I und II, Universität Bielefeld. (in Vorbereitung).
- Divac I, Mogensen J, Petrovic-Minic B, Zilles K, Regidor J (1993): Cortical projections of the thalamic mediodorsal nucleus in the rat. Definition of the prefrontal cortex. *Acta Neurobiol Exp* 53: 425-429.
- Fallon JH, Loughlin SE (1987): Monoamine innervation of cerebral cortex and a theory of the roles of monoamines in cerebral cortex and basal ganglia. *Cereb Cortex* 6: 41-127.
- Ferron A, Thierry AM, Le Douarin C, Glowinski J (1984): Inhibitory influence of the mesocortical dopaminergic system on spontaneous activity or excitatory response induced from the thalamic mediodorsal nucleus in the rat medial prefrontal cortex. *Brain Res* 302: 257-265.
- Finch DM (1996): Neurophysiology of converging synaptic inputs from the rat prefrontal cortex, amygdala, midline thalamus, and hippocampal formation onto single neurons of the caudate/putamen and nucleus accumbens. *Hippocampus* 6: 495-512.
- Fischer C, Hatzidimitrou G, Wlos J, Katz J, Ricaurte G (1995): Reorganization of ascending 5-HT axon projections in animals previously exposed to the recreational drug (\pm)3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA, „Ecstasy“). *J Neurosci* 15: 5476-5485.
- Frankfurt M, Azmitia E (1984): Regeneration of serotonergic fibers in the rat hypothalamus following unilateral 5,7-dihydroxytryptamine injection. *Brain Res* 298: 273-282.
- Fulford AJ, Marsden CA (1997): Effect of isolation-rearing on noradrenaline release in rat hypothalamus and hippocampus in vitro. *Brain Res* 748: 93-99.
- Fulford AJ, Marsden CA (1998a): Conditioned release of 5-hydroxytryptamine in vivo in the nucleus accumbens following isolation-rearing in the rat. *Neurosci* 83: 481-487.
- Fulford AJ, Marsden CA (1998b): Effect of isolation-rearing on conditioned dopamine release in vivo in the nucleus accumbens of the rat. *J Neurochem* 70: 384-390.
- Fuster JM (1997): The prefrontal cortex: anatomy, physiology, and neuro-psychology of the frontal lobe. 3rd ed., Lippincott-Raven, New York.
- Geffard M, Buijs RM, Seguela P, Pool CW, le Moal M (1984): First demonstration of highly specific and sensitive antibodies against dopamine. *Brain Res* 294: 161-165.
- Gellman RL, Aghajanian GA (1993): Pyramidal cells in piriform cortex receive a convergence of inputs from monoamine activated GABAergic interneurons. *Brain Res* 600: 63-73.
- Geyer MA, Wilkinson LS, Humby T, Robbins TW (1994): Isolation rearing of rats produces a deficit in prepulse inhibition of acoustic startle similar to that in schizophrenia. *Biol Psych* 34: 361-372.
- Gobert A (1998): Simultaneous quantification of serotonin, dopamine and noradrenaline levels in single frontal cortex dialysates of freely moving rats reveals a complex pattern of reciprocal auto- and heteroreceptor-mediated control of release. *Neurosci* 84: 413-429.

