

Aus dem Zentrum für Neurologie  
Neurologische Universitätsklinik Tübingen  
Hertie-Institut für klinische Hirnforschung  
Abteilung Allgemeine Neurologie  
Ärztlicher Direktor: Professor Dr. Melms

**Bedeutung der dopaminergen Neurotransmission im  
dorsalen Striatum und im präfrontalen Kortex für das  
motorische Lernen bei der Ratte**

Inaugural-Dissertation  
Zur Erlangung des Doktorgrades  
der Medizin

der Medizinischen Fakultät  
der Eberhard Karls Universität  
zu Tübingen

vorgelegt von  
Sebastian Röhrich  
aus  
Stralsund

2011

Dekan: Professor Dr. I. B. Autenrieth

1. Berichterstatter: Professor Dr. A. R. Luft

2. Berichterstatter: Professor Dr. N. Birbaumer



# Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung .....	4
1.1	Neuronale Plastizität .....	4
1.2	Motorisches Training im Rattenmodell .....	8
1.3	Dopaminerges System im Motorkortex .....	9
1.4	Untersuchungen im dorsalen Striatum und präfrontalen Kortex .....	14
2	Material und Methodik .....	17
2.1	Tiere .....	17
2.2	Tierschutzerklärung .....	17
2.3	Tiermodell .....	17
2.4	Käfige .....	18
2.5	Vor-Training (Instrumentelles Lernen) .....	19
2.6	Training (Motorisches Lernen) und Wertung .....	20
2.7	Protokolle und verwendete Substanzen .....	21
2.7.1	Injektionen in das dorsale Striatum .....	21
2.7.2	Injektionen in den präfrontalen Kortex .....	23
2.7.3	Substanzen .....	24
2.8	Operationen .....	24
2.9	Injektionen .....	25
2.10	Histologie .....	25
2.11	Statistische Analyse .....	26
3	Ergebnisse .....	27
3.1	Nachweis über die korrekte Kanülenposition .....	27
3.1.1	Injektionen im dorsalen Striatum .....	27
3.1.2	Injektionen in den präfrontalen Kortex .....	28
3.2	Injektionen in das dorsale Striatum .....	29
3.2.1	Messung des Lernerfolges und Bestimmung der Lernkurve .....	29
3.2.2	Bestimmung der Latenz .....	33
3.2.3	Bestimmung der Trainingsdauer .....	36
3.3	Injektionen in den präfrontalen Kortex .....	39

3.3.1	Messung des Lernerfolges und Bestimmung der Lernkurve .....	39
3.3.2	Bestimmung der Latenz.....	42
3.3.3	Bestimmung der Trainingsdauer .....	44
4	Diskussion .....	46
4.1	Ausbreitung von Raclopid im Gewebe.....	46
4.2	Injektionen in das dorsale Striatum .....	48
4.3	Injektionen in den präfrontalen Kortex .....	54
5	Zusammenfassung .....	57
6	Abbildungsverzeichnis .....	58
7	Quellenverzeichnis .....	59
8	Danksagungen.....	69
9	Lebenslauf .....	70

# 1 Einleitung

## 1.1 Neuronale Plastizität

Der Liederzyklus „Winterreise“ wurde von Franz Schubert im Jahre 1827 komponiert und gilt als Höhepunkt des Kunstliedes.

Wer als Liebhaber romantischer Vokalmusik diese Lieder in einer Konzertaufführung erlebt, wird neben der Schönheit dieser Musik mit etwas Erfahrung auch die hohen technischen und gestalterischen Anforderungen wahrnehmen, die von Sänger und Pianist abverlangt werden. Aus einem neurologischen Blickwinkel betrachtet, ist allein die Leistung des Pianisten ein Beispiel par excellence für die Komplexität zentraler Hirnleistungen.

Die Ereigniskette, beginnend mit dem visuellen Erfassen der auf dem Notenblatt geschriebenen Noten und interpretatorischen Anweisungen, über die Umsetzung in einen motorischen Handlungsablauf für die Muskeln von Hand und Unterarm bis zum Anschlag der Klaviertaste und unmittelbar folgender, ständiger Überprüfung des Resultates (z. B. in Form einer korrigierten Dynamik und Intonation), ist eine beeindruckende Leistung unseres Gehirns.

Dieses fein abgestimmte, perfekte Zusammenspiel von visuellen, motorischen und auditorischen Hirnzentren führt bei einigen Menschen zu einzigartigen motorischen und interpretatorischen Fertigkeiten.

Legt man nun den Fokus auf den motorischen Anteil des Gesamtphänomens, so wird deutlich, dass der Perfektionierung dieser Fähigkeiten eine längere und intensive Phase des Trainings vorausgehen muss. Das Erlernen der richtigen Fingersätze ist dabei ein besonders wichtiger Aspekt.

Auf das Training der Fingerfertigkeit und die damit verbundene, ständige Wiederholung einzelner Bewegungsabläufe reagiert das Gehirn mit einer Anpassung von Synapsen und Netzwerken, die man mit neuronaler Plastizität umschreibt. Während zu Beginn des Erlernens dieser neuen Bewegung die ganze Aufmerksamkeit auf die Ausführung derselben gelegt wird, automatisiert sich die Bewegung durch Wiederholungen und wir können uns auf das Erlernen

einer neuen Handlung konzentrieren, während das bereits Gelernte beherrscht wird [28]. Die erlernten Handlungen werden in einer Form gespeichert, die allgemein als implizites Lernen oder prozedurales Gedächtnis bezeichnet wird [120]. Eine Form des impliziten Lernens ist, motorische Fertigkeiten durch wiederholtes Üben zu erlangen [102]. Anders als beim Erlernen von Fakten (explizites Lernen), werden hier Methoden erlernt. Ein weiteres wichtiges Unterscheidungsmerkmal zwischen diesen beiden Lern- bzw. Gedächtnisformen ist die Zeitachse. Während die Bildung eines deklarativen Gedächtnisses sehr schnell gehen kann und oft nur ein einmaliges Ereignis dafür notwendig ist, verläuft das prozedurale Lernen langsam und braucht viele Wiederholungen [28, 51, 120, 134]. Viele Daten zum Lernen werden aus Versuchen gewonnen, in denen die Aufgaben unter Laborbedingungen und in kurzen Zeiträumen gelernt werden. Als beeindruckendes Beispiel für Lernerfolge auch nach langer Zeit ist hierbei der „industrial cigar rolling task“ zu erwähnen, der Industriearbeiter beschreibt, die sich auch nach mehreren Jahren und millionenfach wiederholtem Zigarrenrollen immer noch verbesserten und schneller wurden [134].

Bei der willkürlichen Kontrolle von motorischen Bewegungen kommt dabei der primär-motorischen Rinde (Motorkortex, M1) eine ganz wesentliche Rolle zu. Der Motorkortex reagiert auf das Erlernen motorischer Fähigkeiten mit plastischen Veränderungen [107] und wird inzwischen sowohl funktionell als auch strukturell als dynamische Struktur betrachtet [83]. Kleim et al. konnten zeigen, dass sich die synaptische Dichte (Anzahl der Synapsen pro Nervenzelle) in den Regionen der motorischen Rinde erhöht, die für die Bewegung der entsprechenden Gliedmaßen verantwortlich sind [54]. Gezieltes motorisches Training ist assoziiert mit einer kortikalen Re-Organisation der entsprechend repräsentierten Areale im Motorkortex von Ratten [55]. Diese plastischen Veränderungen innerhalb M1 nach motorischem Training wurden auch in Primaten [82] und bei Menschen [13] gefunden.

Dass kortikale Plastizität beim Bewegungslernen eine Rolle spielt, wird durch zahlreiche Arbeiten aus den vergangenen Jahren gestützt. Die kortikale

Repräsentation der trainierten Muskeln und Bewegungsabläufe expandiert durch das Lernen neuer motorischer Fähigkeiten. Diese dynamischen Anpassungen der Rinden-Topografie werden außerdem von neuroanatomischen Phänomenen wie der Zunahme der Synapsen in den relevanten Territorien begleitet [83].

Wo und wie die plastischen Adaptationen gespeichert werden, ist bisher noch nicht bekannt. Auf der zellulären Ebene ist mit dem Neuerwerb motorischer Fähigkeiten die Induktion einer Langzeit-Potenzierung (LTP) assoziiert [96, 97]. LTP wird dadurch als möglicher Mechanismus für die Langzeitspeicherung der gelernten Bewegungen diskutiert.

Neuronale Plastizität findet nicht nur beim Gesunden auf der Ebene des Erlernens von neuartigen Bewegungen, sondern auch im zentral geschädigten Gehirn statt [105], beispielsweise in Form der kortikalen Reorganisation nach einem Schlaganfall. Diese Erkrankung ist die dritthäufigste Todesursache in Westeuropa und den USA und gilt weltweit als Hauptverursacher für dauerhafte Behinderungen [105]. Damit verbunden sind immense volkswirtschaftliche Kosten, die von Experten auf jährlich mindestens 5,5 Milliarden Euro allein in Deutschland geschätzt werden.<sup>1</sup>

Die als „vicariation of function“ bekannte und seit vielen Jahren populäre Theorie besagt, dass sowohl unmittelbar benachbartes intaktes Gewebe als auch weiter entfernte kortikale Regionen die durch den Schlaganfall geschädigten Funktionen übernehmen können [49, 132]. Diese Theorie wird auch von neueren Studien gestützt, die aufgrund ausgedehnter neurophysiologischer und anatomischer Veränderungen selbst in fokusfernen Regionen eine Beteiligung ganzer kortikaler Netzwerke am Erholungsprozess sehen [81]. Dabei variiert das Ausmaß der Erholung interindividuell sehr stark, selbst bei Patienten mit identischem Schweregrad der Akutsymptome. Es werden unter anderem Normvarianten in der Perfusion und Kollateralversorgung des betroffenen Territoriums, verschiedene kortikale

---

<sup>1</sup> Quelle: Stiftung Deutsche Schlaganfall-Hilfe

Repräsentationsareale der gleichen Funktion und die unterschiedliche Absorption des periläsionalen Hirnödems diskutiert [104].

Sanes et al. haben das Potential der motorischen Rinde zur Reorganisation nach peripherer Nervenläsion [109] und Vorderarm-Amputation [108] bei Ratten demonstriert. Auch bei Primaten [114] und am Menschen nach traumatischer Arm-Amputation [14, 91] konnte diese Reorganisation gezeigt werden. Die kortikale Repräsentation von Körperregionen in unmittelbarer Nachbarschaft der betroffenen Areale schien dabei zuzunehmen.

Die strukturellen und funktionellen Prozesse, die nach einem Schlaganfall im Kortex ablaufen, sind wahrscheinlich denen des motorischen Lernens ähnlich. Aus diesem Grund kann das motorische Lernen als Modell für die Erholung nach Schlaganfall genutzt werden, um zu verstehen, welche grundlegenden plastischen Vorgänge bei der funktionellen Wiederherstellung von motorischen Funktionen beteiligt sind. Angesichts der großen individuellen, klinischen und sozioökonomischen Relevanz dieser Erkrankung, ist es neben der intensivmedizinischen Akuttherapie von herausragender Bedeutung, dass ein Rehabilitationstraining so früh wie möglich begonnen und langfristig fortgesetzt wird [23], um motorische Defizite effektiv zu behandeln und so gut wie möglich wieder auszugleichen.

Neurophysiologische Experimente konnten zeigen, dass durch gezielte, nichtinvasive transkranielle Magnetstimulation (TMS) des Motorkortexes zumindest vorübergehend eine Verbesserung der Handfunktion beim Menschen erreicht werden kann [10, 11]. In einer Studie aus unserem Labor konnten durch kontinuierliches Laufbandtraining positive Effekte auf die Motorik und Gehfähigkeit von chronischen Schlaganfall-Patienten demonstriert werden, die außerdem von plastischen Veränderungen in subkortikalen Netzwerken begleitet wurden [66, 69]. Wenn es uns gelingt, Neuroplastizität im motorischen System besser zu verstehen, dann wird dies dazu beitragen, Therapiekonzepte für die Rehabilitation von Schlaganfall-Patienten gezielt zu verbessern und weiterzuentwickeln.

## 1.2 Motorisches Training im Rattenmodell

Das Erlernen motorischer Fähigkeiten ist ein komplexer Vorgang, der auf dem Zusammenwirken mehrerer Hirnregionen beruht. So interagieren der sensorisch-motorische Kortex mit den Basalganglien [16, 92], dem Kleinhirn sowie weiteren kortikalen Regionen [42]. Schon seit vielen Jahrzehnten ist bekannt, dass Ratten komplexe Bewegungen mit dem Vorderarm durchführen können. Mit der Zeit wurden präzise und reproduzierbare Modelle für ein Vorderarm-Greiftraining (forelimb reaching) bei Ratten zur Untersuchung von Motorik und neuronaler Plastizität entwickelt [74, 128].

Verschiedene Arbeitsgruppen haben demonstriert, dass die Akquisition von motorischen Fähigkeiten typischerweise in zwei Stadien verläuft: Einer initialen, schnellen Lernphase („within-session“) und einer langsamen, verzögerten Lernphase („between-session“), mit schrittweise zunehmender Verbesserung [51, 67]. Es wird vermutet, dass in der initialen Phase ein optimaler Bewegungsplan zur Bewältigung der Aufgabe erstellt wird, während in der langsamen Phase der erlernte Bewegungsplan langfristig strukturell modifiziert und konsolidiert wird [51].

Unter Konsolidierung versteht man jene Veränderungen, die im Anschluss an motorisches Training stattfinden und die neu erlernten Fähigkeiten stärken und weiter modifizieren. Aus einem anfänglich flüchtigen Gedächtnisinhalt wird dadurch ein robustes, nachhaltig stabiles Gedächtnis. Wird die Fertigkeit in Intervallen mit Pausen gelernt, so scheint das entstehende Gedächtnis dafür stabiler zu sein, als bei Übungen, die ohne Pause gelernt werden [101].

Die Konsolidierung des motorischen Gedächtnisses findet auch in den Ruhephasen zwischen den Trainingstagen statt [67].

Wenn die im motorischen Training erlernte Aufgabe erst einmal beherrscht wird, dann ist die Erinnerung über lange Zeit stabil und das Erlernete abrufbar. Auch aus diesem Grund ist es als Paradigma zur Untersuchung von Lernmechanismen gut geeignet.

Bei der Frage, wann sich die lernassoziierten Veränderungen in der Bewegungsumsetzung bemerkbar machen und wie lange eine neu erlernte Bewegung erinnert wird, spielen die Anzahl der Übungen, Zeit und Schlaf eine wichtige Rolle. Offenbar gibt es einen schlaf-abhängigen Lernerfolg im motorischen Training, der sich besonders in der ersten Nacht nach Beginn des Trainings entwickelt [127]. In frühen Stadien des Trainings ist die Erinnerung bzw. das Gedächtnis für das Erlernte noch sehr labil (wenige Stunden) [117, 127], wird aber nach wiederholten Trainingseinheiten stabiler und bleibt auch nach mehreren Monaten noch abrufbar [57].

Unsere Arbeitsgruppe hat ein Paradigma für die Untersuchung von prozeduralem Lernen entwickelt und die schnelle und langsame Phase des Lernens bestätigt. Interindividuell haben wir eine große Variabilität bei den Lernkurven festgestellt, wobei es bei den weiblichen Ratten stärkere Schwankungen gibt.

Wir konnten zeigen, dass das Maximum der Lernkurve an den Tagen 2 & 3 stattfindet [12]. Die zeitlichen Abläufe des Lernens in unserem Ratten-Paradigma sind kompatibel mit dem motorischen Lernen bei Menschen [79].

### **1.3 Dopaminerges System im Motorkortex**

Als Ausdruck des normalen menschlichen Alterungsprozesses nimmt die Fähigkeit zum Lernen und die damit assoziierte Gedächtnisbildung ab [39, 63]. Davon betroffen ist auch die Fähigkeit unseres Gehirns, neue motorische Gedächtnisinhalte zu formieren [112]. Auch die Aktivität des dopaminergen Systems wird schwächer [50, 63, 71]. So fand man eine mit dem Altern einhergehende Abnahme der Dichte von Dopamin-Rezeptoren und des Dopamin Stoffwechsels [26, 124]. Verschiedene Autoren sehen damit einen Zusammenhang zwischen der nachlassenden Dopamin-Aktivität und der abnehmenden Fähigkeit des alternden Gehirns, neue Gedächtnisinhalte zu kodieren [50, 124, 131]. Daraus ergibt sich die Schlussfolgerung, dass man durch Aktivierung bzw. Verstärkung des dopaminergen Systems auch eine

Verbesserung in der Formation des motorischen Gedächtnisses erzielen könnte. In einer Studie von 2005 konnten Flöel et al. demonstrieren, dass die Gabe von L-Dopa (Vorstufe von Dopamin), kombiniert mit einer Fingerübung, die Formation eines motorischen Gedächtnisses bei jungen Erwachsenen beschleunigt. Auch bei den älteren Erwachsenen konnten positive Resultate erzielt werden. Bei ihnen konnte durch die L-Dopa Gabe die Fähigkeit zu dieser Gedächtnisbildung wiederhergestellt werden [30].

Seit vielen Jahren weiß man, dass die Neurone des primären Motorkortexes Dopamin-Rezeptoren exprimieren. Neben dem primär motorischen Kortex erhalten auch prämotorische und präfrontale Kortex-Areale intensive dopaminerge Innervationen [36]. Kortikale Aktivität wird dabei wesentlich durch dopaminerge Faserprojektionen aus dem Mittelhirn beeinflusst. Einen großen Anteil seiner dopaminergen Eingänge erhält M1 über direkte meso-kortikale Projektionen, die ihren Ursprung in der Area tegmentalis ventralis (VTA) haben [115, 118]. Gaspar et al. haben gezeigt, dass bei Patienten mit Morbus Parkinson besonders die oberen kortikalen Schichten im primär motorischen und präfrontalen Kortex erhebliche Reduktionen in ihrer dopaminergen Innervation aufwiesen [36].

Auch bei Ratten wurden dopaminerge Projektionen in den Motorkortex nachgewiesen [8]. Über die genauen Funktionen der dopaminergen Projektionen in den Motorkortex ist bisher jedoch wenig bekannt [70].

Dopamin (DA) entfaltet seine Wirkung an zwei Rezeptorklassen. Sowohl Rezeptoren der D1-Gruppe (D1R, D5R) als auch der D2-Gruppe (D2R, D3R, D4R) werden im Kortex von Ratten exprimiert, allerdings mit einem unterschiedlichen Verteilungsmuster entlang der kortikalen Schichten. D1-Rezeptoren (Aktivierung der Adenylatcyclase, dadurch Erhöhung von intrazellulärem cAMP [52]) finden sich in den oberflächlichen Schichten I – IIIa und auch in den tiefen Schichten V und VI [110]. D2-Rezeptoren (Inhibition der Adenylatcyclase [85]) finden sich dagegen vornehmlich in Schicht V [4].

Für die D2-Rezeptoren konnten Lidow et al. einen rostro-kaudalen Dichtegradienten demonstrieren. Dabei hat der präfrontale Kortex (PFC) eine sehr hohe, der okzipitale Kortex dagegen eine sehr geringe Dichte an D2-Rezeptoren [64]. Für die Neuronen im Motorkortex, Striatum und präfrontalen Kortex konnte außerdem eine Co-Lokalisation von D1-/D2-Rezeptoren nachgewiesen werden [3, 5]. Huntley et al. haben die Expression von D1R, D2R und D5R auch für den Neokortex des Menschen nachgewiesen [46].

Awenowicz et al. zeigten im Rattenversuch, dass die intrakortikale Applikation von DA die Spontanentladung von Neuronen der Pyramidenbahn progressiv verringerte [5]. Die physiologische Rolle von DA könnte daher die Inhibition von Pyramidenzellen des Motorkortexes sein. In einem Versuch, bei dem der D2-Antagonist Haloperidol systemisch appliziert wurde, konnte aber ebenfalls eine Reduktion der Entladungsrate beobachtet werden, begleitet von Bradykinase [89]. Durch systemische Gabe von Sulpirid, einem weiteren D2-Antagonisten, konnte die durch transkranielle Stromapplikation (transcranial direct current stimulation (tDCS)) induzierte Änderung der Erregbarkeit verhindert werden [80]. Aussagen über die systemische Applikation von DA bzw. deren Antagonisten sind jedoch problematisch, da DA in vielen Hirnregionen wirkt und die Interpretation der Ergebnisse erschwert.

Basierend auf der Hypothese, dass Dopamin bei der Akquisition motorischer Fähigkeiten und der Formation eines deklarativen Gedächtnisses beteiligt ist, hat sich unsere Arbeitsgruppe mit der Rolle dopaminergischer Transmission im Motorkortex beschäftigt. Eine aktuelle Veröffentlichung unserer Arbeitsgruppe stellte die Hypothese einer dopaminergen Modulation von Erregbarkeit und Somatotopie im Motorkortex auf und untersuchte dies im Rattenversuch anhand epiduraler Mikrostimulation und Injektion von D1- und D2-Antagonisten.

Die intrakortikale Applikation des D2-Antagonisten bewirkte eine transiente Reduktion von kortikaler Erregbarkeit und Repräsentationsgröße der Vorderarm-Region. Gleichzeitig wurde das Schwellenpotential für motorische Reaktionen angehoben. Bei der Applikation des D1-Antagonisten wurden

keinerlei Effekte beobachtet [44]. Die über D2-Rezeptoren vermittelte Verstärkung der intrakortikalen Erregbarkeit und Modulation der Somatotopie könnten dabei helfen, Bewegungsmuster zu harmonisieren und Muskelaktionen zu präzisieren [44].

Hinweise, dass die erhöhte Erregbarkeit im Motorkortex eine wichtige Begleiterscheinung während des motorischen Lernens ist, kommen von Pascual-Leone et al. [90]. In diesem Paper wurde demonstriert, dass motorisches Lernen assoziiert ist mit einem herabgesetztem Schwellenpotential für motorische Reaktionen und einer vergrößerten kortikalen Repräsentation der trainierten Muskelgruppen.

Conner et al. haben die durch Training induzierte Vergrößerung der entsprechenden Repräsentationsareale als notwendige Voraussetzung für das motorische Lernen bezeichnet [15].

Die erwähnten Daten liefern uns Hinweise, dass beim Gesunden dopaminerge, über D2-Rezeptoren vermittelte Effekte im Motorkortex eine mögliche Voraussetzung für das Lernen neuer Bewegungen sein könnten.

Unsere Arbeitsgruppe untersuchte die Effekte von Dopamin-Antagonisten auf das motorische Lernen sowie die motorische Performance bei Ratten mittels Injektionen von Racloprid und Sulpirid in den Motorkortex und konnte eine signifikante Minderung des Lernens gegenüber den Kontrollen zeigen [77]. Dieser Effekt war auf die Injektionstage beschränkt und normalisierte sich nach Beendigung der Injektionen rasch, so dass die mit dem Antagonisten behandelten Tiere wieder lernten und nach 2-3 Tagen das Niveau der Kontrollen erreichten. Die Injektionen mit Sulpirid dienten als Nachweis, dass die unter Racloprid beobachteten Effekte tatsächlich auf Dopamin-Antagonismus und nicht auf etwaige Nebenwirkungen dieser Substanz beruhten. Unter Sulpirid wurde ebenfalls eine signifikante Lernhemmung beobachtet. Um allgemeine hemmende Effekte der Dopamin-Antagonisten auf die Motorik ausschließen zu können, wurden die gleichen Substanzen ebenfalls injiziert, nachdem die Tiere die Bewegungen bereits erfolgreich gelernt hatten (so genannte „overtrained“-Phase). Dies hatte jedoch keinen Effekt auf die

motorische Leistung. Somit konnte gezeigt werden, dass dopaminerge Signalübertragung im Motorkortex wichtig für das motorische Lernen, nicht aber für die reine Ausübung von Bewegungssequenzen ist. Die bereits erwähnte Hypothese des beschleunigten motorischen Lernens durch eine Verstärkung der dopaminergen Signalübertragung im Motorkortex konnte ebenfalls durch Versuche in unserem Labor unterstützt werden, bei denen Ratten mit kontinuierlicher L-Dopa-Infusion mittels osmotischer Pumpen in den Motorkortex signifikant schneller lernten als Kontrolltiere [77]. Aus Studien mit Schlaganfall-Patienten (im chronischen Stadium), die mit Levodopa in Kombination mit Physiotherapie behandelt wurden, kommen allerdings keine übereinstimmenden Ergebnisse. In einigen Studien konnte gezeigt werden, dass das motorische Lernen nach Schlaganfall durch die zusätzliche Gabe von Levodopa verbessert werden konnte [31, 103, 113]. Diese Effekte werden jedoch von einigen Autoren angezweifelt bzw. konnten in anderen Arbeiten nicht reproduziert werden [65, 94, 119].

Hauber et al. haben an Ratten untersucht, wie sich die systemische Blockade von D1R und D2R auf Initiation und Ausführung von erlernten Bewegungen auswirkt und konnten demonstrieren, dass beide Rezeptoren an diesen Prozessen beteiligt sind [38].

## **Ziel der vorliegenden Arbeit**

Ziel meiner Versuche war es, herauszufinden, ob die hemmenden Effekte von Dopamin-Antagonisten auf das prozedurale Lernen durch Injektionen in den Motorkortex tatsächlich auf lokalen intrakortikalen Effekten beruhen, oder möglicherweise durch eine Diffusion der Substanzen in die Basalganglien oder den präfrontalen Kortex (PFC) zu erklären sind. Beide Regionen sind wichtige Orte dopaminergener Faserprojektionen und könnten durch ihre anatomische Nähe zur motorischen Rinde von Dopamin-Antagonisten beeinflusst werden.

### **1.4 Untersuchungen im dorsalen Striatum und präfrontalen Kortex**

Die Basalganglien sind beteiligt an der Initiation von gelernten, willkürlichen Bewegungen [53] und der Selektion und Kontrolle von zielgerichteten Bewegungsabläufen und Lernprozessen [22]. In funktionell-bildgebenden Studien am Menschen konnte demonstriert werden, dass das Striatum bei Lernprozessen aktiviert ist [60, 116, 125]. Es gibt zahlreiche Belege für die Rolle des dorsalen Striatums in Lern- und Gedächtnisprozessen [2, 21, 56, 73]. Auch in der Kontrolle von Motorik übernimmt das dorsale Striatum eine wichtige Funktion [76] und ist insbesondere für die Initiation von Bewegungen verantwortlich [6]. Über diese Funktion ist das dorsale Striatum ein wichtiger Bestandteil im Entscheidungsprozeß für willkürliche Bewegungen.

Das Striatum verfügt über die höchste Dichte an Dopamin-Rezeptoren. Der Abfall bzw. Verlust dopaminergener Signale im Striatum resultiert in schweren Bewegungsstörungen, wie sie in Form der klassischen Trias Rigidität, Akinese und Tremor charakteristischer Weise beim Morbus Parkinson beobachtet werden können. Die frühen motorischen Symptome sind vor allem Ausdruck der Degeneration nigrostriataler Fasern [78].

Man kann im Striatum, etwas verallgemeinernd gesprochen, einen direkten und einen indirekten neuronalen Schaltkreis unterscheiden. Über den direkten Pfad vermitteln exzitatorische Signale von D1-Rezeptoren die korrekte Selektion von

Bewegungsabläufen. Über den indirekten Pfad verhindern inhibitorische Signale von D2-Rezeptoren ungewollte Bewegungen. Ein Ausfall dieses Signalweges kann dazu führen, dass intendierte Bewegungen nicht ausgeführt werden oder routinierte Bewegungspläne gestört ablaufen [58].

Aufgrund der Beteiligung des dorsalen Striatums beim Lernen zielorientierter Bewegungsabläufe habe ich in einem ersten Kontrollexperiment untersucht, welche Auswirkungen die direkte lokale Applikation des D2-Rezeptor-Antagonisten Racloprid auf das motorische Lernen bei Ratten hat. Dabei soll die Frage beantwortet werden, ob die inhibitorischen Effekte der D2-Blockade auf das motorische Lernen, die wir für den Motorkortex zeigen konnten, womöglich durch eine Diffusion der Substanz in das dorsale Striatum bedingt sein könnten.

In einem zweiten Kontrollexperiment habe ich untersucht, wie die ebenfalls direkt in den präfrontalen Kortex applizierte D2R-Blockade das motorische Lernen beeinflusst. Analog zum Einfluß des dorsalen Striatums, könnte die Diffusion von Racloprid in diese Region in relevantem Umfang als mögliche Erklärung für die Lernhemmung im Motorkortex in Frage kommen.

Der präfrontale Kortex erhält dopaminerge Innervationen aus dem ventralen Tegmentum [48] und ist, hauptsächlich über D1-Rezeptoren [111], wesentlich am Arbeitsgedächtnis beteiligt [33]. Der PFC ist außerdem wesentlich an komplexen Verhaltensmustern, kognitiven und emotionalen Prozessen beteiligt, ebenso an Belohnungs-Mechanismen [1, 35, 40, 86, 98, 122]. Wenn man eine Handlung im allgemeinen betrachtet, so ist der PFC an der Planung, Ausführung und Speicherung dieser Handlung beteiligt [35].

Die Funktion der präfrontalen D1- und D2-Rezeptoren wurde intensiv untersucht. Eine wichtige Rolle in der Modifikation synaptischer Plastizität in präfrontalen Neuronen [45] sowie eine Beteiligung in Gedächtnisprozessen gilt als gesichert, insbesondere im Zusammenhang mit Belohnungslernen und Sucht [47]. Es wird angenommen, dass Dopamin im PFC die Bewertung von

verhaltensrelevanten Zielen kodiert und über diesen Weg die Motivation beeinflusst, eine Handlung auszuführen. Dies legt die Hypothese nahe, dass bei einer Dopamin-Blockade an präfrontalen Neuronen auch die Motivation für das Lernen neuer Bewegungen bzw. Handlungsabläufe abnehmen könnte.

## **2 Material und Methodik**

### **2.1 Tiere**

29 männliche Long-Evans Ratten wurden in unterschiedliche Versuchsprotokolle zugeteilt. Alle Tiere stammten aus unserer Labor-internen Zucht, waren zwischen 8 und 12 Wochen alt und wogen 250 - 300 g. Die Ratten wurden in einem 12-stündigen Tag/Nacht-Zyklus gehalten und hatten freien Zugang zu Wasser. Sämtliche Versuche wurden zu Beginn der aktiven Nachtphase durchgeführt. Die Ratten wurden unter einer restriktiven Diät gehalten. Nach jeder Trainingseinheit erhielten die Ratten eine Standard-Diät von ~ 50 mg/kg Körpergewicht, die an das täglich gemessene Körpergewicht angepasst wurde, um das Körpergewicht konstant zu halten.

### **2.2 Tierschutzerklärung**

Während des experimentellen Abschnitts meiner Arbeit wurden sämtliche zur Verfügung stehenden Maßnahmen ergriffen, um unnötiges Leiden und Schmerz der Ratten zu verhindern bzw. auf ein Minimum zu reduzieren und eine bestmögliche Versorgung der Tiere zu erreichen. Ohne die Tierversuche wären diese Experimente zur Erforschung grundlegender neuronaler Mechanismen nicht möglich gewesen. Sämtliche Versuche wurden vom Tierschutzbeauftragten der Universität Tübingen und des Landes Baden-Württemberg geprüft und genehmigt und entsprachen den Vorgaben des Tierschutzgesetzes.

### **2.3 Tiermodell**

Für sämtliche Versuche benutzten wir ein in unserer Arbeitsgruppe weiterentwickeltes Tiermodell zur Untersuchung des motorischen Lernens. Das Paradigma beruht auf einem reproduzierbaren einarmigen Greiftraining, in dem die Tiere lernen, Ein Futterkugeln mit einem Vorderarm zu greifen und

anschließend zu verzehren. Für meine Versuche verwendete ich eine Variante des Modells, die auf den folgenden Seiten detailliert beschrieben wird.

Der Lernerfolg wird anhand einer Lernkurve gemessen, die im typischen Fall einen sigmoidalen Verlauf beschreibt. Wir unterscheiden dabei eine langsame Initialphase (Fähigkeit, zu greifen wird erlernt und verbessert), eine schnelle Phase (2 – 4 Tage) und die Plateau-Phase (ab Tag 5).

## 2.4 Käfige

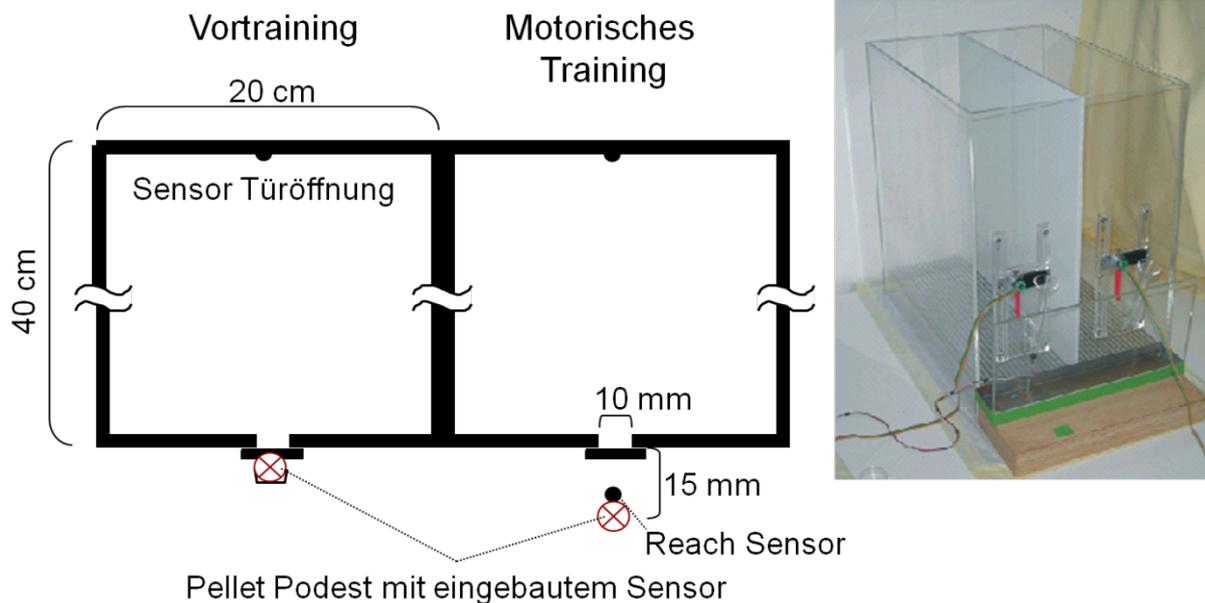


Abb. 1 Käfig (links: Ansicht von oben, rechts: Käfig aus unserem Labor)

Wir benutzten einen maßgearbeiteten Käfig aus Plexiglas, der mit einem vertikalen Fenster (Breite: 1 cm, Höhe: 5 cm) an der Vorderwand versehen war. Das Fenster wurde von einer motorisierten, speziell für den Käfig angefertigten Schiebetür verdeckt. Die Ratte konnte die Tür öffnen, indem sie mit der Nase einen induktiven Sensor an der Hinterwand des Käfigs berührte. Auf einem kleinen Podest vor dem Fenster (Durchmesser: 7 mm) wurde ein Futterkügelchen (45 mg, Bioserve Inc., Frenchtown, NJ) platziert, das von einem eingebauten Sensor erkannt wurde. Sobald das Kügelchen entfernt wurde, schloss die Tür automatisch mit einer Latenz von einer Sekunde.