- Grafman J, Vance SC, Weingartner H, Salazar AM, Amin D (1986): The effects of lateralized frontal regions on mood regulation. *Brain* 109: 1127-1148.
- Greenough WT, Chang FL (1988): Plasticity of synapse structure and pattern in the cerebral cortex. In: Peters A, Jones EG, editors. *Cerebral cortex*. Plenum Press, New York. Vol. 7: 391-439.
- Griese B (2000): Zum Einfluss von Haltungsbedingungen und von Methamphetamin auf die serotoninerge Innervation im präfrontalen Cortex der Wüstenrennmaus (*Meriones unguiculatus*). Eine qualitative immunhistochemische Bewertung. Diplomarbeit, Universität Bielefeld.
- Groenewegen HJ (1988): Organization of the afferent connections of the mediodorsal thalamic nucleus in the rat, related to the mediodorsal-prefrontal topography. *Neurosci* 24: 379-431.
- Groenewegen HJ, Uylings HBM (2000): The prefrontal cortex and the integration of sensory, limbic and autonomic information. *Progr Brain Res* 126: 3-28.
- Groenewegen HJ, Berendse HW, Haber SN (1993): Organization of the output of the ventropallidal system in the rat. Ventral pallidal efferents. *Neurosci* 57: 113-142.
- Groenewegen HJ, Berendse HW, Wouterlood FG (1994): Organization of the projections from the ventral striatopallidal system to ventral mesencephalic dopaminergic neurons. In: Percheron G, McKenzie JS, editors. *The basal ganglia IV*. Plenum Press, New York: 81-93.
- Groenewegen HJ, Wright CL, Beijer AVJ (1996): The nucleus accumbens: gateway for limbic structures to reach the motor system? *Progr Brain Res* 107: 485-511.
- Groenewegen HJ, Wright CL, Uylings HBM (1997): The anatomical relationships of the prefrontal cortex with limbic structures and the basal ganglia. *J Psychopharmacol* 11: 99-106.
- Hajós M, Richards CD, Székely AD, Sharp T (1998): An electrophysiological and neuroanatomical study of the medial prefrontal cortical projection to the midbrain raphe nuclei in the rat. *Neurosci* 87: 95-108.
- Hall FS, Humby T, Wilkinson LS, Robbins TW (1997a): The effects of isolation-rearing of rats on behavioural responses to food and environmental novelty. *Physiol Behav* 62: 281-290.
- Hall FS, Humby T, Wilkinson LS, Robbins TW (1997b): The effects of isolation-rearing on preference by rats for a novel environment. *Physiol Behav* 62: 299-303.
- Hall FS, Wilkinson LS, Humby T, Inglis W, Kendall DA, Marsden CA, Robbins TW (1998): Isolation rearing in rats: pre- and postsynaptic changes in striatal dopaminergic systems. *Pharmacol Biochem Behav* 59: 859-872.
- Heimer L, Zahm DS, Churchill L, Kalivas PW, Wohltmann C (1991) Specificity in the projection patterns of accumbal core and shell. *Neurosci* 41: 89-125.
- Herkenham M, Moon Edley S, Stuart J (1984): Cell clusters in the nucleus accumbens of the rat and the mosaic relationship of opiate receptors, acetylcholinesterase and subcortical afferent terminations. *Neurosci* 11: 561-593.
- Hoyer D, Clarke DE, Fozard JR, Hartig PR, Martin GR, Mylecharane EJ, Saxena PR, Humphrey PPA (1994): VII. International union of pharmacology classification of receptors for 5-Hydroxytryptamine (Serotonin). *Pharmacol Rev* 46: 157-203.
- Ikemoto S, Panksepp J (1999) The role of nucleus accumbens dopamine in motivated behavior: a unifying interpretation with special reference to reward-seeking. *Brain Res Rev* 31:6-41.
- Itoh S, Hsiao S, Katsuura G (1985): Dopaminergic behavior in frontal decorticated rats. *Physiol & Behav* 35: 109-112.
- Jacobson M (1991): *Developmental neurobiology*. Plenum Press, New York, London.
- Jakeman LB, To ZP, Eglen RM, Wong EHF, Bonhaus DW (1994): Quantitative autoradiography of 5-HT₄ receptors in brains of three species using two structurally distinct radioligands, (3H)GR113808 and (3H)BIMU-1. *Neuropharmacol* 33: 1027-1038.