Während des motorischen Trainings registrierte ein zusätzlich zwischen Fenster und Podest befestigter Sensor sämtliche Greifbewegungen der Ratte. In der linken Käfigseite lernen die Ratten zu Beginn, durch Berühren eines Sensors an der Hinterwand, eine motorisierte Schiebetür zu öffnen. Das Kügelchen wird mit der Zunge erreicht. In der rechten Käfigseite wird das eigentliche motorische Lernen initiiert, in dem die Distanz zwischen Fenster und Kügelchen auf 1,5 cm erhöht wird. Um das Kügelchen jetzt zu erreichen, ist eine Greifbewegung notwendig. Ein Sensor im Podest registriert die sowohl die Anwesenheit als auch die manuelle Entfernung des Kügelchens durch die Greifbewegung. Jede Armbewegung zum Podest wird von einem 3. Sensor zwischen Podest und Fenster gemessen. Das Design des Käfigs ermöglichte uns das gleichzeitige Beobachten und Aufzeichnen der Greifversuche.

Alle Sensor-Aktivierungen wurden in Echtzeit aufgezeichnet. Wir benutzten dafür speziell programmierte Software auf Grundlage von Labview (Version 8.2, National Instruments, Austin, Texas, USA)

## **2.5 Vor-Training (Instrumentelles Lernen)**

Am ersten Tag des Vor-Trainings wurden die Ratten für 60 Minuten mit dem Käfig und den Kügelchen vertraut gemacht. Dafür wurden die Kügelchen in einer Schale mit konventionellem Futter gemischt und in den Käfig gestellt. Am folgenden Tag wurden solange mehrere Kügelchen auf das Podest am geöffneten Fenster gelegt, bis die Ratte begann, die Kügelchen mit der Zunge vom Fenster zu fressen. Am Tag darauf wurde das Fenster geschlossen und erst dann vom Untersucher geöffnet, sobald sich die Ratte der hinteren Wand vom Käfig näherte. Die Unterstützung durch den Untersucher wurde fortwährend reduziert, bis die Ratte gelernt hatte, die Tür selbstständig durch Berührung des Sensors in der Rückwand zu öffnen. Dieser Prozess konnte mehrere Sitzungen erfordern. Die Phase des Vor-Trainings war dann erfolgreich abgeschlossen, sobald die Ratte die Tür 100 mal öffnete und dafür weniger als 30 Minuten brauchte. Am sich anschließenden Transfer-Tag wurde die Distanz zwischen Podest und Fenster auf 1,5 cm erhöht, sodass das

Kügelchen nicht mehr mit der Zunge erreicht werden konnte. In dieser Sitzung lernte die Ratte, mit der Hand durch das Fenster zu greifen. Fast alle Ratten zeigten schnell (10-20 Greifbewegungen) eine Handpräferenz. Das Podest wurde entsprechend aus einer mittleren Position ca. 5 mm kontralateral zur bevorzugten Hand verschoben, um das Greifen zu ermöglichen. Das Fenster wurde manuell geschlossen, sobald die Ratte den Vorderarm durch die Fensteröffnung gestreckt hat. In dieser Übergangsphase fanden noch keine gezielten Greifbewegungen statt. Nach 50 Wiederholungen konnte sowohl die Händigkeit eindeutig festgelegt als auch sichergestellt werden, dass die Ratte „verstanden“ hat, immer mit demselben Vorderarm durch das Fenster zu greifen. Diese Handpräferenz wurde während der gesamten Trainingsphase beibehalten.

## **2.6 Training (Motorisches Lernen) und Wertung**

Jede Trainingseinheit bestand aus 100 wiederholten Türöffnungen (Trials). Ein Trial begann mit der Türöffnung (Ratte berührt Sensor) und endete mit der Entfernung des Kügelchens vom Podest, entweder durch Greifen oder Wegstoßen. Dies konnte mehrere Greifversuche erfordern. Jeder Greifversuch wurde von dem Sensor zwischen Fenster und Podest registriert. Außerdem wurde die Latenzzeit zwischen Kügelchen-Entnahme und erneuter Türöffnung für jeden Trial gemessen. Dies galt als Messgröße für die Motivation der Ratte. Des Weiteren wurde jeder Trial vom Untersucher visuell beurteilt und als „Hit“ (Kügelchen wurde erfolgreich gegriffen, zum Maul geführt und verzehrt), „Drop“ (Kügelchen wurde gegriffen, aber auf dem Weg wieder fallengelassen) oder „Fail“ (Kügelchen wurde durch ungenaue Bewegung vom Podest gestoßen) gewertet und mit Hilfe von individuell programmierter Software für die spätere Auswertung dokumentiert. Videoaufzeichnungen vom Training boten eine zusätzliche Auswertungsoption. Entsprechend des Versuchsprotokolls wurden den Ratten an zwei Tagen Injektionen durch implantierte Kanülen verabreicht.

Eine typische Trainingssequenz ist auf den folgenden Videoausschnitten zu sehen. Die Ratte nähert sich dem geöffneten Fenster (A), greift mit dem linken Vorderarm durch das Fenster hindurch zum Kügelchen (B,C) und kann es erfolgreich und zielsicher zum Maul führen (D,E). Die Tür schließt von selbst, sobald das Kügelchen vom Podest entfernt wird.

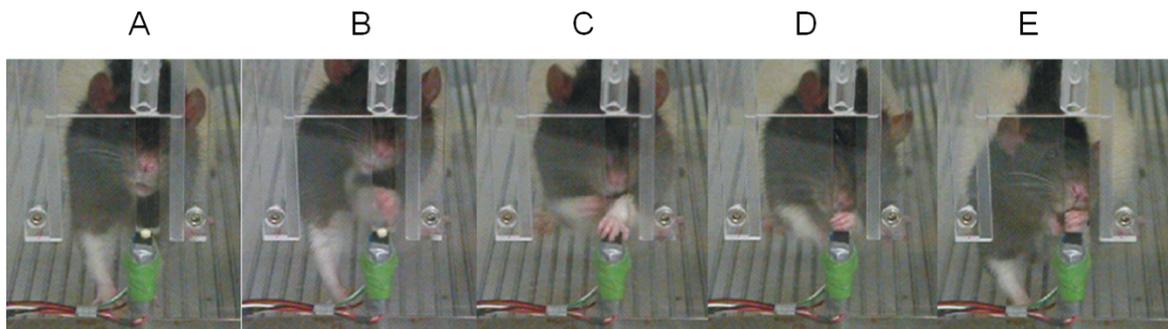


Abb. 2 Trainingssequenz beim motorischen Lernen

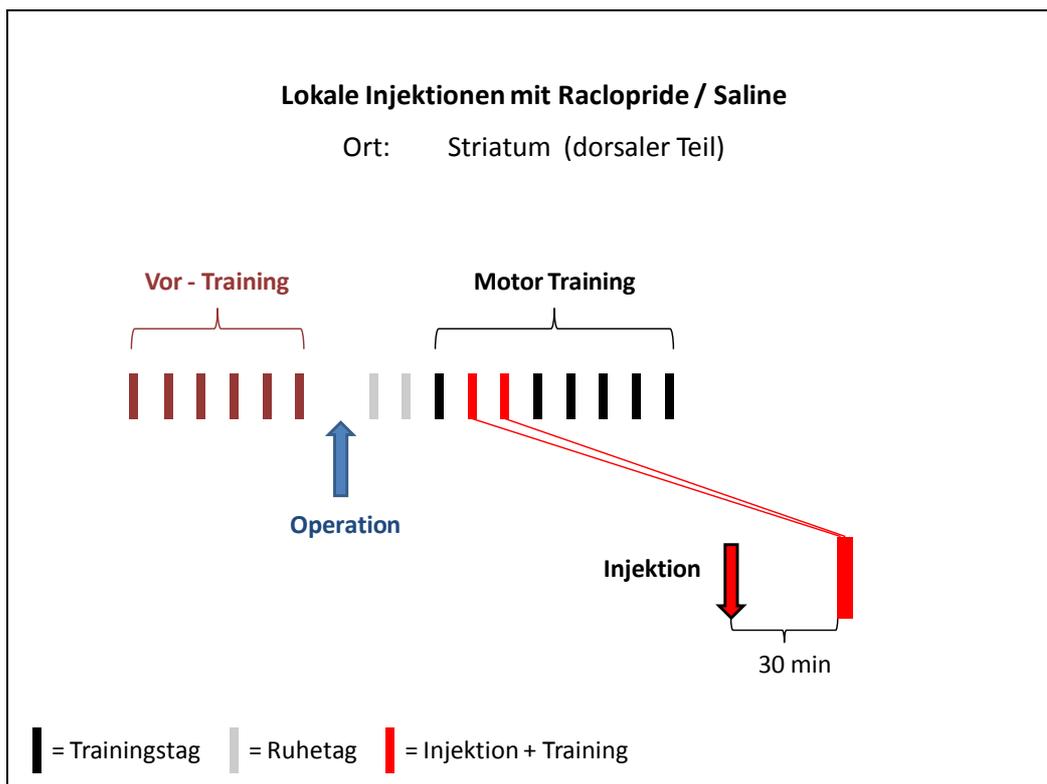
## 2.7 Protokolle und verwendete Substanzen

### 2.7.1 Injektionen in das dorsale Striatum

Das gesamte Training wurde im randomisierten Blindversuch durchgeführt. Die Verblindung und Randomisierung wurde durch einen Mitarbeiter im Labor durchgeführt. Dadurch wurden äußere Einflußgrößen gleichmäßig auf Studien- und Kontrollgruppe verteilt. Es wurde weiterhin darauf geachtet, dass alle Tiere in einem Versuchszyklus von einem Zuchtpaar kommen und keine interfamiliäre Vermischung stattfindet. Sämtliche Tiere wurden identisch behandelt. Die Injektionsflüssigkeiten unterschieden sich weder in Farbe noch Konsistenz, sodass keine Rückschlüsse auf die darin enthaltene Substanz möglich waren. Tiere beider Versuchsgruppen haben ca. 4-6 Tage nach oben beschriebenem Schema das Vortraining absolviert und wurden anschließend operiert. Nach einer postoperativen Ruhephase von zwei Tagen wurde dann mit dem oben beschriebenen Training begonnen. An Tag 2 & 3 wurde mit Hilfe der Injektionspumpe die vorgesehene Substanz, entweder eine Lösung aus Natriumchlorid (NaCl) oder Racloprid, bilateral über die Kanülen appliziert.

Nach einer Wartezeit von 30 Minuten, die für das Erreichen des Wirkmaximums von Racloprid notwendig ist, wurde mit dem üblichen Training begonnen. An allen weiteren Tagen wurde ohne Injektionen trainiert.

Nach dem letzten Trainingstag wurden die Rattenhirne für die Histologie aufgearbeitet. Die folgende Abbildung bietet eine Übersicht über den Trainingsablauf:



**Abb. 3** Protokollübersicht Striatum

## 2.7.2 Injektionen in den präfrontalen Kortex

Für das Training und die Injektionen in den präfrontalen Kortex wurde das gleiche Protokoll wie für die Injektionen in das Striatum verwendet. Die Versuche erfolgten ebenfalls nach Verblindung. Die Aufarbeitung der Rattenhirne erfolgte analog dem Protokoll für die Injektionen in das Striatum. Die folgende Übersicht zeigt den Ablauf des Protokolls:

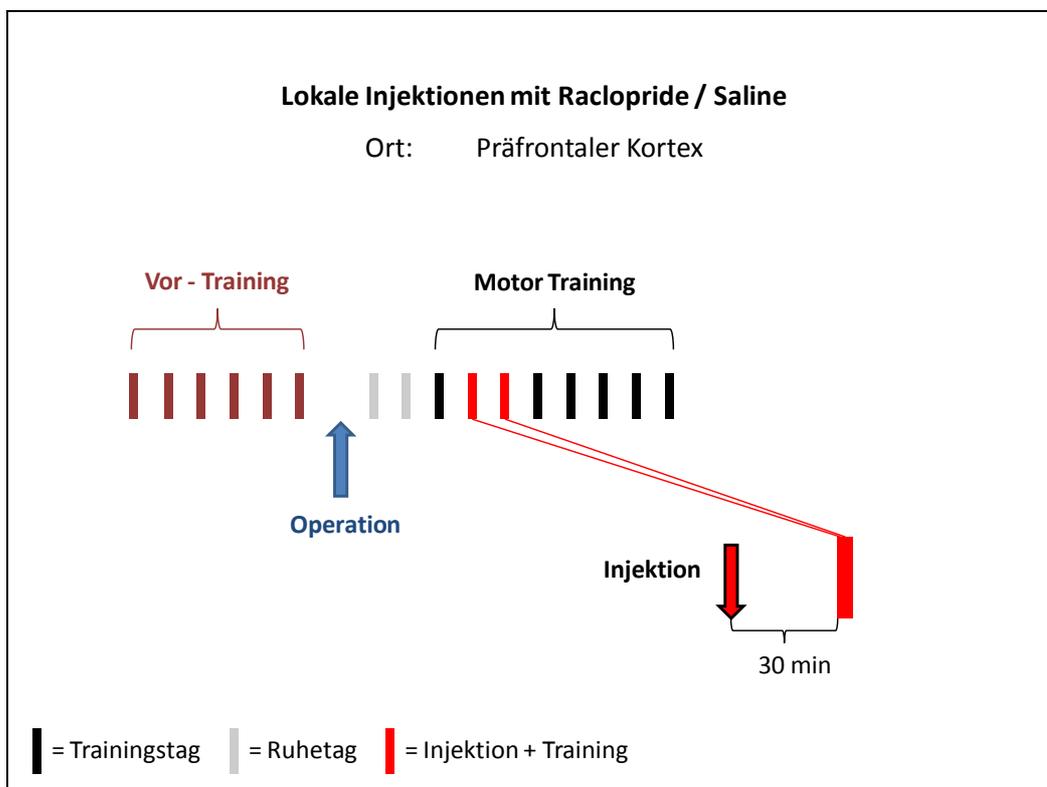


Abb. 4 Protokollübersicht Präfrontaler Kortex

### 2.7.3 Substanzen

Für die Injektionen wurde der selektive Antagonist von D2–Dopamin-Rezeptoren S(-)-Racloprid (+)-Tartrat (10 µg/µl), Fa. Sigma-Aldrich, München, Deutschland, verwendet. Das Salz wurde in physiologischer Kochsalzlösung gelöst. Die Kontrolltiere erhielten Injektionen mit NaCl-Lösung. Für die Narkose während der Operation wurden Xylasel 2% (Xylazinhydrochlorid, 20 mg/ml, Fa. Selectavet, Weyarn-Holzolling, Deutschland) und Ketamin 10% (Ketaminhydrochlorid, 100 mg/ml, WDT, Garbsen, Deutschland) verwendet. Zur Schmerzprophylaxe wurde Temgesic (Buprenorphinhydrochlorid, 0,3 mg/ml, Essex Pharma GmbH, München, Deutschland) verabreicht.

## 2.8 Operationen

Nach erfolgreicher Beendigung des Vortrainings wurden mit Hilfe eines stereotaktischen Rahmens die Kanülen implantiert. Die Narkoseeinleitung erfolgte mit Ketamin (10% i.p., 70-100 mg/kg KG) und Xylasel (2% i.p., 5-10 mg/kg KG). Die Schmerzprophylaxe erfolgte mit Temgesic (i.p., 0,1 mg/kg KG) und wurde am Ende der OP verabreicht. Zunächst wurde der Schädel mit einem handelsüblichen elektrischen Rasiergerät rasiert. Anschließend wurden der Schädel in den stereotaktischen Rahmen eingespannt und die Augen mit Bepanthen-Salbe versorgt. Es folgten der Hautschnitt und, in mehreren Schritten, die Freilegung des Schädelknochens. Zwei Löcher (Durchmesser ca. 1,5 mm) wurden in den Schädel gebohrt, in denen die Injektionskanülen (0,4 mm/15 mm, Unimed, Lausanne, Schweiz) bilateral in das dorsale Striatum implantiert wurden. Die Koordinaten (vom Bregma ausgehend 3 mm lateral, 5 mm tief ab Niveau Hirnoberfläche) für die Implantation der Kanülen wurden mit Hilfe des „rat brain atlas“ (Paxinos & Watson, 1998) ausgewählt und bereits in früheren Experimenten der AG Luft verwendet. Die Kanülen wurden mit Knochenzement (Paladur®, Heraeus Kulzer GmbH, Hanau, Deutschland) und FlowLine® (lichthärtendes Hybridkomposit, Heraeus Kulzer GmbH, Hanau, Deutschland) in situ fixiert und stabilisiert.

Für die Injektionen in den präfrontalen Kortex wurde das gleiche OP-Protokoll verwendet. Es wurde jedoch lediglich eine Kanüle implantiert, jeweils kontralateral zur Armpräferenz, die während der Phase des Vortrainings bestimmt worden war. Die entsprechenden Koordinaten waren, wieder bezogen auf das Bregma, 1 mm lateral, 4-5 mm frontal, 1 mm tief ab Hirnoberfläche. Nach dem Eingriff wurde den Ratten eine Erholungszeit von drei Tagen gewährt. Anschließend begann das motorische Training, wie von Buitrago et al. beschrieben [12].

## **2.9 Injektionen**

Am zweiten und dritten Tag wurden die Injektionen mit 0,5 µl Raclopridlösung bzw. NaCl-Lösung durchgeführt. Dazu wurden die Ratten 30 min vor Trainingsbeginn einer kurzen Ethernarkose unterzogen. Unter Narkose wurde die entsprechende Substanz mit einer Mikroliter-Spritze (5 µl, Hamilton, Bonaduz AG, Schweiz), verbunden mit einer dünnen 34 gauge Nadel (15 mm/3 pst, Hamilton, Bonaduz AG, Schweiz), verabreicht. Die Injektionen wurden mit Hilfe einer automatischen Injektionspumpe (Nano-Injector, Stoelting Co., Wood Dale, USA) verabreicht. Die Injektionsgeschwindigkeit betrug für jedes Tier und jede Substanz 1,0 µl/min. Die Nadel verblieb anschließend 30 Sekunden in der Kanüle, um die Diffusion der Substanz zu gewährleisten. Frühere Experimente der Arbeitsgruppe zeigten, dass das Wirkmaximum für Racloprid nach ca. 30 Minuten erreicht wird.

## **2.10 Histologie**

Um die korrekte Position der Kanülen beurteilen zu können, wurden histologische Feinschnitte angefertigt. Dafür wurden die Tiere nach dem letzten Trainingstag durch eine Überdosis an Ketamin/Xylazin in eine tiefe Narkose versetzt und transkardial mit 0,1 M Potassium-Phosphate-Buffer (PBS) und anschließend mit 4% PFA (Paraformalinaldehyd) perfundiert. Das Gehirn wurde sofort extrahiert und weitere 24 h in 4% PFA bei 4°C gelagert. Anschließend

wurden die fixierten Rattenhirne zur Kryoprotektion weitere 48 h in 30% Sucarose verbracht und dann rasch mit Isopentan gefroren. Die Lagerung erfolgte dann bei einer Temperatur von  $-80^{\circ}\text{C}$ . Danach wurden  $40\ \mu\text{m}$  dicke Koronarschnitte angefertigt, die dann mit Kresylviolett (Nissl-Färbung) gefärbt wurden.

## **2.11 Statistische Analyse**

Für die Dokumentation der laufenden Trainingsdaten wurde das Datenbank-Programm Microsoft-Access (Microsoft, Redmond, USA) verwendet. Die grafische Darstellung der Ergebnisse wurde mit Microsoft-Excel (Microsoft, Redmond, USA) und Adobe Illustrator (Adobe Systems Inc., San Jose, USA) erzielt. Für die Datenanalyse wurde zunächst die Software Matlab (The Mathworks Inc., Natick, USA) und anschließend das Statistikprogramm Statistica (Version 7.0, StatSoft Inc., Tulsa, USA) verwendet. Die Greifbewegungen wurden quantifiziert durch den prozentualen Anteil erfolgreicher Greifversuche pro Trainingstag. Sämtliche Zahlenwerte wurden als Mittelwert  $\pm$  Standard Fehler des Mittelwertes bei einem Signifikanzniveau von  $p \leq 0,05$  angegeben. War das in den jeweiligen Analysen berechnete Signifikanzniveau (p-Wert) kleiner oder gleich dem vorgegebenen p-Wert (0,05), dann ist zwischen den jeweiligen Größen ein signifikanter Unterschied nachweisbar. Um den Effekt der Trainingstage auf die Erfolgsrate der Greifversuche zu zeigen, wurde in Statistica „General Linear Models“ benutzt. „Gruppe“ und „Gruppe\*Zeit“ wurden als unabhängige Variablen definiert. Die Leistung am ersten Trainingstag (baseline) wurde ebenfalls als unabhängige Variable gewertet. Der Anteil erfolgreicher Greifbewegungen diente als abhängige Variable.

### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Nachweis über die korrekte Kanülenposition

##### 3.1.1 Injektionen im dorsalen Striatum

Die nach Beendigung der Experimente angefertigten koronaren Hirnschnitte dienten dem Nachweis der korrekt in die Zielregion implantierten Injektionskanülen. Die Kanülen wurden bilateral implantiert.

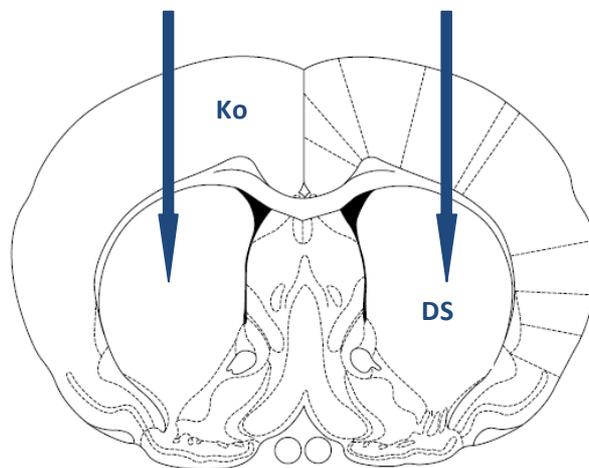


Abb. 5 Position der Kanülen

Diese Abbildung zeigt einen Koronarschnitt des Rattenhirns auf Höhe des dorsalen Striatums (modifiziert nach Paxinos & Watson, 1998). Die Kanülen (Pfeile) durchdringen den Kortex (Ko) und erreichen ihre Endposition im dorsalen Anteil des Striatums (DS).

Die folgende Abbildung zeigt nun ein histologisches Schnittpräparat auf korrespondierender Höhe. Die von den Kanülen verursachte Gewebespur (Pfeile) ist gut zu erkennen.

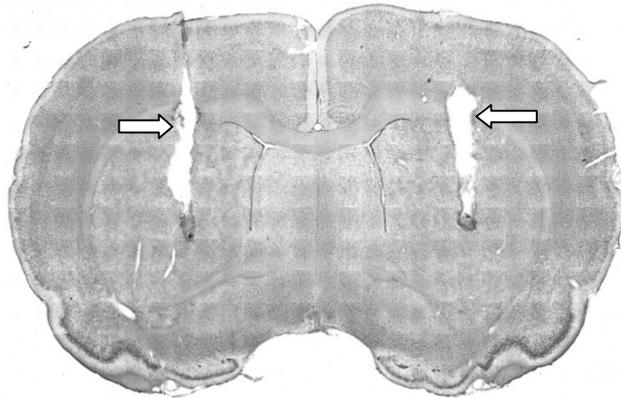


Abb. 6 Gewebespur der Kanülen

### 3.1.2 Injektionen in den präfrontalen Kortex

In dieser Region wurde jeweils nur eine Kanüle implantiert. Dargestellt ist ebenfalls die kontralaterale Hemisphäre.

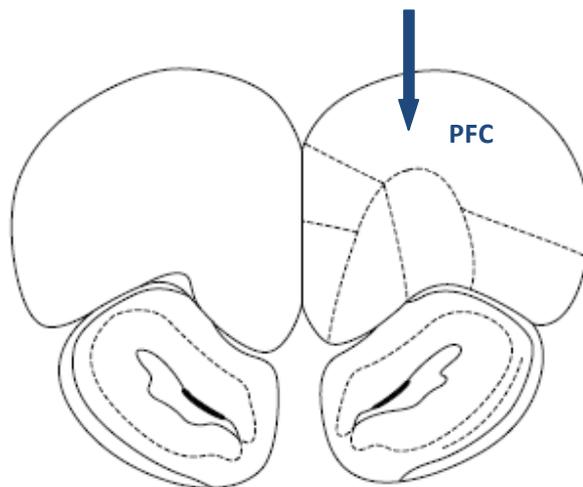


Abb. 7 Position der Kanüle

Diese Abbildung zeigt die Position der Kanüle (Pfeil) in einem Koronarschnitt des Rattenhirns (modifiziert nach Paxinos & Watson, 1998) auf der Höhe des präfrontalen Kortex (PFC).

Diese Abbildung zeigt wieder ein histologisches Schnittpräparat auf korrespondierender Höhe. Die von den Kanülen verursachte Gewebespur (Pfeil) ist wieder gut zu erkennen.

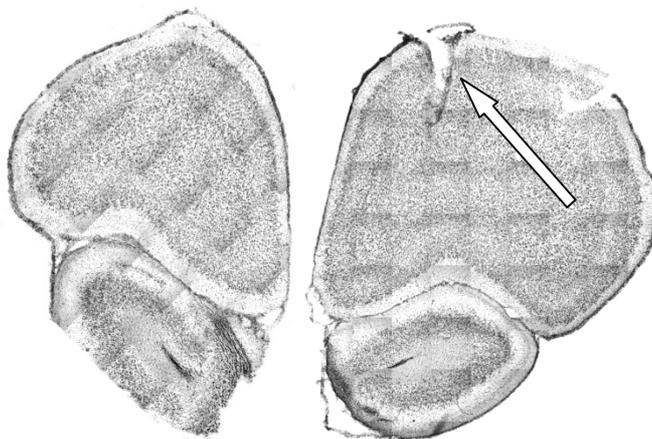


Abb. 8 Gewebespur der Kanüle eines exemplarischen Tieres

## 3.2 Injektionen in das dorsale Striatum

### 3.2.1 Messung des Lernerfolges und Bestimmung der Lernkurve

Siebzehn Tiere gingen in die Auswertung der Versuche im dorsalen Striatum ein. Zehn Tiere erhielten Injektionen mit Racloprid. Sieben Tiere erhielten Kontrollinjektionen mit NaCl-Lösung. Ziel der Versuche war es, herauszufinden, welchen Effekt die Racloprid-Injektionen auf die Trainingsleistung der Tiere haben und ob ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen besteht.

Aus den ermittelten Daten für die „Hits“, also dem korrekten Greifen nach dem Kügelchen mit nachfolgender Zielbewegung zum Maul, errechnet sich eine Lernkurve, die in der folgenden Abbildung dargestellt ist. Die positiven und negativen Fehlerindikatoren zeigen den Standardfehler an. Aus Übersichtsgründen werden die Balken nur in einer Richtung gezeigt. Dargestellt sind die Anzahl erfolgreicher Greifversuche in Prozent.

Die Pfeile zeigen die Injektionen an Tag 2 & 3, jeweils 30 Minuten vor dem Training. Zehn Tiere erhielten Injektionen mit Racloprid, sieben Tiere bekamen Kontrollinjektionen mit NaCl-Lösung.

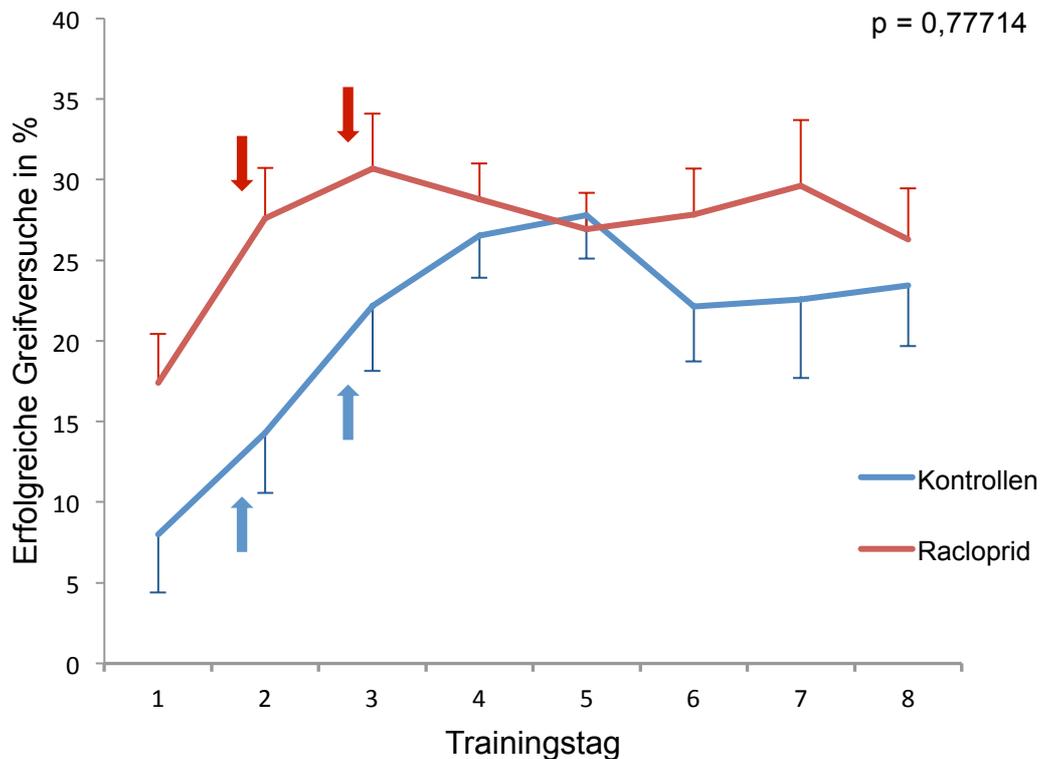


Abb. 9 Injektionen in das dorsale Striatum – Lernkurve

Alle Tiere lernten im Greifversuch, das Kügelchen erfolgreich zu fassen und zum Maul zu führen. Anhand der Lernkurven beider Gruppen können unsere allgemeinen Kriterien für eine typische Lernkurve im Greiftraining nachvollzogen werden: Initialphase (Tag 1), Phase des schnellen Lernens (Racloprid-Gruppe: Tag 2 & 3; Kontrollgruppe: Tag 2 – 4) und Plateau-Phase (Racloprid-Gruppe: Tag 4 – 8; Kontrollgruppe: Tag 5 – 8). Im Folgenden werden die Teilergebnisse (durchschnittliche Anzahl der „Hits“ pro 100 Greifversuche) der beiden Gruppen gegenübergestellt; zunächst im direkten Vergleich zwischen dem ersten und letzten Trainingstag, danach für jeden Tag einzeln. Die Veränderungen in der

Leistung werden absolut und prozentual verglichen. Anschließend werden Konfidenzintervalle und Standardfehler gegenübergestellt.

### Veränderungen insgesamt

	Kontrollen	Raclopid
Hits Tag 1	8,00	17,40
Hits Tag 8	23,43	26,30
Differenz	15,43	8,90
Veränderung	<b>+ 192,86 %</b>	<b>+ 51,15 %</b>

### Veränderungen pro Trainingstag

Hits Tag 1	8,00	17,40
Hits Tag 2	14,29	27,60
Differenz	6,29	10,20
Veränderung	<b>+ 78,57 %</b>	<b>+ 58,62 %</b>

Hits Tag 2	14,29	27,60
Hits Tag 3	22,17	30,70
Differenz	7,88	3,10
Veränderung	<b>+ 55,17 %</b>	<b>+ 11,23 %</b>

Hits Tag 3	22,17	30,70
Hits Tag 4	26,51	28,80
Differenz	4,34	- 1,90
Veränderung	<b>+ 19,59 %</b>	<b>- 6,19 %</b>

Hits Tag 4	26,51	28,80
Hits Tag 5	27,78	26,92
Differenz	1,27	- 1,88
Veränderung	<b>+ 4,77 %</b>	<b>- 6,53 %</b>

Hits Tag 5	27,78	26,92
Hits Tag 6	22,14	27,82
Differenz	- 5,63	0,90
Veränderung	<b>- 20,28 %</b>	<b>+ 3,35 %</b>

Hits Tag 6	22,14	27,82
Hits Tag 7	22,57	29,60
Differenz	0,43	1,78
Veränderung	+ 1,94 %	+ 6,39 %

Hits Tag 7	22,57	29,60
Hits Tag 8	23,43	26,30
Differenz	0,86	- 3,30
Veränderung	+ 3,80 %	- 11,15 %

Abb. 10 Anzahl und Veränderung der „Hits“ im Greifversuch (Mittelwerte)

Kontrollen			Racloprid	
95 % Konfidenzintervall	Standardfehler		Standardfehler	95 % Konfidenzintervall
0,33 - 15,67	3,60	<b>Tag 1</b>	3,01	10,98 - 23,82
6,37 - 22,20	3,71	<b>Tag 2</b>	3,11	20,98 - 34,22
13,58 - 30,76	4,03	<b>Tag 3</b>	3,37	23,51 - 37,89
20,94 - 32,08	2,61	<b>Tag 4</b>	2,18	24,14 - 33,46
22,05 - 33,50	2,69	<b>Tag 5</b>	2,25	22,13 - 31,71
14,84 - 29,44	3,42	<b>Tag 6</b>	2,87	21,71 - 33,93
12,16 - 32,98	4,89	<b>Tag 7</b>	4,09	20,89 - 38,31
15,42 - 31,44	3,76	<b>Tag 8</b>	3,15	19,60 - 33,00

Abb. 11 Injektionen in das dorsale Striatum. Standardfehler und Konfidenzintervalle

Durch meine Experimente wollten wir klären, ob im Kortex appliziertes Racloprid durch mögliche Diffusion in die Basalganglien das motorische Lernen signifikant beeinflusst bzw. dort überhaupt einen Effekt auf die Trainingsleistung hat. Die Experimente im dorsalen Striatum zeigten, dass zwischen der Racloprid-Gruppe und der Kontrollgruppe kein signifikanter Unterschied hinsichtlich des motorischen Lernens gemessen werden konnte (time x group Interaktion:  $F(7,98) = 0,57193$ ,  $p = 0,77714$ ).

Beide Gruppen zeigten eine Lernkurve, die in ein stabiles Plateau (mehrere Tage andauernde relativ konstante Trainingsleistung) übergeht. Man erkennt, dass die Lernkurve der Ratten aus der Racloprid-Gruppe nach oben verschoben ist. Die Tiere lernen das Greifen auf einem höheren Ausgangsniveau.

An Tag 2 – 4, der Phase des intensivsten Lernens, verlaufen beide Kurven annähernd parallel. Die Injektionen am zweiten und dritten Tag zeigen keine hemmende oder anderweitig sichtbare Wirkung auf die motorische Lernleistung der Ratten. Auch in der Plateau-Phase liegt die Lernkurve der Racloprid-Gruppe über der Kontrollgruppe.