- Jansson A, Goldstein M, Tinner B, Zoli M, Meador-Woodruff JH, Lew JY, Levey AI, Watson S, Agnati LF, Fuxe K (1999): On the distribution patterns of D₁, D₂, tyrosine hydroxylase and dopamine transporter immunoreactivities in the ventral striatum of the rat. *Neurosci* 89: 473-489.
- Jay TM, Glowinski J, Thierry AM (1995): Inhibition of hippocampo-prefrontal cortex excitatory responses by the mesocortical DA system. *NeuroReport* 6: 1845-1848.
- Jones GH, Marsden CA, Robbins TW (1991): Behavioural rigidity and rule-learning deficits following social isolation in rats: neurochemical correlates. *Behav Brain Res* 43: 35-50.
- Jones GH, Hernandez TD, Kendall DA, Marsden CA, Robbins TW (1992): Dopaminergic and serotonergic function following isolation rearing in rats: study of behavioural response and postmortem and *in vivo* neurochemistry. *Pharmacol Biochem Behav* 43: 17-35.
- Jones SR, O'Dell SJ, Marshall JF, Wightman RM (1996) Functional and anatomical evidence for different dopamine dynamics in the core and shell of the nucleus accumbens in slices of rat brain. *Synapse* 23: 224-231.
- Jongen-Rêlo AL, Groenewegen HJ, Voorn P (1993): Evidence for a multi-compartmental histochemical organization of the ventral striatum in the rat. *J Comp Neurol* 337: 267-276.
- Jongen-Rêlo AL, Voorn P, Groenewegen HJ (1994): Immunohistochemical characterization of the shell and core territories in the nucleus accumbens in the rat. *Eur J Neurosci* 6: 1255-1264.
- Kalsbeek A, Matthijssen MAH, Uylings HBM (1989): Morphometric analysis of prefrontal cortical development following neonatal lesioning of the dopaminergic mesocortical projection. *Exp Brain Res* 78: 279-289.
- Kesner RP (1990): Memory for frequency in rats: role of the hippocampus and medial prefrontal cortex in the rat. *Behav Neural Biol* 53: 402-410.
- Kesner RP (1993): Paired associative learning in the rat: role of hippocampus, medial prefrontal cortex, and parietal cortex. *Psychobiol* 21: 183-192.
- Kesner RP, Hunt ME, Williams JM, Long JM (1996): Prefrontal cortex and working memory for spatial response, spatial location, and visual object information in the rat. *Cerebr Cortex* 6: 311-318.
- Khawaja X (1995): Quantitative autoradiographic characterisation of the binding of [3H]WAY-100635, a selective 5-HT_{1A} receptor antagonist. *Brain Res* 673: 217-225.
- King D, Zigmond MJ, Finlay JM (1997) Effects of dopamine depletion in the medial prefrontal cortex on the stress-induced increase in extracellular dopamine in the nucleus accumbens core and shell. *Neurosci* 77: 141-153.
- Kolb B, Whishaw IQ (1990): *Fundamentals of human neuropsychology*. 3rd ed., W. H. Freeman, New York.
- Köhler C, Steinbusch H (1982): Identification of serotonin and non-serotonin containing neurons of the midbrain raphe projecting to the entorhinal area and the hippocampal formation. A combined immunohistochemical and fluorescent retrograde tracing study in the brain. *Neurosci* 7: 951-975.
- Kosofsky BE, Molliver ME (1987): The serotonergic innervation of cerebral cortex: different classes of axon terminals arise from dorsal and median raphe nuclei. *Synapse* 1: 153-168.
- Krettek JE, Price JL (1977): The cortical projections of the mediodorsal nucleus and adjacent thalamic nuclei in the rat. *J Comp Neurol* 171: 157-192.
- Kropatsch, WG (2001): *Digital Image Analysis : Selected Techniques and Applications*. Springer, Berlin.
- Kuroda M, Price JL (1991): Synaptic organization of projections from basal forebrain structures to the mediodorsal thalamic nucleus of the rat. *J Comp Neurol* 303: 513-533.