Durch die Verblindung und Randomisierung im Versuchsablauf sollten subjektive und objektive Einflußgrößen gleichmäßig auf beide Gruppen verteilt werden. Systematische Verzerrung wie der „Information Bias“ konnte damit weitgehend ausgeschlossen werden und kann nicht als Erklärung für das beobachtete Phänomen herangezogen werden.

Somit läßt sich aus den gewonnenen Daten der Schluß ziehen, dass durch Applikation des Dopamin-Rezeptor-Antagonisten Racloprid keine Hemmung oder Verzögerung des motorischen Lernens gezeigt werden konnte.

### 3.2.2 *Bestimmung der Latenz*

Neben der eigentlichen Trainingsleistung haben wir die beiden Gruppen auch hinsichtlich der Frage untersucht, welchen Einfluss die Injektionen auf den Parameter „Latenz“ haben, gemessen an der Zeit (in Sekunden) zwischen dem

Schließen der Tür und der nächsten Berührung des Sensors an der Rückwand des Käfigs. Diese Latenz haben wir als Parameter bzw. Indikator für die Lernmotivation der Ratten gewertet. Je kürzer also die Zeit zwischen Entfernen des Kügelchens bzw. Türschluß und erneutem manuellen Öffnen der Tür, umso motivierter galt die Ratte, ein neues Kügelchen zu greifen.

Die nachfolgende Abbildung zeigt die Entwicklung der Latenz an den acht Trainingstagen. Ein Tier (ID 1608) wurde als Ausreißer identifiziert und aus der Analyse ausgeschlossen. Die mittlere Latenz dieses Tiers lag am dritten Trainingstag 47,89 Sekunden über der mittleren Latenz (5,96 Sekunden) der übrigen Tiere. Die positiven und negativen Fehlerindikatoren zeigen den Standardfehler an. Die Injektionen werden wieder durch die Pfeile dargestellt. Aus Übersichtsgründen werden die Balken nur in einer Richtung dargestellt.

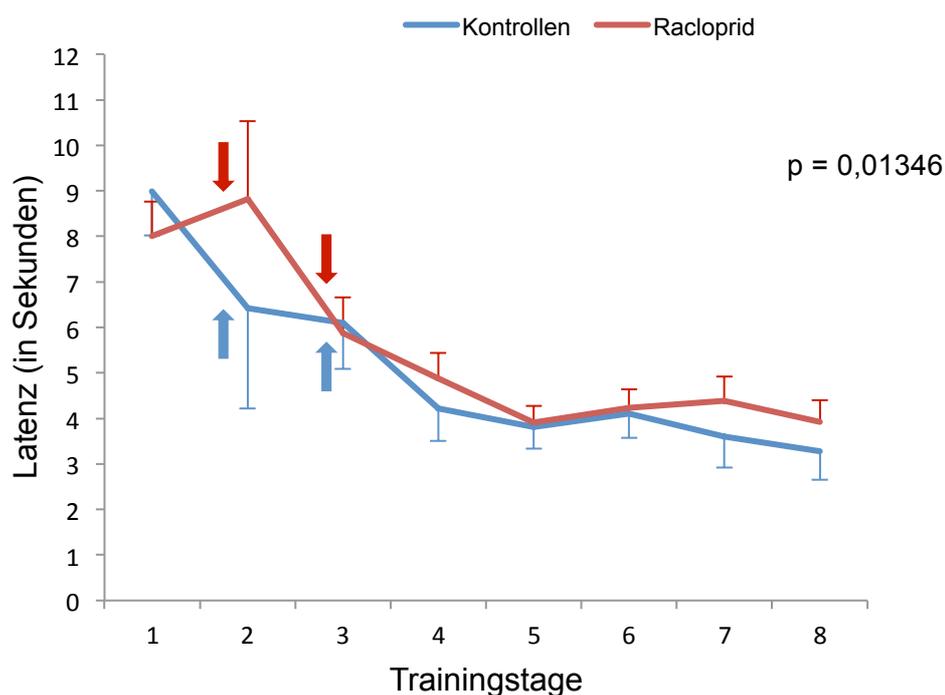


Abb. 12 Injektionen in das dorsale Striatum - Latenz

Wir konnten einen signifikanten Unterschied zwischen der Racloprid- und der Kontrollgruppe hinsichtlich der Latenz über die Zeit feststellen (time x group Interaktion:  $F(7,91) = 2,7094$ ,  $p = 0,01346$ ).

Während die Kontrolltiere vom ersten Trainingstag an kontinuierlich schneller zum Sensor der Rückwand des Käfigs liefen, um erneut die Tür zu öffnen, wurden die Raclopid-Tiere (siehe Abb. 12) am zweiten Tag zunächst deutlich langsamer. Danach nahm die Latenz auch in dieser Gruppe weiter ab.

Im Folgenden werden wieder die Teilergebnisse (durchschnittliche Latenz) der beiden Gruppen gegenübergestellt; zunächst im direkten Vergleich zwischen dem ersten und letzten Trainingstag, danach für jeden Tag einzeln. Die Veränderungen werden wieder absolut und prozentual verglichen.

<b>Veränderungen insgesamt</b>		
	<b>Kontrollen</b>	<b>Raclopid</b>
Latenz Tag 1	8,99 sec	8,00 sec
Latenz Tag 8	3,28 sec	3,92 sec
Differenz	- 5,72 sec	- 4,08 sec
Veränderung	- <b>63,58 %</b>	- <b>51,00 %</b>

<b>Veränderungen pro Trainingstag</b>		
Latenz Tag 1	8,99 sec	8,00 sec
Latenz Tag 2	6,42 sec	8,82 sec
Differenz	- 2,57 sec	0,82 sec
Veränderung	- <b>28,63 %</b>	<b>+ 10,19 %</b>

Latenz Tag 2	6,42 sec	8,82 sec
Latenz Tag 3	6,09 sec	5,88 sec
Differenz	- 0,33 sec	- 2,94 sec
Veränderung	- <b>5,07 %</b>	- <b>33,38 %</b>

Latenz Tag 3	6,09 sec	5,88 sec
Latenz Tag 4	4,22 sec	4,88 sec
Differenz	- 1,87 sec	- 1,00 sec
Veränderung	- <b>30,67 %</b>	- <b>17,01 %</b>

Latenz Tag 4	4,22 sec	4,88 sec
Latenz Tag 5	3,81 sec	3,91 sec
Differenz	- 0,41 sec	- 0,97 sec
Veränderung	- 9,72 %	- 19,84 %

Latenz Tag 5	3,81 sec	3,91 sec
Latenz Tag 6	4,10 sec	4,23 sec
Differenz	0,29 sec	0,32 sec
Veränderung	+ 7,53 %	+ 8,28 %

Latenz Tag 6	4,10 sec	4,23 sec
Latenz Tag 7	3,61 sec	4,39 sec
Differenz	- 0,49 sec	0,16 sec
Veränderung	- 12,06 %	+ 3,75 %

Latenz Tag 7	3,61 sec	4,39 sec
Latenz Tag 8	3,28 sec	3,92 sec
Differenz	- 0,33 sec	- 0,47 sec
Veränderung	- 9,18 %	- 10,68 %

Abb. 13 Veränderungen der Latenz bei Injektionen in das dorsale Striatum

### 3.2.3 Bestimmung der Trainingsdauer

Neben der Trainingsleistung und der Latenz untersuchten wir zuletzt auch die Entwicklung der gesamten Trainingsdauer an den acht Trainingstagen. Auch hier wurde dasselbe Kontrolltier ausgeschlossen. Aus den Daten errechnete sich folgende Grafik:

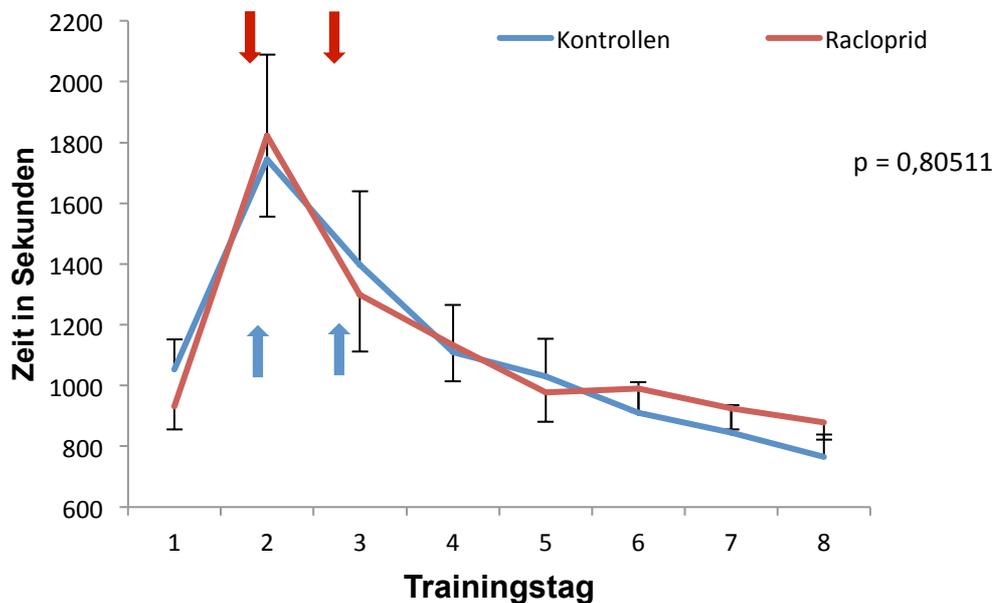


Abb. 14 Gesamt-Trainingsdauer

Beide Gruppen zeigen einen sehr ähnlichen Kurvenverlauf. Die Unterschiede zwischen den Gruppen sind nicht signifikant. Obwohl sich die Latenz beider Gruppen am ersten Injektionstag gegensätzlich entwickelt, wird bei der Gesamt-Trainingsdauer in beiden Gruppen ein starker Anstieg deutlich. Die Trainingsdauer nimmt bei den Kontrollen um 65,49% und bei der Racloprid-Gruppe sogar um 95,97% im Vergleich zum Vortag zu. Da die Trainingszeit in beiden Gruppen sprunghaft ansteigt, können die Effekte nicht durch das Racloprid erklärt werden. Es ist wahrscheinlich die Injektion selbst, die für die deutliche Verlangsamung verantwortlich gemacht werden muss.

Am zweiten Injektionstag werden die Tiere in beiden Gruppen wieder deutlich schneller, die Trainingsdauer nimmt stark ab.

Die nächste Abbildung fasst die kontinuierliche Entwicklung der Trainingszeit an allen Trainingstagen zusammen. Mit Ausnahme der Racloprid-Gruppe an Tag 6 absolvieren die Ratten das Training nach dem zweiten Injektionstag mit einer täglichen Abnahme der Gesamt-Trainingsdauer und erreichen über die gesamte Versuchszeit eine Abnahme der Trainingszeit um 27,41% (Kontrollen) bzw. 5,57% (Racloprid-Gruppe).

### Veränderungen insgesamt

	Kontrollen	Racloprid
Duration Tag 1	17,57 min	15,51 min
Duration Tag 8	12,75 min	14,64 min
Differenz	- 4,81 min	- 0,86 min
Veränderung der Duration	<b>- 27,41 %</b>	<b>- 5,57 %</b>

### Veränderungen pro Trainingstag

Duration Tag 1	17,57 min	15,51 min
Duration Tag 2	29,07 min	30,39 min
Differenz	11,50 min	14,88 min
Veränderung der Duration	<b>+ 65,49 %</b>	<b>+ 95,97 %</b>

Duration Tag 2	29,07 min	30,39 min
Duration Tag 3	23,28 min	21,65 min
Differenz	- 5,79 min	- 8,73 min
Veränderung der Duration	<b>- 19,92 %</b>	<b>- 28,74 %</b>

Duration Tag 3	23,28 min	21,65 min
Duration Tag 4	18,50 min	18,90 min
Differenz	- 4,78 min	- 2,75 min
Veränderung der Duration	<b>- 20,55 %</b>	<b>- 12,72 %</b>

Duration Tag 4	18,50 min	18,90 min
Duration Tag 5	17,15 min	16,29 min
Differenz	- 1,34 min	- 2,61 min
Veränderung der Duration	<b>- 7,26 %</b>	<b>- 13,80 %</b>

Duration Tag 5	17,15 min	16,29 min
Duration Tag 6	15,16 min	16,50 min
Differenz	- 1,99 min	0,21 min
Veränderung der Duration	<b>- 11,60 %</b>	<b>+ 1,32 %</b>

Duration Tag 6	15,16 min	16,50 min
Duration Tag 7	14,07 min	15,43 min
Differenz	- 1,09 min	- 1,07 min
Veränderung der Duration	<b>- 7,19 %</b>	<b>- 6,51 %</b>

Duration Tag 7	14,07 min	15,43 min
Duration Tag 8	12,75 min	14,64 min
Differenz	- 1,32 min	- 0,79 min
Veränderung der Duration	<b>- 9,39 %</b>	<b>- 5,11 %</b>

Abb. 15 Veränderung der Gesamt-Trainingsdauer (Duration)

### 3.3 Injektionen in den präfrontalen Kortex

#### 3.3.1 Messung des Lernerfolges und Bestimmung der Lernkurve

Für die Versuche im präfrontalen Kortex erhielten sechs Tiere Injektionen mit Racloprid. Sechs Tiere erhielten Kontrollinjektionen mit NaCl-Lösung.

Ziel der Versuche war es, den Effekt der Racloprid-Injektionen auf die Trainingsleistung der Tiere zu untersuchen. Aus den ermittelten Daten für die „Hits“ errechneten wir wieder eine Lernkurve, die in der folgenden Abbildung dargestellt ist. Die positiven und negativen Fehlerindikatoren zeigen den Standardfehler an. Aus Übersichtsgründen werden die Balken wieder nur in einer Richtung gezeigt. Die Injektionen werden durch die Pfeile dargestellt.

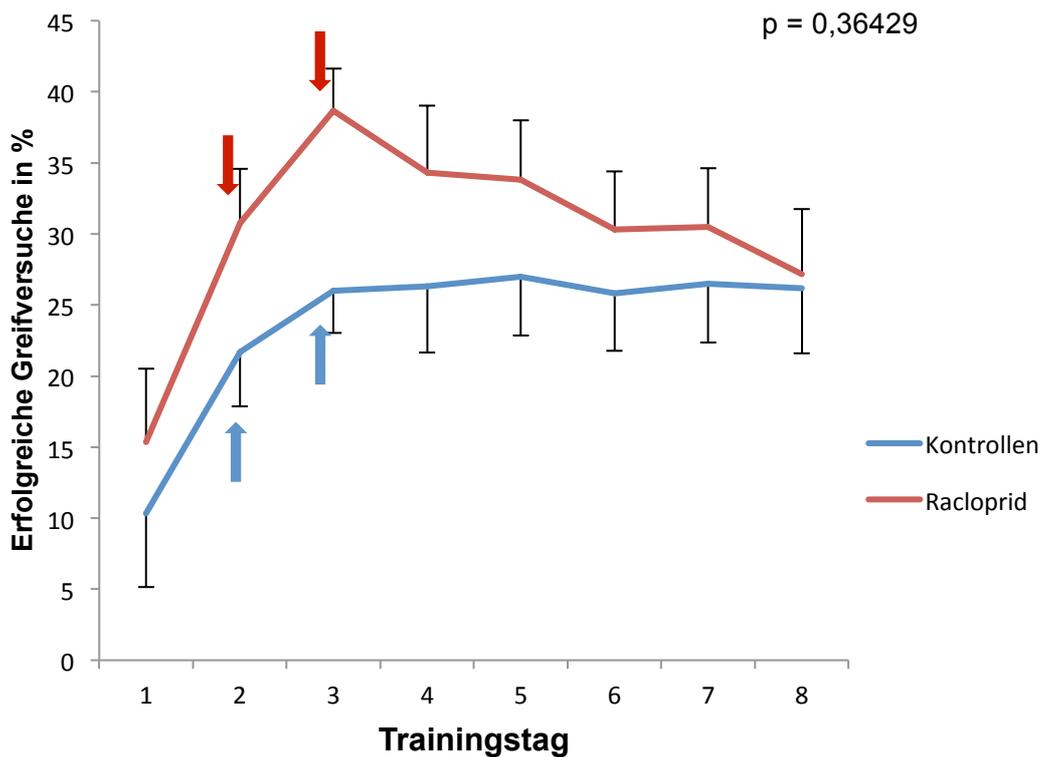


Abb. 16 Injektionen in den präfrontalen Kortex - Lernkurve

Die Unterschiede zwischen beiden Gruppen sind nicht signifikant ( $p = 0,36429$ ). Beide Gruppen verbessern an den ersten drei Tagen kontinuierlich ihre Leistung. Die Anzahl der Hits steigt. Trotz der Injektionen an Tag 2 und 3 steigern beide Gruppen ihre Trainingsleistung um  $>100\%$  (Tag 2) bzw.  $>25\%$  (Tag 3) im Vergleich zum Vortag. Die maximale Anzahl der Hits erreicht die Raclopid-Gruppe am dritten Tag und geht danach in ein Plateau (mehrere Tage andauernde, relativ konstante Trainingsleistung) mit leicht fallenden Werten über. Die Kontrollgruppe erreicht ihre maximale Leistung zwar erst am fünften Tag, geht aber auch bereits am dritten Tag in ein Plateau über.

Interessanterweise liegt die Kurve der Raclopid-Gruppe wie schon bei den Versuchen im dorsalen Striatum von Anfang an oberhalb der Lernkurve der Kontrollgruppe.