- Kuroda M, Murakami K, Kishi K, Price JL, (1995): Thalamocortical synapses between axons from the mediodorsal thalamic nucleus and pyramidal cells in the prelimbic cortex of the rat. *J Comp Neurol* 356: 143-151.
- Lehmann K (2001): Zur Entstehung psychomotorischer Störungen aus der Wechselwirkung von präfrontalen Afferenzen, Dopamin und Serotonin im Caudatus-Putamen (Quantitative immunhistochemische Studien an *Meriones unguiculatus*). Dissertation, Fakultät für Biologie, Universität Bielefeld.
- Lehmann K, Teuchert-Noodt G, Dawirs RR (2002): Postnatal rearing conditions influence ontogeny of adult dopamine transporter (DAT) immunoreactivity of the striatum in gerbils. *J Neural Transm*, im Druck.
- Le Moal M, Stinus L, Galey D (1976): Radiofrequency lesion of the ventral mesencephalic tegmentum: Neurological and behavioral considerations. *Exp Neurol* 50: 104-109.
- LeMoine C, Gaspar P (1998): Subpopulations of cortical GABAergic interneurons differ by their expression of D1 and D2 dopamine receptor subtypes. *Mol Brain Res* 15: 231-236.
- Lesting J (2001): Zur Wirkung einer einmaligen Methamphetamingabe auf die nachgeburtliche Reifung der dopaminergen Innervation des Nucleus accumbens von Gerbils (*Meriones unguiculatus*) – eine quantitative immunhistochemische Analyse. Diplomarbeit, Fakultät für Biologie, Universität Bielefeld.
- Lewis DA, Sesack SR (1997): Dopamine systems in primate brain. In: Hökfelt, Handbook of Chemical Neuroanatomy 13: 263-375.
- Lindvall O, Björklund A (1984): General organization of cortical monoamine systems. In: Descarries, Reader und Jasper: Monoamine innervation of cerebral cortex. Alan R. Liss, New York: 9-40.
- Lipska BK, Jaskiw GE, Braun AR, Weinberger DR (1995): Prefrontal cortical and hippocampal modulation of haloperidol-induced catalepsy and apomorphine-induced stereotypic behaviors in the rat. *Biol Psychiat* 38: 255-262.
- Mamounas LA, Mullen CA, O'Hearn E, Molliver ME (1991): Dual serotonergic projections to forebrain in the rat: morphologically distinct 5-HT axon terminals exhibit differential vulnerability to neurotoxic amphetamine derivatives. *J Comp Neurol* 314: 558-586.
- Mamounas LA, Wilson MA, Axt KJ, Molliver ME (1992): Morphological aspects of serotonergic innervation. In: Bradley, Handley Cooper, Key, Barnes und Coote: Serotonin, CNC Receptors and Brain Function. Pergamon, Oxford: 97-118.
- Mantz J, Godbout R, Tassin J-P, Glowinski J, Thierry AM (1990): Inhibition of spontaneous and evoked unit activity in the rat medial prefrontal cortex by mesencephalic raphe nuclei. *Brain Res* 524: 22-30.
- Marek GJ, Aghajanian GK (1998): The electrophysiology of prefrontal serotonin systems: therapeutic implications for mood and psychosis. *Biol Psychiat* 44: 1118-1127.
- Markowitsch HJ, Pritzel M (1979): The prefrontal cortex: Projection area of the thalamic mediodorsal nucleus? *Physiol Psychol* 7: 1-6.
- McDonald AJ (1991): Organization of amygdaloid projections to the prefrontal cortex and associated striatum in the rat. *Neurosci* 44: 1-14.
- Mendlin A, Martín FJ, Jacobs BL (1999): Dopaminergic input is required for increases in serotonin output produced by behavioral activation: an *in vivo* microdialysis study in rat forebrain. *Neurosci* 93(3): 897-905.
- Mengod G, Nguyen H, Le H, Waeber C, Lubbert H, Palacios JM (1990): The distribution and cellular localization of the serotonin 1C receptor mRNA in the rodent brain examined by *in situ* hybridization histochemistry. Comparison with receptor binding distribution. *Neurosci* 35:577-591.

- Mirenowicz J, Schultz W (1996): Preferential activation of midbrain dopamine neurons by appetitive rather than aversive stimuli. *Nature* 379: 449-451.
- Mogensen J (1991): Influences of rearing conditions on functional properties of the rat's prefrontal system. *Behav Brain Res* 5: 375-386.
- Mogensen J, Holm S (1994): The prefrontal cortex and variants of sequential behavior: indications of functional differentiation between subdivisions of the rat's prefrontal cortex. *Behav Brain Res* 63: 89-100.
- Mogenson GJ, Jones DL, Yim CY (1980) From motivation to action: functional interface between the limbic system and the motor system. *Prog Neurobiol* 14: 69-97.
- Murphy BL, Arnsten AFT, Goldman-Rakic PS, Roth HR (1996): Increased dopamine turnover in the prefrontal cortex impairs spatial working memory performance in rats and monkeys. *Proc Natl Acad Sci* 93: 1325-1329.
- Neddens J, Brandenburg K, Teuchert-Noodt G, Dawirs RR (2001): Differential environment alters ontogeny of dopamine innervation of the orbital prefrontal cortex in gerbils. *J Neurosci Res* 63: 209-213.
- Neddens J, Lesting J, Dawirs RR, Teuchert-Noodt (2002): An early methamphetamine challenge suppresses the maturation of dopamine fibres in the nucleus accumbens of gerbils: on the significance of rearing conditions. *J Neural Transm* 109: 141-155.
- Nicola SM, Surmeier J, Malenka RC (2000): Dopaminergic modulation of neuronal excitability in the striatum and nucleus accumbens. *Annu Rev Neurosci* 23: 185-215.
- Nirenberg MJ, Chan J, Pohorille A, Vaughan RA, Uhl GR, Kuhar MJ, Pickel VM (1997) The dopamine transporter: comparative ultrastructure of dopaminergic axons in limbic and motor compartments of the nucleus accumbens. *J Neurosci* 17: 6899-6907.
- Nossoll M, Teuchert-Noodt G, Dawirs RR (1997): A single dose of methamphetamine in neonatal gerbils affects adult prefrontal γ -aminobutyric acid innervation. *Eur J Pharmacol* 340: R3-R5.
- O'Donnell P (1999): Ensemble coding in the nucleus accumbens. *Psychobiol* 27: 187-197.
- O'Donnell P, Grace AA (1995): Synaptic interactions among excitatory afferents to nucleus accumbens neurons: Hippocampal gating of prefrontal cortical input. *J Neurosci* 15: 3622-3639.
- O'Hearn E, Molliver ME (1984): Organization of raphe-cortical projections in rat: A quantitative retrograde study. *Brain Res Bull* 13: 709-726.
- Olds J, Milner P (1954): Positive reinforcement produced by electrical stimulation of the septal area and other regions of the rat brain. *J Comp Physiol Psychol* 47: 419-427.
- Orzhekhovskaia NS (1975): Comparative study of the formation of the frontal cortex of the brain of monkeys and man in ontogenesis. *Arkh Anat Gistol Embriol* 68: 43-49.
- Otake K, Nakamura Y (2000): Possible pathways through which neurons of the shell of the nucleus accumbens influence the outflow of the core of the nucleus accumbens. *Brain & Devl* 22: S17-S26.
- Park GAS, Pappas BA, Murtha SM, Ally A (1992): Enriched environment primes forebrain choline acetyltransferase activity to respond to learning experience. *Neurosci Lett* 143: 259-262.
- Passingham R (1993): The frontal lobes and voluntary action. Oxford Psychology Series, Oxford University Press, U.K., Vol 28: p. 299.
- Paulus MP, Bakshi VP, Geyer MA (1998): Isolation rearing affects sequential organization of motor behavior in post-pubertal but not pre-pubertal Lister and Sprague-Dawley rats. *Behav Brain Res* 94: 271-280.
- Paxinos G, Watson C (1986): The rat brain in stereotaxic coordinates. Academic Press, New York.
- Pehek EA (1996): Local infusion of the serotonin antagonists Ritanserin or ICS 205,930 increases in vivo dopamine release in the rat medial prefrontal cortex. *Synapse* 24: 12-18.

- Penit-Soria J, Audinat E, Crepel F (1987): Excitation of rat prefrontal cortical neurons by dopamine: an *in vitro* electrophysiological study. *Brain Res* 425: 263-274.
- Pennartz CMA, Groenewegen HJ, Lopes da Silva FH (1994): The nucleus accumbens as a complex of functionally distinct neuronal ensembles: an integration of behavioural, electrophysiological and anatomical data. *Progr Neurobiol* 42: 719-761.
- Phillips GD, Howes SR, Whitelaw RB, Robbins TW, Everitt BJ (1994): Isolation rearing impairs the reinforcing efficacy of intravenous cocaine or intra-accumbens *D*-amphetamine: Impaired response to intra-accumbens D1 and D2/D3 receptor antagonists. *Psychopharmacol* 115: 407-418.
- Pierce RC, Kalivas PW (1997): A circuitry model of the expression of behavioural sensitization to amphetamine-like psychostimulants. *Brain Res Rev* 25: 192-216.
- Pirot S, Godbout R, Mantz J, Tassin J-P, Glowinski J, Thierry AM (1992): Inhibitory effects of ventral tegmental area stimulation on the activity of prefrontal cortical neurons: evidence for the involvement of both dopaminergic and GABAergic components. *Neurosci* 49: 857-865.
- Preuss TM (1995): Do rats have prefrontal cortex? The Rose-Woolsey-Akert program reconsidered. *J Cogn Neurosci* 7: 1-24.
- Price GW, Carmichael ST, Drevets WC (1996): Networks related to the orbital and medial prefrontal cortex; substrate for emotional behavior? *Progr Brain Res* 107:523-536.
- Ray JP, Price JL (1992): The organization of the thalamocortical connections of the mediodorsal thalamic nucleus in the rat, related to the ventral forebrain–prefrontal cortex topography. *J Comp Neurol* 323: 167-197.
- Rebec GV, Grabner CP, Johnson M, Pierce RC, Bardo MT (1997): Transient increases in catecholaminergic activity in medial prefrontal cortex and nucleus accumbens shell during novelty. *Neurosci* 76: 707-714.
- Reep RL, Corwin JV, King V (1996): Neural connections of orbital cortex in rats: topography of cortical and thalamic afferents. *Exp Brain Res* 111: 215-232.
- Riege WH, Morimoto H (1970) Effects of chronic stress and differential environments upon brain weights and biogenic amine levels in rats. *J Comp Physiol Psychol* 71: 396-404.
- Rocha BA, Fumagalli F, Gainetdinov RR, Jones SR, Ator R, Giros B, Miller GW, Caron MG (1998): Cocaine self-administration in dopamine-transporter knockout mice. *Nat Neurosci* 1:132-137.
- Rolls ET, Cooper SJ (1973): Activation of neurones in the prefrontal cortex by brain-stimulation reward in the rat. *Brain Res* 60: 351-368.
- Roth BL, Meltzer HY (1995): The role of serotonin in schizophrenia. In: Bloom und Kupfer; *Psychopharmacology: The Fourth Generation of Progress*; Raven Press, New York: 1215-1227.
- Rosenzweig MR, Bennet EL (1996): Psychobiology of plasticity: effects of training and experience on brain and behavior. *Behav Brain Res* 78: 57-65.
- Routtenberg A, Sloan M (1972): Self-stimulation in the frontal cortex of *Rattus norvegicus*. *Behav Biol* 7: 567-572.
- Russ JC (1995): *The Image Processing Handbook*. 2nd ed., CRC Press, London, Tokyo.
- Sahakian BJ, Robbins TW, Iversen SD (1977): The effects of isolation rearing on exploration in the rat. *Animal Learn Behav* 5: 293-198.
- Saper CB (2000): Hypothalamic connections with the cerebral cortex. *Progr Brain Res* 126: 40-48.
- Schmidt CJ, Fadaye GM (1995): The selective 5-HT_{2A} receptor antagonist, MDL 100,907, increases dopamine efflux in the prefrontal cortex of the rat. *Eur J Pharmacol* 273: 233-279.
- Seiden LS, Vosmer GA (1984): Formation of 6-hydroxydopamine in caudate nucleus of the rat brain after a single large dose of methamphetamine. *Pharmac Biochem Behav* 21: 29-31.