Die Resultate im präfrontalen Kortex zeigen, dass die Raclopid-Injektionen keinen hemmenden oder verlangsamenden Effekt auf das motorische Lernen haben. Während der ersten drei Trainingstage, der Phase des intensivsten motorischen Lernens, steigt die Lernkurve unter dem Einfluß der Raclopid-Injektionen kontinuierlich an. Bei einer hemmenden Wirkung hätten wir eine Abflachung der Lernkurve bzw. einen verzögerten Anstieg erwartet. Die motorische Ausführung (Performance) der Greifbewegungen wird durch die Raclopid-Injektionen ebenfalls nicht beeinflusst. In der Kontrollgruppe wirken sich die Injektionen mit NaCl-Lösung ebenfalls nicht stagnierend oder verzögernd auf das Lernen aus. Auch hier steigt die Anzahl der Hits mit jedem Trainingstag bis zum fünften Tag. Die Kurve verläuft allerdings flacher als die der Raclopid-Gruppe und erreicht den Übergang in ein Plateau auf niedrigerem Niveau der Hits. Das Plateau verläuft in der Kontrollgruppe stabiler, die Tiere zeigen eine relativ konstante Trainingsleistung, zwar auf niedrigerem Niveau, aber durchweg bis zum letzten Tag. Die Plateau-Phase der Raclopid-Gruppe verläuft weniger stabil und fällt bis zum Ende des Trainingsprotokolls auf das Niveau der Kontrollgruppe zurück.

Eine genaue Übersicht über die absoluten und relativen Veränderungen im Greiftraining ist in der folgenden Tabelle zusammengestellt.

### Veränderungen insgesamt

	Kontrollen	Raclopid
Hits Tag 1	10,33	15,33
Hits Tag 8	26,17	27,17
Differenz	15,83	11,83
Veränderung	+ 153,23 %	+ 77,17 %

### Veränderungen pro Trainingstag

Hits Tag 1	10,33	15,33
Hits Tag 2	21,67	30,78
Differenz	11,33	15,45
Veränderung	+ 109,68 %	+ 100,73 %

Hits Tag 2	21,67	30,78
Hits Tag 3	26,00	38,67
Differenz	4,33	7,89
Veränderung	+ 20,00 %	+ 25,63 %

Hits Tag 3	26,00	38,67
Hits Tag 4	26,33	34,33
Differenz	0,33	- 4,33
Veränderung	+ 1,28 %	- 11,21 %

Hits Tag 4	26,33	34,33
Hits Tag 5	27,00	33,83
Differenz	0,67	- 0,50
Veränderung	+ 2,53 %	- 1,46 %

Hits Tag 5	27,00	33,83
Hits Tag 6	25,83	30,33
Differenz	- 1,17	- 3,50
Veränderung	- 4,32 %	- 10,34 %

Hits Tag 6	25,83	30,33
Hits Tag 7	26,50	30,50
Differenz	0,67	0,17
Veränderung	+ 2,58 %	+ 0,55 %

Hits Tag 7	26,50	30,50
Hits Tag 8	26,17	27,17
Differenz	- 0,33	- 3,33
Veränderung	- 1,26 %	- 10,93 %

Abb. 17 Anzahl und Veränderung der „Hits“ im Greifversuch

### 3.3.2 Bestimmung der Latenz

Wir haben die Latenz zwischen den Greifversuchen untersucht. In der folgenden Grafik ist die Entwicklung der Latenz an den Trainingstagen dargestellt. Die Pfeile repräsentieren die Injektionen in den Gruppen.

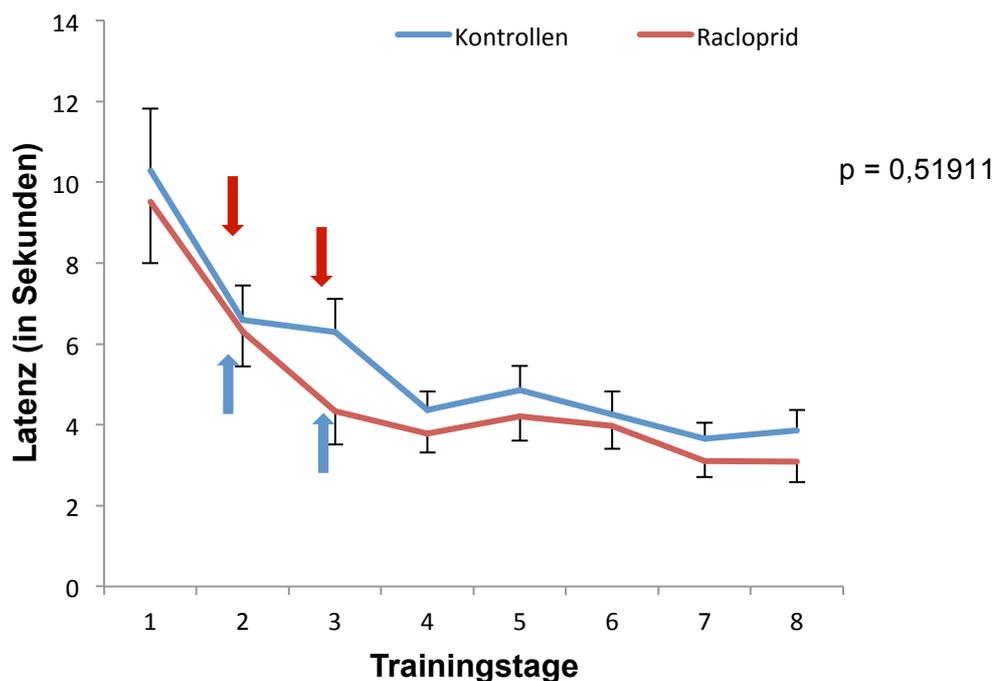


Abb. 18 Injektionen in den präfrontalen Kortex - Latenz

Analog zu den Ergebnissen aus dem dorsalen Striatum konnten wir auch im präfrontalen Kortex eine deutlich abnehmende Tendenz beobachten. Allerdings verhalten sich beide Gruppen annähernd identisch, mit einer Ausnahme am zweiten Injektionstag, wo sich die Latenz der Kontrollgruppe etwas entgegen des gemeinsamen Trends verhält. Am vierten Trainingstag wird ein Plateau erreicht und die Kurve stabilisiert sich auf dem bis dahin erreichten Niveau der Latenz. Die Auswertung ergibt keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen ( $p = 0,51911$ ). Sowohl die Injektionen mit Racloprid als auch die Kontrollinjektionen zeigten keinen nachweisbaren Effekt auf das Verhalten der Tiere. Die folgende Übersicht zeigt die Entwicklung der Latenz für die Injektionen in den präfrontalen Kortex über den gesamten Trainingszeitraum.

### Veränderungen insgesamt

	Kontrollen	Racloprid
Latenz Tag 1	10,30 sec	9,51 sec
Latenz Tag 8	3,86 sec	3,09 sec
Differenz	- 6,44 sec	- 6,42 sec
Veränderung	- <b>62,50 %</b>	- <b>67,53 %</b>

### Veränderungen pro Trainingstag

Latenz Tag 1	10,30 sec	9,51 sec
Latenz Tag 2	6,59 sec	6,31 sec
Differenz	- 3,71 sec	- 3,20 sec
Veränderung	- <b>36,03 %</b>	- <b>33,68 %</b>

Latenz Tag 2	6,59 sec	6,31 sec
Latenz Tag 3	6,29 sec	4,33 sec
Differenz	- 0,30 sec	- 1,98 sec
Veränderung	- <b>4,55 %</b>	- <b>31,34 %</b>

Latenz Tag 3	6,29 sec	4,33 sec
Latenz Tag 4	4,36 sec	3,78 sec
Differenz	- 1,92 sec	- 0,55 sec
Veränderung	- <b>30,60 %</b>	- <b>12,73 %</b>

Latenz Tag 4	4,36 sec	3,78 sec
Latenz Tag 5	4,85 sec	4,21 sec
Differenz	0,49 sec	0,43 sec
Veränderung	+ <b>11,25 %</b>	+ <b>11,37 %</b>

Latenz Tag 5	4,85 sec	4,21 sec
Latenz Tag 6	4,26 sec	3,97 sec
Differenz	- 0,59 sec	- 0,24 sec
Veränderung	- <b>12,17 %</b>	- <b>5,77 %</b>

Latenz Tag 6	4,26 sec	3,97 sec
Latenz Tag 7	3,65 sec	3,11 sec
Differenz	- 0,61 sec	- 0,86 sec
Veränderung	- <b>14,41 %</b>	- <b>21,69 %</b>

Latenz Tag 7	3,65 sec	3,11 sec
Latenz Tag 8	3,86 sec	3,09 sec
Differenz	0,21 sec	- 0,02 sec
Veränderung	+ <b>5,83 %</b>	- <b>0,56 %</b>

Abb. 19 Veränderungen der Latenz bei Injektionen in den präfrontalen Kortex

### 3.3.3 Bestimmung der Trainingsdauer

Die Entwicklung der Trainingsdauer im präfrontalen Kortex weist wie die Latenz Analogien zu den Resultaten im Striatum auf. Der Verlauf wird in der folgenden Grafik deutlich:

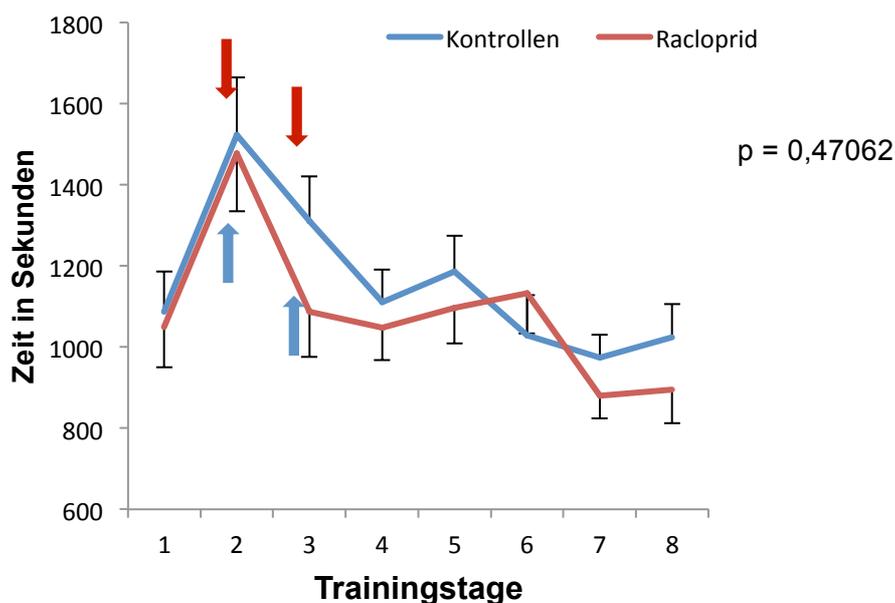


Abb. 20 Gesamt-Trainingsdauer

Die Gruppenunterschiede sind nicht signifikant ( $p = 0,47062$ ).

Am ersten Injektionstag steigt auch hier die Trainingsdauer in beiden Gruppen sprunghaft an. Sie benötigen für das Training ca. 40% länger als am ersten Trainingstag. Die Verlangsamung kann hier ebenfalls nicht auf die Raclopid-Injektion zurückgeführt werden, da auch die Kontrollgruppe diesen Effekt aufweist. Schon am zweiten Injektionstag fällt die Raclopid-Gruppe wieder annähernd auf das Anfangsniveau zurück. Auch in der Kontrollgruppe nimmt die Trainingsdauer wieder ab. Der weitere Verlauf der Zeitkurve ist uneinheitlich. In beiden Gruppen nimmt die Trainingszeit tendenziell weiter ab, jedoch fluktuiert die Zeitkurve stärker als bei den Versuchen im Striatum. Die folgende Übersicht fasst die einzelnen Veränderungen noch einmal zusammen.

### Veränderungen insgesamt

	Kontrollen	Racloprid
Duration Tag 1	18,12 min	17,49 min
Duration Tag 8	17,06 min	14,92 min
Differenz	- 1,06 min	- 2,57 min
Veränderung der Duration	- 5,83 %	- 14,69 %

### Veränderungen pro Trainingstag

Duration Tag 1	18,12 min	17,49 min
Duration Tag 2	25,38 min	24,63 min
Differenz	7,26 min	7,14 min
Veränderung der Duration	+ 40,05 %	+ 40,81 %

Duration Tag 2	25,38 min	24,63 min
Duration Tag 3	21,83 min	18,12 min
Differenz	- 3,54 min	- 6,51 min
Veränderung der Duration	- 13,96 %	- 26,42 %

Duration Tag 3	21,83 min	18,12 min
Duration Tag 4	18,52 min	17,47 min
Differenz	- 3,31 min	- 0,65 min
Veränderung der Duration	- 15,16 %	- 3,59 %

Duration Tag 4	18,52 min	17,47 min
Duration Tag 5	19,77 min	18,28 min
Differenz	1,25 min	0,81 min
Veränderung der Duration	+ 6,75 %	+ 4,61 %

Duration Tag 5	19,77 min	18,28 min
Duration Tag 6	17,15 min	18,88 min
Differenz	- 2,63 min	0,60 min
Veränderung der Duration	- 13,28 %	+ 3,30 %

Duration Tag 6	17,15 min	18,88 min
Duration Tag 7	16,23 min	14,67 min
Differenz	- 0,92 min	- 4,21 min
Veränderung der Duration	- 5,34 %	- 22,31 %

Duration Tag 7	16,23 min	14,67 min
Duration Tag 8	17,06 min	14,92 min
Differenz	0,83 min	0,25 min
Veränderung der Duration	+ 5,12 %	+ 1,73 %

Abb. 21 Veränderung der Gesamt-Trainingsdauer (Duration)

## 4 Diskussion

### 4.1 Ausbreitung von Racloprid im Gewebe

Unser Ziel war es, zu prüfen, ob die direkte D2-Rezeptorblockade im dorsalen Striatum und präfrontalen Kortex zu einer signifikanten Hemmung des motorischen Lernens führt. Wir konnten zuvor in einer in vivo PET-Studie zeigen, dass radioaktiv markiertes [11C]Racloprid, welches wir als Tracer intrakortikal injizierten, nur in einem sehr kleinen Areal um die Spitze der Injektionsnadel ( $\sim 0,5 \text{ mm}^3$ ) nachweisbar und eine Diffusion in andere Hirnareale damit unwahrscheinlich ist. Da trotz gleichen Injektionsvolumens die Konzentration von Racloprid in unseren Verhaltensexperimenten 1000-fach höher war als in dem PET-Experiment, könnte die Substanz durch die höhere Konzentration möglicherweise vom Motorkortex in die Basalganglien und den präfrontalen Kortex diffundieren und lokal eine Konzentration erreichen, die ausreichen könnte, um ein Lerndefizit zu produzieren. Meine Versuche sollten Klarheit darüber vermitteln, ob eine mögliche Diffusion von Racloprid aus dem Motorkortex in diese Regionen verantwortlich für die in früheren Experimenten unserer Arbeitsgruppe gezeigte temporäre Hemmung des motorischen Lernens nach Gabe von Racloprid im Motorkortex [77] sein könnte.

Da jegliches motorische Lernen das intakte Funktionieren von Motorik voraussetzt, würden allgemeine Effekte des injizierten Racloprids auf die Ausführung von Bewegungen natürlich auch das motorische Lernen verhindern bzw. beeinträchtigen. Selbst bei vorhandener Fähigkeit, zu lernen, wäre die motorische Lernkurve dann abgeflacht als Zeichen insuffizienter motorischer Fertigkeiten. Unsere Arbeitsgruppe konnte durch Racloprid-Injektionen nach erfolgreichem Abschluß des motorischen Lernens zeigen, dass die reine Ausführung von bereits gelernten Bewegungen durch Racloprid nicht beeinflusst wird [77]. Diese Erkenntnis ist eine wichtige Grundlage und Voraussetzung meiner Versuche gewesen.

Die temporäre Blockade von D2-Rezeptoren im dorsalen Striatum und präfrontalen Kortex durch Injektion von Racloprid hat zu keiner Hemmung des motorischen Lernens geführt. Wie kann dieses Ergebnis nun gewertet werden?

Die Ergebnisse zeigen, dass das dorsale Striatum und der präfrontale Kortex über D2-Rezeptoren nicht an der Formation eines motorischen Gedächtnisses beteiligt zu sein scheinen. Trotz kompletter temporärer Blockade der Rezeptoren lernen die Ratten während des Injektionszeitraumes, bilden analog zu den Kontrolltieren eine Lernkurve aus und erreichen ein stabiles Plateau.

Da eine ungenaue Lage der Injektionskanülen ein falsch negatives Ergebnis hervorrufen kann, dienten die histologischen Hirnschnitte, die ich von jedem Tier angefertigt habe, als Kontrolle für die anatomisch korrekte Position. Der histologische Nachweis war für alle Schnitte positiv. Die Kanülenspitze befand sich sowohl im dorsalen Striatum als auch im präfrontalen Kortex durchweg an der korrekten Position. Dadurch konnten falsch negative Ergebnisse, bedingt durch Lage der Kanülen außerhalb der Zielregion, erfolgreich ausgeschlossen werden.

Die Ausbreitung von Racloprid im Gewebe hängt auch von der Injektionsgeschwindigkeit ab. Eine zu rasche Infusion könnte die Substanz daher in umliegende Strukturen drücken. Um dies zu verhindern und eine gleichmäßig langsame Injektion zu gewährleisten, habe ich ein automatisiertes Injektionsverfahren mit Hilfe einer speziellen Pumpe benutzt. Aus Versuchen, die mit einer Färbelösung im Kortex und Kleinhirn durchgeführt wurden, wissen wir außerdem, dass die lokale Ausbreitung ca. 2 mm im Durchmesser beträgt [68]. Da der Durchmesser des dorsalen Striatums ungefähr 5 mm beträgt und wir das oben beschriebene Ausbreitungsmuster auch für die Basalganglien zugrunde legten, gingen wir davon aus, dass die verabreichten Substanzen tatsächlich nur im dorsalen Striatum verblieben und umgebene Strukturen nicht erreicht wurden.

Eine weitere Möglichkeit für falsch negative Ergebnisse besteht grundsätzlich auch durch eine zu geringe oder gar fehlende Wirksamkeit der verabreichten

Substanzen. Beschädigung oder Verlust der pharmakologischen Eigenschaften durch falsche Aufbewahrung oder auch eine Verwendung in zu geringer Konzentration kommen als Ursache in Frage. Ich habe für meine Versuche ausschließlich Racloprid desselben Herstellers und in identischer Aufbereitung und Konzentration verwendet, wie es schon in den Versuchen im Motorkortex zum Einsatz kam. Aus diesem Grund halte ich falsch negative Ergebnisse, die durch die verabreichten Substanzen bedingt sind, für extrem unwahrscheinlich. Auch ein zu kleines Volumen, das im Zielgewebe erreicht wird, könnte eine mögliche Ursache für falsch negative Ergebnisse sein. Gegen diese Möglichkeit sprechen die Ergebnisse aus einem früheren Experiment unserer Arbeitsgruppe, in dem unter Verwendung des gleichen Injektionsprotokolls über intrastriatale Kanülen eine signifikante Lernhemmung im dorsalen Striatum durch den Proteinsynthesehemmer Anisomycin gezeigt werden konnte [126].

Wie jedes Experiment, das mit Tieren durchgeführt wird, so ist auch in meinen Versuchen zu berücksichtigen, dass die Tagesform der Tiere trotz aller Maßnahmen zur Standardisierung des Ablaufes Schwankungen unterliegt. Aufgrund der zeitlichen Dimension der Versuche war es unumgänglich, Tiere unterschiedlicher Elternpaare zu benutzen. Wir haben dennoch versucht, diesen Einfluß so weit wie möglich zu minimieren.

## **4.2 Injektionen in das dorsale Striatum**

Das motorische Lernen ist ein sehr komplexer Vorgang, an dem Prozesse beteiligt sind, die zur Akquisition und Konsolidierung des Erlernten führen.

Konsolidierung findet schon früh zwischen den Trainingssitzungen statt [12, 67, 127]. Die Speicherung der erlernten und perfektionierten Bewegungssequenz im Langzeitgedächtnis steht am Ende dieses Prozesses, wobei über die genaue Art und Weise, sowie den Ort des motorischen Langzeitgedächtnisses immer noch Unklarheit besteht. An der Kontrolle von Motorik sind die neuronalen Schaltkreise der Basalganglien neben kortikalen und zerebellären Einflüssen ganz wesentlich beteiligt [41]. Mediale und laterale Anteile des

dorsalen Striatums sind an der Ausführung von erlernten Greifübungen beteiligt [129]. Die Freisetzung von Dopamin im dorsalen Striatum wird assoziiert mit sensomotorischer Koordination und der Selektion möglicher Handlungen [99]. Ouchi et al. haben in einer PET-Studie mit [<sup>11</sup>C]Racloprid gezeigt, dass nach einer einfachen definierten motorischen Übung bei gesunden Probanden im kontralateralen dorsalen Striatum eine signifikante Dopamin-Ausschüttung stattfindet [87].

Lokale Effekte von Racloprid-Injektionen im dorsalen Striatum sind im Hinblick auf das motorische Lernen bisher nicht ausführlich beschrieben worden.

In zwei früheren Verhaltensexperimenten unserer Arbeitsgruppe zum motorischen Lernen haben wir die Wirkung von Proteinsynthese-Hemmern auf das motorische Lernen bei Ratten durch Injektionen von Anisomycin (ANI) in den primär motorischen Kortex und das dorsale Striatum untersucht [68, 126]. In beiden Regionen hat die Gabe von ANI ein signifikantes Lerndefizit produziert, das sich nach Restaurierung der Proteinsynthese wieder normalisierte. Beide Versuche haben demonstrieren können, dass in den Ruhephasen zwischen den einzelnen Trainingstagen Proteine synthetisiert werden, die sowohl im Motorkortex [68] als auch dorsalen Striatum [126] eine Voraussetzung für motorisches Lernen sind. Im dorsalen Striatum normalisierte sich das Lernen nach Beendigung der Injektionen mit ANI deutlich schneller als im Motorkortex [126]. Ungeklärt ist, welche Proteine und in welchem Umfang an den Prozessen der neuronalen Plastizität im dorsalen Striatum beteiligt sind.

Wenn man die Lernkurve beider Gruppen an den zwei Injektionstagen miteinander vergleicht, dann erscheint die leicht höhere Trefferquote der Racloprid-Gruppe überraschend und zunächst wenig plausibel. Die Lernkurve der Racloprid-Gruppe liegt zwar schon am ersten Trainingstag oberhalb der Kontrollen, dennoch ist folgende Überlegung zumindest denkbar:

Könnte die Blockade von D2-Rezeptoren, die im Motorkortex ein signifikantes Lerndefizit produziert hat [77], im dorsalen Striatum das motorische Lernen begünstigen? Whishaw et al. haben zwei interessante Beobachtungen

hinsichtlich der Relevanz des Injektionsortes in Bezug auf das Greiftraining bei Ratten gemacht. Neurotoxische Läsionen im lateralen Striatum hemmten die Erfolgsrate im Vorderarm Greiftraining, während mediale Läsionen die Erfolgsrate im Greiftraining sogar erhöhten [129] und damit Hinweise aus meinen Injektionen mit Racloprid stärken. Die Koordinaten für die medialen Läsionen entsprechen einem Zielgebiet, das im Vergleich zu unseren Injektionen in das dorsale Striatum geringfügig weiter medial liegt und sowohl in der anterior-posterior (AP) Ebene als auch in der Tiefe ein etwas größeres Gebiet umfasst, unsere Koordinaten aber mit einschließt. Hinweise für diese Verbesserung im Greiftraining kommen aus Arbeiten, die das Vorhandensein paralleler Gedächtnissysteme und das simultane Verarbeiten von Informationsprozessen in diesen Systemen beschreiben, wenn eine Aufgabe erlernt wird [130]. Diese Prozesse können kooperativ und kompetitiv interagieren. Die Autoren vermuten, dass bei einer kompetitiven Interaktion zwei verschiedene Systeme unterschiedliches Verhalten hervorrufen würden. Ein Schaden in einem der Systeme, könnte das entsprechende konkurrierende Verhalten fördern, da nun der Verhaltenskonflikt entfällt [21, 73]. Whishaw et al. ziehen daraus den Schluß, dass bei einem Schaden im medialen Striatum, dem auch räumliche Funktionen zugeschrieben werden [34], der konkurrierende Einfluß dieser Funktion auf die lateralen Regionen entfällt, und dadurch indirekt das Greifen verbessert wird [129].

Levesque et al. haben an Primaten gezeigt, dass Racloprid das Lernen einer neuen Bewegungssequenz signifikant verändert und die Gruppierung von Bewegungen in eine gerichtete und koordinierte Handlungssequenz beeinträchtigt. Dadurch bestärken sie vorhandene Hinweise, dass Dopamin über D2-Rezeptoren an der Konsolidierung von Bewegungen und ihrer Überführung in eine harmonische Sequenz beteiligt ist [61, 121]. Andere Autoren sehen im dorsalen Striatum den Teil der Basalganglien, der an der Speicherung und auch Bereitstellung von erlernten motorischen Programmen beteiligt ist [73, 88].

Gengler et al. haben die Effekte von Sulpirid, einem im Vergleich zu Racloprid stärkeren D2-Rezeptor-Antagonisten, auf das Verhalten von Ratten in einem

speziellen Raumtest (4-arm maze task) nach Injektion in das dorsale Striatum untersucht und dabei eine beeinträchtigte Leistung und erhöhte Fehlerquoten während des Trainings zeigen können [37]. Da hier jedoch nicht das motorische Lernen selbst, sondern vielmehr die Ausführung komplexer Übungen untersucht wurde, sind Rückschlüsse auf unsere Ergebnisse fraglich bzw. nur bedingt möglich. In meinen Experimenten wurde der D2-Antagonist in der intensiven Phase des motorischen Lernens verabreicht, ohne dass negative Effekte zu beobachten waren.

Während des Greiftrainings haben wir auch die Latenz zwischen dem Schließen der Käfigtür und der nächsten Berührung des Türsensors gemessen. Dies galt auch schon in vorherigen Experimenten unserer Arbeitsgruppe als Indikator dafür, wie gut die Ratte die Aufgabe verstanden hat und wie sie sich im Käfig zurechtfindet [12]. Somit äußert sich neben der rein motorischen Geschicklichkeit auch die allgemeine Motivation der Ratte in einer Veränderung der Latenz. An der folgenden Gegenüberstellung der Latenzen an beiden Injektionsorten erkennt man, dass beide Gruppen zu Beginn der Trainingstage recht lange brauchen, um nach dem Schließen der Tür wieder an das hintere Käfigende zu laufen und erneut den Sensor für die Türöffnung zu berühren. Im Verlauf der Trainingstage verkürzte sich diese Zeit für beide Gruppen um durchschnittlich 61,15%.

<b>Präfrontaler Kortex</b>	<b>Kontrollen</b>	<b>Raclopid</b>
Latenz Tag 1	10,30 sec	9,51 sec
Latenz Tag 8	3,86 sec	3,09 sec
Differenz	- 6,44 sec	- 6,42 sec
Veränderung	- <b>62,50 %</b>	- <b>67,53 %</b>

<b>Dorsales Striatum</b>	<b>Kontrollen</b>	<b>Raclopid</b>
Latenz Tag 1	8,99 sec	8,00 sec
Latenz Tag 8	3,28 sec	3,92 sec
Differenz	- 5,72 sec	- 4,08 sec
Veränderung	- <b>63,58 %</b>	- <b>51,00 %</b>

Abb. 22 Vergleich der Latenzen an beiden Injektionsorten

Vergleicht man die Latenzen beider Injektionsorte an den Tagen, an denen injiziert wurde, dann wird deutlich, dass am ersten Injektionstag signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen im dorsalen Striatum bestehen, während sich die Gruppen im präfrontalen Kortex nicht unterscheiden. Bei dieser isolierten Betrachtung bestehen also wesentliche Unterschiede zwischen dem dorsalen Striatum und dem präfrontalen Kortex. Am zweiten Injektionstag sowie dem Folgetag sind wieder annähernd identische prozentuale Veränderungen der Gruppen an beiden Injektionsorten zu beobachten.

Ein Grund für die zunächst in beiden Gruppen verlängerte Latenz könnte die Abwesenheit der regelmäßigen Belohnung vom Untersucher in Form der manuellen Futter-Kügelchen und eine daraus resultierende geringere Motivation der Ratte sein. Die Fähigkeit, korrekt zu greifen, ist noch nicht optimal erlernt. Im Laufe des Trainings wird der Greifprozess immer besser beherrscht, die Ratte wird dadurch immer öfter belohnt und läuft schneller zurück zur Hinterwand des Käfigs. An den Injektionstagen mit Racloprid kam es nun im Vergleich zur Kontrollgruppe zu einer signifikanten Verlängerung der Latenz. Die Ratten brauchten wesentlich länger, um sich von der Tür zur Rückwand des Käfigs zu bewegen. Wir sehen in dieser Verlangsamung einen Effekt des Dopamin-Antagonisten, der einer Bewegungsverlangsamung (Akinese) wie beim Parkinson-Syndrom ähnlich ist.

Schon lange ist bekannt, dass Dopamin-Antagonisten einen hemmenden Einfluß auf Bewegung und Verhalten haben [25, 106]. Bradykinese ist dabei ein typisches Dopaminmangel-Symptom und kann sowohl medikamentös [9, 29] als auch durch Störungen in dopaminergen Bahnen bedingt sein [9, 72, 84].

Im Falle des Parkinson-Syndroms führt der progressive Verlust dopaminerge Neurone zu einem massiven Dopaminmangel im Striatum und den für dieses Syndrom charakteristischen hypokinetischen motorischen Defiziten [58].

Baunez et al. haben in einem Verhaltensexperiment mit Ratten gezeigt, dass es ein kritisches Maß an dopaminerge Aktivität im Striatum gibt. Nach systemischer Gabe von Racloprid kam es in einem motorischen Test, bei dem die Tiere einen Hebel betätigen und erst nach Erscheinen eines Lichtsignals wieder loslassen dürfen, zu einer signifikant verlängerten Latenz mit

verlängerten Reaktionszeiten und verzögerten motorischen Reaktionen. Diese Verzögerungen könnten Ausdruck einer motorischen Beeinträchtigung bzw. Schwäche sein [7].

Baunez et al. haben Racloprid in ihren Versuchen systemisch appliziert und nicht direkt in das dorsale Striatum injiziert. Die beobachtete Wirkung kann daher auf Effekten an verschiedenen Stellen des dopaminergen Systems beruhen. Dennoch gehen die Autoren von davon aus, dass die Effekte von Racloprid auf die Motorik durch Wirkung an D2-Rezeptoren im dorsalen Striatum hervorgerufen wurden. Diese Ansicht wurde in einem Verhaltensexperiment von Pretsell et al. bestätigt. Nach lokaler Racloprid Applikation in das Striatum konnte eine Verlängerung der Reaktionszeit gezeigt werden [93].

In meinem Experiment zeigten die Ratten während der Racloprid-Injektionen trotz signifikant verlängerter Latenz keine Einbrüche im motorischen Lernen. Eine mögliche Erklärung für diese interessante Beobachtung könnte die starke Konditionierung auf den Futterreiz sein. Die Türöffnung als Stimulus hat vermutlich so starke motivationale Eigenschaften, dass die Aussicht auf das Futter-Kügelchen für die Ratte einen Anreiz darstellt, der stark genug ist, die Bradykinese zu kompensieren. Hinweise für einen solchen Mechanismus kommen unter anderem von Horvitz et al. [43]. Seit langem weiß man, dass die verhaltensassoziierten Symptome von Parkinson Patienten stärker ausgeprägt sind, wenn eine Handlung durch innere Motivation initiiert wird, und entsprechend schwächer sind, wenn Patienten starken externen Startreizen ausgesetzt sind [59].

Miklyeva et al. haben die Wirkung von 6-Hydroxydopamin (6-OHDA) auf das motorische Verhalten von Ratten untersucht und gezeigt, dass Dopamin notwendig für komplexe Greifbewegungen ist. Ratten, die nach Injektionen mit 6-OHDA in die Basalganglien einseitig einen fast vollkommenen Dopaminverlust zeigten, wiesen kontralateral erhebliche motorische Einschränkungen in der Ausführung von Greifbewegungen auf [75]. Daher

würde man auch mit Raclopid im Striatum negative Effekte auf die Greifbewegungen oder das Lernen erwarten.

Die Konzentration an 6-OHDA, die dabei verwendet wurde, betrug 8 µg. Das Injektionsvolumen betrug entsprechend 4 µl, dem achtfachen Volumen im Vergleich zu unseren Injektionen im Motorkortex, PFC und Striatum.

Im Gegensatz zu Miklyaeva et al. habe ich lediglich einen reversiblen Dopamin-Antagonisten speziell für D2-Rezeptoren verwendet und nur in das dorsale Striatum injiziert. Miklyaeva et al. erzielten Effekte, die auf der irreversiblen Wirkung eines Neurotoxins basierten und aufgrund der Injektionsmethodik große Gewebeanteile der Basalganglien beeinflussten. Unsere Injektionen wirkten durch geringere Konzentration und Volumen (0,5 µl) jedoch nur sehr umschrieben an der Injektionsstelle und breiten sich, wie bereits beschrieben, kaum über diesen Ort hinaus auf umliegende Strukturen aus.

In der Literatur ließen sich keine Hinweise bezüglich den von mir beobachteten lokalen Effekten von Raclopid hinsichtlich des motorischen Lernens finden.

Die beobachtete Verlängerung der Latenzen kann im Sinne einer motorischen Hemmung interpretiert werden und findet Bestätigung in den diskutierten Experimenten oben genannter Arbeitsgruppen.

### **4.3 Injektionen in den präfrontalen Kortex**

Die Injektionen mit Raclopid zeigten keine das motorische Lernen hemmenden bzw. verlangsamenden Effekte. Unterschiede zwischen den Gruppen waren zu keinem Zeitpunkt signifikant. Vom ersten bis zum letzten Trainingstag lag die Lernkurve der Raclopid-Gruppe jedoch oberhalb der Kurve der Kontrollen. Während sich die Kontrolltiere in der Anzahl der „Hits“ vom ersten zum letzten Tag um 153% steigern, liegt die Steigerungsrate der Raclopid-Gruppe nur bei ca. 77%. Allerdings ist das Ausgangsniveau hier höher.

Dopaminerge Projektionen aus der Area tegmentalis ventralis (VTA) in den präfrontalen Kortex sind anatomisch-funktionell detailliert beschrieben worden.

Der Einfluß dieser Projektionen auf motorische Funktionen ist ebenfalls anerkannt [18, 40].

Die einzelnen Subtypen der Dopamin-Rezeptoren sind an verschiedenen Funktionen im präfrontalen Kortex beteiligt. Während D1-Rezeptoren ihre Hauptfunktion im Arbeitsgedächtnis haben, vermitteln sie zusammen mit D2-Rezeptoren Effekte der Verhaltensflexibilität und sind involviert in Entscheidungsprozessen [33].