- Sesack SR, Pickel VM (1992) Prefrontal cortical efferents in the rat synapse on unlabeled neuronal targets of catecholamine terminals in the nucleus accumbens septi and on the dopamine neurons in the ventral tegmental area. *J Comp Neurol* 320: 145-160.
- Sesack SR, Deutch AY, Roth RH, Bunney BS (1989): Topographical organization of the efferent projections of the mPFC in the rat: an anterograde tract tracing study with *Phaseolus vulgaris* leucoagglutinin. *J Comp Neurol* 290: 213-242.
- Sitskoorn MM, Appels MCM, Hulshoff Pol HE, Kahn RS (2000): Evidence of fronto-thalamic involvement in schizophrenia. *Progr Brain Res* 126: 343-355.
- Slopsema JS, van der Gugten J, de Bruin JPC (1982): Regional concentrations of noradrenaline and dopamine in the frontal cortex of the rat: dopaminergic innervation of the prefrontal subareas and lateralization of prefrontal dopamine. *Brain Res* 250: 197-200.
- Smiley JF, Goldman-Rakic PS (1996): Serotonergic axons in monkey prefrontal cerebral cortex synapse predominantly on interneurons as demonstrated by serial section electron microscopy. *J Comp Neurol* 367: 431-443.
- Snyder SH (1989): *Drugs and the Brain*. 2nd ed.; Scientific American Books, Inc., New York.
- Sotelo C (1991): Immunohistochemical study of short- and long-term effects of DL-fenfluramine on the serotonergic innervation of the rat hippocampal formation. *Brain Res* 541: 309-326.
- Steinbusch HWM (1984): Serotonin-immunoreactive neurons and their projections in the CNS. In: Björklund, Hökfelt, Kuhar: *Handbook of Chemical Neuroanatomy*; Elsevier, Amsterdam. 3: 68-125.
- Steinbusch HWM (1987): *Monoaminergic neurons: Light microscopy and ultrastructure*. John Wiley & Sons, New York.
- Steinbusch HW, Verhofstad AA, Joosten HW (1978): Localization of serotonin in the central nervous system by immunohistochemistry: description of a specific and sensitive technique and some applications. *Neurosci* 3: 811-819.
- Stuss DT (1992): Biological and psychological development of executive functions. *Brain & Cogn* 20: 8-23.
- Sullivan RM, Gratton A (1998): Relationships between stress-induced increases in medial prefrontal cortical dopamine and plasma corticosterone levels in rats: role of cerebral laterality. *Neurosci* 83:81-91.
- Sulzer D, Chen T-K, Lau YY, Kristensen H, Rayport S, Ewing A. (1995): Amphetamine redistributes dopamine from synaptic vesicles to the cytosol and promotes reverse transport. *J Neurosci* 15: 4102-4108.
- Swaab DF, Fliers E, Hoogendijk WJG, Veltman DJ, Zhou JN (2000): Interaction of prefrontal cortical and hypothalamic systems in the pathogenesis of depression. *Progr Brain Res* 126: 369-396.
- Taber MT, Fibinger HC (1995): Electrical stimulation of the prefrontal cortex increases dopamine release in the nucleus accumbens of the rat: modulation by metabotropic glutamate receptors. *J Neurosci* 15: 3896-3904.
- Taber MT, Fibiger HC (1997): Activation of the mesocortical dopamine system by feeding: lack of a selective response to stress. *Neurosci* 77: 295-298.
- Tarazi FI, Tomasini EC, Baldessarini RJ (1998): Postnatal development of dopamine and serotonin transporters in rat caudate-putamen and nucleus accumbens septi. *Neurosci Lett* 254: 21-24.
- Taylor JB, Benes FM (1996): Colocalization of glutamate decarboxylase, tyrosine hydroxylase and serotonin immunoreactivity in rat medial prefrontal cortex. *www.neuroscience.net* 1: #10001.
- Teuchert-Noodt G, Dawirs RR (1991): Age-related toxicity in prefrontal cortex and caudate-putamen complex of gerbils (*Meriones unguiculatus*) after a single dose of methamphetamine. *Neuropharmacol* 30: 733-743.

- Van Bockstaele EJ, Pickel VM (1993): Ultrastructure of serotonin-immunoreactive terminals in the core and shell of the rat nucleus accumbens: cellular substrates for interactions with catecholamine afferents. *J Comp Neurol* 334: 603-617.
- Van Bockstaele EJ, Biswas A, Pickel VM (1993): Topography of serotonin neurons in the dorsal raphe nucleus that send axon collaterals to the rat prefrontal cortex and nucleus accumbens. *Brain Res* 624: 188-198.
- Vanderschuren LJMJ, Schmidt ED, De Vries TJ, Van Moorsel CAP, Tilders FJH, Schoffeleers ANM (1999): A single exposure to amphetamine is sufficient to induce long-term behavioural, neuroendocrine, and neurochemical sensitization in rats. *J Neurosci* 19: 9579-9586.
- Van Eden CG (1985): Postnatal development of rat prefrontal cortex. Rodopi Press, Amsterdam.
- Van Eden CG, Buijs RM (2000): Functional neuroanatomy of the prefrontal cortex: autonomic interactions. *Progr Brain Res* 126: 49-62.
- Van Eden CG, Hoorneman EMD, Buijs RM, Matthijssen MAH, Geffard M, Uylings HBM (1987): Immunocytochemical localization of dopamine in the prefrontal cortex of the rat at the light and electron microscopical level. *Neurosci* 22: 849-862.
- Van Eden CG, Kros JM, Uylings HBM (1990): The development of the rat prefrontal cortex – Its size and development of connections with thalamus, spinal cord and other cortical areas. *Progr Brain Res* 85: 169-183.
- Van Haaren F, Van Zijderveld G, Van Hest A, De Bruin JPC, Van Eden CG, Van De Poll NE (1988): Acquisition of conditional associations and operant delayed spatial response alternation: effects of lesions in the medial prefrontal cortex. *Behav Neurosci* 102: 481-488.
- Varma VK, Wig NN, Phookun HR, Misra AK, Khare CB, Tripathi BM, Behere PB, Yoo ES, Susser ES (1997): First-onset schizophrenia in the community: relationship of urbanization with onset, early manifestations and typology. *Acta Psychiatr Scand* 96: 431-438.
- Verwer RW, Meijer RJ, Van Uum HF, Witter MP (1997): Collateral projections from the rat hippocampal formation to the lateral and medial prefrontal cortex. *Hippocampus* 7: 397-402.
- Voorn P, Jorritsma-Byham B, Van Dijk C, Buijs RM (1986): The dopaminergic innervation of the ventral striatum in the rat: a light and electron-microscopical study with antibodies against dopamine. *J Comp Neurol* 251: 84-99.
- Voorn P, Kalsbeek A, Jorritsma-Byham B, Groenewegen HJ (1988): The pre- and postnatal development of the dopaminergic cell groups in the ventral mesencephalon and the dopaminergic innervation of the striatum of the rat. *Neurosci* 25: 857-887.
- Vu ET, Krasne FB (1992): Evidence for a computational distinction between proximal and distal neuronal inhibition. *Science* 255: 1710-1712.
- Wahnschaffe U, Esslen J (1985): Structural evidence for the neurotoxicity of methylamphetamine in the frontal cortex of gerbils (*Meriones unguiculatus*): a light and electron microscopical study. *Brain Res* 377: 299-310.
- Waterhouse BD, Mihailoff GA, Baack JC, Woodward DJ (1986): Topographical distribution of dorsal and median raphe neurons projecting to motor, sensorimotor, and visual cortical areas in the rat. *J Comp Neurol* 249: 460-476.
- Weissman AD, Caldecott-Hazard S (1993) In utero methamphetamine effects: I. Behavior and monoamine uptake sites in adult offspring. *Synapse* 13: 241-250.
- Weissman AD, Caldecott-Hazard S (1995) Developmental neurotoxicity to methamphetamines. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 22: 372-374.
- Winterfeld KT, Teuchert-Noodt G, Dawirs RR (1998): Social environment alters both ontogeny of dopamine innervation of the medial prefrontal cortex and maturation of working memory in gerbils (*Meriones unguiculatus*). *J Neurosci Res* 52: 201-209.

- Wongwitdecha N, Marsden CA (1995): Isolation rearing prevents the reinforcing properties of amphetamine in a conditioned place preference paradigm. *Eur J Pharmacol* 279: 99-103.
- Wongwitdecha N, Marsden CA (1996): Social isolation increases aggressive behaviour and alters the effects of diazepam in the rat social interaction test. *Behav Brain Res* 75: 27-32.
- Wright CI, Groenewegen HJ (1995): Patterns of convergence and segregation in the medial nucleus accumbens of the rat: Relationships of prefrontal cortical, midline thalamic, and basal amygdaloid afferents. *J Comp Neurol* 361: 383-403.
- Wright IK, Upton N, Marsden CA (1991): Resocialisation of isolation-reared rats does not alter their anxiogenic profile on the elevated X-maze model of anxiety. *Physiol Behav* 50: 1129-1132.
- Wright CI, Beijer AVJ, Groenewegen HJ (1996): Basal amygdaloid complex afferents to the rat nucleus accumbens are compartmentally organized. *J Neurosci* 16: 1877-1893.
- Yoshida M, Yokoo H, Mizoguchi K, Kawahara H, Tsuda A, Nishikawa T, Tanaka M (1992): Eating and drinking cause increased dopamine release in the nucleus accumbens and ventral tegmental area in the rat: Measurement by in vitro microdialysis. *Neurosci Lett* 139: 73-76.
- Zahm DS, Brog JS (1992) On the significance of subterritories in the "accumbens" part of the rat ventral striatum. *Neurosci* 50: 751-767.
- Zhou FC, Azmitia EC (1986): Induced homotypic sprouting of serotonergic fibers in hippocampus. II. An immunocytochemistry study. *Brain Res* 373: 337-348.
- Zhou FC, Bledsoe S (1996): Methamphetamine causes rapid varicosis, perforation and definitive degeneration of serotonin fibres: an immunocytochemical study of serotonin transporter. www.neuroscience.net 1: #00009.
- Zhou FC, Azmitia EC, Bledsoe S (1995): Rapid serotonergic fiber sprouting in response to ibotenic acid lesion in the striatum and hippocampus. *Devl Brain Res* 84: 89-98.

Danksagung

Mein Dank gilt allen Mitgliedern der Abteilung für die gute Arbeitsatmosphäre während der vergangenen Jahre, insbesondere aber Frau Dipl. Biol. Andrea Busche für die freundschaftliche Zusammenarbeit und die Unterstützung bei der Korrektur des Manuskripts.

Ich bedanke mich bei Frau Ulrike Schröder für ihre stete Freundlichkeit und Geduld, sowie für die Hilfe bei der immunhistochemischen Aufarbeitung der Präparate und der zeichnerischen Darstellung der Dopaminfasern im präfrontalen Kortex.

Herrn Dr. Eins am Institut für Anatomie der Universität Göttingen schulde ich großen Dank für die Einführung in die Prinzipien der Bildanalyse und der Makroprogrammierung, sowie für die Benutzung des dort installierten KS400 Systems.

Diese Arbeit wurde erst durch den Einsatz des Bildanalysesystems KS300 ermöglicht, das der Abteilung Neuroanatomie von der Deutschen Parkinson Gesellschaft zur Verfügung gestellt wurde. Ich bedanke mich für die Möglichkeit des Zugriffs auf dieses System.

Erklärung

Ich erkläre hiermit, daß ich die vorliegende Arbeit selbständig angefertigt habe und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet wurden.

Ferner erkläre ich, daß es sich um meinen ersten Promotionsversuch handelt.

Bielefeld, im März 2002

(Jörg Neddens)