Die Arbeitsgruppe um Rinaldi et al. hat den Einfluß von D1- und D2-Antagonisten auf das räumliche Lernen von Mäusen untersucht. Dabei führte die bilaterale Injektion beider Antagonisten in den PFC zu einer selektiven Hemmung der Diskriminationsfähigkeit im Raum [95]. Eine Beteiligung dieser Region an räumlichen Lernvorgängen konnte bestätigt werden.

Die Netzwerke im präfrontalen Kortex übernehmen wichtige Funktionen für das Arbeitsgedächtnis und regulieren hochspezialisierte motorische Funktionen von Verhalten, Motivation und Kognition [24, 62, 133].

Dopamin hat im präfrontalen Kortex modulierende Funktionen und agiert weder rein exzitatorisch noch inhibitorisch. Dennoch gibt es bisher keine eindeutige Vorstellung über die Rolle von Dopamin im präfrontalen Kortex [115].

Im PFC kommt es experimentellen Daten zufolge zu einer Integration von Informationen des sensorischen und limbischen Systems. Über cortico-striatale Regelkreise vermittelt der PFC dann Effekte, die ein zielgerichtetes Verhalten steuern [100, 123]. Die Arbeitsgruppe um Arco et al. hat die Effekte von D2-Rezeptor-Agonisten im PFC auf die Dopaminkonzentration im Nucleus accumbens (NAc, vorderer Abschnitt des Striatums) des Rattenhirns untersucht und eine inhibitorische Funktion von präfrontalen D2-Rezeptoren demonstriert. Nach Stimulation (bilaterale Mikroinjektionen) dieser Rezeptorgruppe kam es im Nucleus accumbens zu einer reduzierten Freisetzung von Dopamin und Acetylcholin [17]. In einem weiteren Experiment dieser Arbeitsgruppe führte die Aktivierung von D2-Rezeptoren im PFC weiterhin zu einer reduzierten spontanen motorischen Aktivität der Ratte im freien Raum [19]. Unklar ist laut Einschätzung der Autoren allerdings, über welche Mechanismen und

Nervenbahnen diese Effekte zustande kommen. Auch wenn Rückschlüsse auf die motorische Lernleistung der von mir injizierten Ratten an dieser Stelle hypothetisch sind, wären die höhere Anzahl der Hits der Ratten während der Racloprid Injektionen durchaus vereinbar mit einer insgesamt erhöhten motorischen Aktivität.

Die Erkenntnisse, die ich aus dem dorsalen Striatum als auch präfrontalen Kortex gewonnen habe, lassen einige abschließende Bemerkungen zu:

Motorisches Lernen findet trotz temporärer Blockade von D2-Rezeptoren in diesen beiden Regionen statt. Das höhere Lernniveau der Racloprid-Gruppe im präfrontalen Kortex könnte Ausdruck einer erhöhten motorischen Aktivität sein, während die signifikante Erhöhung der Latenz in der Racloprid-Gruppe im dorsalen Striatum im Sinne einer dem Parkinson-Syndrom ähnlichen Akinese als Ausdruck motorischer Hemmung betrachtet werden könnte. In früheren Experimenten unserer Arbeitsgruppe haben wir eine temporäre Hemmung des motorischen Lernens nach Gabe von Racloprid im Motorkortex gezeigt [77]. Meine Experimente konnten bestätigen, dass die Effekte im Motorkortex lokale Phänomene sind und nicht durch Effekte in den von mir untersuchten Regionen zu erklären sind. Diese Ergebnisse untermauern damit die Relevanz dopaminerger Transmission im Motorkortex für motorisches Lernen [30, 32] ebenso wie die positive Rolle systemischer Dopaminapplikation (in Form der Vorstufe Levodopa) bei der Regeneration motorischer Fertigkeiten nach einem Schlaganfall [31, 113].

Implikationen für klinische Anwendungen liegen folglich sehr nahe. Pharmakologische Therapien, die das dopaminerge System verstärken, sind für die Neurorehabilitation nach einem Schlaganfall ein viel versprechender Ansatz. Aufgrund des altersbedingten Nachlassens dopaminerger Hirnaktivität [124] und der Tatsache, dass die überwiegende Anzahl der Schlaganfall-Patienten älter als 50 Jahre ist [20, 27], wird die „Enhancement-Strategie“ für diese Patientengruppe von besonderer Relevanz sein.

## 5 Zusammenfassung

Der primär motorische Kortex und das dorsale Striatum übernehmen wichtige Funktionen beim motorischen Lernen und unterliegen dabei plastischen Modifikationen. Trotz genauer anatomischer Beschreibung gibt es über die Funktion dopaminerger Projektionen in den Motorkortex noch keine gesicherten Erkenntnisse. Bei einer Blockade des dopaminergen Systems im Motorkortex findet kein motorisches Lernen statt. Meine Experimente sollten die Frage beantworten, ob durch eine Blockade der D2-Rezeptoren im dorsalen Striatum und präfrontalen Kortex eine Hemmung des motorischen Lernens beobachtet werden kann, wie wir sie im Motorkortex zeigen konnten.

Mittels eines etablierten Modells haben die Ratten der Kontroll- und Racloprid-Gruppe motorisches Training absolviert und parallel dazu an zwei Tagen Injektionen erhalten. Gleichzeitig wurde die Latenz als Ausdruck für die Motivation der Ratte gemessen. Ratten beider Gruppen lernten die Aufgabe und entwickelten über die gemessenen acht Trainingstage eine normale Lernkurve, die den motorischen Lernverläufen aus den analogen Experimenten im Motorkortex entsprach. Die Ergebnisse aus dem dorsalen Striatum und präfrontalen Kortex zeigen, dass sich die Lernleistung der beiden Gruppen, gemessen an der Anzahl der erfolgreichen Greifversuche, nicht signifikant voneinander unterscheidet. Es gab keine Hinweise auf eine Beeinträchtigung des motorischen Lernens.

Daraus habe ich die Schlussfolgerung gezogen, dass in beiden Regionen die über D2-Rezeptoren vermittelten dopaminergen Effekte ganz im Gegensatz zum primär motorischen Kortex nicht am motorischen Lernen beteiligt sind.

Im Striatum war die Latenz während der Racloprid-Injektionen signifikant verlängert und könnte, ähnlich den hypomotorischen Symptomen beim Parkinson-Syndrom, Ausdruck des relativen Dopaminmangels im Striatum sein. Meine Ergebnisse aus dem präfrontalen Kortex und dem Striatum machen falsch positive Resultate im Motorkortex extrem unwahrscheinlich und stärken die These, dass Dopamin als Neurotransmitter im Motorkortex kritisch involviert ist im Erlernen neuer motorischer Fähigkeiten.

## 6 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1	Käfig (links: Ansicht von oben, rechts: Käfig aus unserem Labor) .....	18
Abb. 2	Trainingssequenz beim motorischen Lernen .....	21
Abb. 3	Protokollübersicht Striatum .....	22
Abb. 4	Protokollübersicht Präfrontaler Kortex .....	23
Abb. 5	Position der Kanülen .....	27
Abb. 6	Gewebespur der Kanülen .....	28
Abb. 7	Position der Kanüle .....	28
Abb. 8	Gewebespur der Kanüle eines exemplarischen Tieres .....	29
Abb. 9	Injektionen in das dorsale Striatum – Lernkurve .....	30
Abb. 10	Anzahl und Veränderung der „Hits“ im Greifversuch (Mittelwerte) .....	32
Abb. 11	Injektionen in das dorsale Striatum. Standardfehler und Konfidenzintervalle .....	32
Abb. 12	Injektionen in das dorsale Striatum - Latenz .....	34
Abb. 13	Veränderungen der Latenz bei Injektionen in das dorsale Striatum .....	36
Abb. 14	Gesamt-Trainingsdauer .....	37
Abb. 15	Veränderung der Gesamt-Trainingsdauer (Duration) .....	38
Abb. 16	Injektionen in den präfrontalen Kortex - Lernkurve .....	39
Abb. 17	Anzahl und Veränderung der „Hits“ im Greifversuch .....	41
Abb. 18	Injektionen in den präfrontalen Kortex - Latenz .....	42
Abb. 19	Veränderungen der Latenz bei Injektionen in den präfrontalen Kortex .....	43
Abb. 20	Gesamt-Trainingsdauer .....	44
Abb. 21	Veränderung der Gesamt-Trainingsdauer (Duration) .....	45
Abb. 22	Vergleich der Latenzen an beiden Injektionsorten .....	51

## 7 Quellenverzeichnis

1. *The prefrontal cortex--its structure, function and pathology. Amsterdam, The Netherlands, 28 August-1 September 1989.* Prog Brain Res, 1990. **85**: p. 1-565.
2. Adams, S., R.P. Kesner, and M.E. Ragozzino, *Role of the medial and lateral caudate-putamen in mediating an auditory conditional response association.* Neurobiol Learn Mem, 2001. **76**(1): p. 106-16.
3. Aizman, O., et al., *Anatomical and physiological evidence for D1 and D2 dopamine receptor colocalization in neostriatal neurons.* Nat Neurosci, 2000. **3**(3): p. 226-30.
4. Ariano, M.A., et al., *D2 dopamine receptor distribution in the rodent CNS using anti-peptide antisera.* Brain Res, 1993. **609**(1-2): p. 71-80.
5. Awenowicz, P.W. and L.L. Porter, *Local application of dopamine inhibits pyramidal tract neuron activity in the rodent motor cortex.* J Neurophysiol, 2002. **88**(6): p. 3439-51.
6. Balleine, B.W., M.R. Delgado, and O. Hikosaka, *The role of the dorsal striatum in reward and decision-making.* J Neurosci, 2007. **27**(31): p. 8161-5.
7. Baunez, C., A. Nieoullon, and M. Amalric, *Dopamine and complex sensorimotor integration: further studies in a conditioned motor task in the rat.* Neuroscience, 1995. **65**(2): p. 375-84.
8. Berger, B., et al., *New dopaminergic terminal fields in the motor, visual (area 18b) and retrosplenial cortex in the young and adult rat. Immunocytochemical and catecholamine histochemical analyses.* Neuroscience, 1985. **15**(4): p. 983-98.
9. Breier, A., et al., *A double-blind, placebo-controlled dose-response comparison of intramuscular olanzapine and haloperidol in the treatment of acute agitation in schizophrenia.* Arch Gen Psychiatry, 2002. **59**(5): p. 441-8.
10. Brown, J.A., *Recovery of motor function after stroke.* Prog Brain Res, 2006. **157**: p. 223-8.
11. Brown, J.A., et al., *Motor cortex stimulation for the enhancement of recovery from stroke: a prospective, multicenter safety study.* Neurosurgery, 2006. **58**(3): p. 464-73.
12. Buitrago, M.M., et al., *Characterization of motor skill and instrumental learning time scales in a skilled reaching task in rat.* Behav Brain Res, 2004. **155**(2): p. 249-56.

13. Classen, J., et al., *Rapid plasticity of human cortical movement representation induced by practice*. J Neurophysiol, 1998. **79**(2): p. 1117-23.
14. Cohen, L.G., et al., *Topographic maps of human motor cortex in normal and pathological conditions: mirror movements, amputations and spinal cord injuries*. Electroencephalogr Clin Neurophysiol Suppl, 1991. **43**: p. 36-50.
15. Conner, J.M., et al., *Lesions of the Basal forebrain cholinergic system impair task acquisition and abolish cortical plasticity associated with motor skill learning*. Neuron, 2003. **38**(5): p. 819-29.
16. Costa, R.M., *Plastic corticostriatal circuits for action learning: what's dopamine got to do with it?* Ann N Y Acad Sci, 2007. **1104**: p. 172-91.
17. Del Arco, A. and F. Mora, *Glutamate-dopamine in vivo interaction in the prefrontal cortex modulates the release of dopamine and acetylcholine in the nucleus accumbens of the awake rat*. J Neural Transm, 2005. **112**(1): p. 97-109.
18. Del Arco, A. and F. Mora, *Prefrontal cortex-nucleus accumbens interaction: in vivo modulation by dopamine and glutamate in the prefrontal cortex*. Pharmacol Biochem Behav, 2008. **90**(2): p. 226-35.
19. Del Arco, A., et al., *Stimulation of D2 receptors in the prefrontal cortex reduces PCP-induced hyperactivity, acetylcholine release and dopamine metabolism in the nucleus accumbens*. J Neural Transm, 2007. **114**(2): p. 185-93.
20. Dennis, M.S., et al., *Long-term survival after first-ever stroke: the Oxfordshire Community Stroke Project*. Stroke, 1993. **24**(6): p. 796-800.
21. Devan, B.D. and N.M. White, *Parallel information processing in the dorsal striatum: relation to hippocampal function*. J Neurosci, 1999. **19**(7): p. 2789-98.
22. Di Filippo, M., et al., *Short-term and long-term plasticity at corticostriatal synapses: implications for learning and memory*. Behav Brain Res, 2009. **199**(1): p. 108-18.
23. Dietrichs, E., *[Brain plasticity after stroke--implications for post-stroke rehabilitation]*. Tidsskr Nor Laegeforen, 2007. **127**(9): p. 1228-31.
24. Egan, M.F. and D.R. Weinberger, *Neurobiology of schizophrenia*. Curr Opin Neurobiol, 1997. **7**(5): p. 701-7.
25. Ettenberg, A., G.F. Koob, and F.E. Bloom, *Response artifact in the measurement of neuroleptic-induced anhedonia*. Science, 1981. **213**(4505): p. 357-9.

26. Fearnley, J.M. and A.J. Lees, *Ageing and Parkinson's disease: substantia nigra regional selectivity*. Brain, 1991. **114 ( Pt 5)**: p. 2283-301.
27. Ferrucci, L., et al., *Recovery of functional status after stroke. A postrehabilitation follow-up study*. Stroke, 1993. **24(2)**: p. 200-5.
28. Fitts, P.M., *Categories of Human Learning*. 1964, New York: Academic Press: Melton, A.W., ed. pp. 243–285.
29. Fleminger, S., *Control of simultaneous movements distinguishes depressive motor retardation from Parkinson's disease and neuroleptic parkinsonism*. Brain, 1992. **115 ( Pt 5)**: p. 1459-80.
30. Floel, A., et al., *Dopaminergic influences on formation of a motor memory*. Ann Neurol, 2005. **58(1)**: p. 121-30.
31. Floel, A., et al., *Dopaminergic effects on encoding of a motor memory in chronic stroke*. Neurology, 2005. **65(3)**: p. 472-4.
32. Floel, A., et al., *Levodopa improves skilled hand functions in the elderly*. Eur J Neurosci, 2008. **27(5)**: p. 1301-7.
33. Floresco, S.B. and O. Magyar, *Mesocortical dopamine modulation of executive functions: beyond working memory*. Psychopharmacology (Berl), 2006. **188(4)**: p. 567-85.
34. Furtado, J.C. and M.F. Mazurek, *Behavioral characterization of quinolinate-induced lesions of the medial striatum: relevance for Huntington's disease*. Exp Neurol, 1996. **138(1)**: p. 158-68.
35. Fuster, J.M., *The prefrontal cortex--an update: time is of the essence*. Neuron, 2001. **30(2)**: p. 319-33.
36. Gaspar, P., et al., *Alterations of dopaminergic and noradrenergic innervations in motor cortex in Parkinson's disease*. Ann Neurol, 1991. **30(3)**: p. 365-74.
37. Gengler, S., H.A. Mallot, and C. Holscher, *Inactivation of the rat dorsal striatum impairs performance in spatial tasks and alters hippocampal theta in the freely moving rat*. Behav Brain Res, 2005. **164(1)**: p. 73-82.
38. Hauber, W., *Impairments of movement initiation and execution induced by a blockade of dopamine D1 or D2 receptors are reversed by a blockade of N-methyl-D-aspartate receptors*. Neuroscience, 1996. **73(1)**: p. 121-30.
39. Hedden, T. and J.D. Gabrieli, *Insights into the ageing mind: a view from cognitive neuroscience*. Nat Rev Neurosci, 2004. **5(2)**: p. 87-96.

40. Heijtz, R.D., B. Kolb, and H. Forssberg, *Motor inhibitory role of dopamine D1 receptors: implications for ADHD*. *Physiol Behav*, 2007. **92**(1-2): p. 155-60.
41. Hikosaka, O., et al., *Parallel neural networks for learning sequential procedures*. *Trends Neurosci*, 1999. **22**(10): p. 464-71.
42. Hikosaka, O., et al., *Central mechanisms of motor skill learning*. *Curr Opin Neurobiol*, 2002. **12**(2): p. 217-22.
43. Horvitz, J.C. and A. Ettenberg, *Conditioned incentive properties of a food-paired conditioned stimulus remain intact during dopamine receptor blockade*. *Behav Neurosci*, 1991. **105**(4): p. 536-41.
44. Hosp, J.A., et al., *Dopaminergic modulation of motor maps in rat motor cortex: an in vivo study*. *Neuroscience*, 2009. **159**(2): p. 692-700.
45. Huang, Y.Y., et al., *Genetic evidence for the bidirectional modulation of synaptic plasticity in the prefrontal cortex by D1 receptors*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2004. **101**(9): p. 3236-41.
46. Huntley, G.W., et al., *Localization of multiple dopamine receptor subtype mRNAs in human and monkey motor cortex and striatum*. *Brain Res Mol Brain Res*, 1992. **15**(3-4): p. 181-8.
47. Hyman, S.E., R.C. Malenka, and E.J. Nestler, *Neural mechanisms of addiction: the role of reward-related learning and memory*. *Annu Rev Neurosci*, 2006. **29**: p. 565-98.
48. Ikemoto, S., *Dopamine reward circuitry: two projection systems from the ventral midbrain to the nucleus accumbens-olfactory tubercle complex*. *Brain Res Rev*, 2007. **56**(1): p. 27-78.
49. Jaillard, A., et al., *Vicarious function within the human primary motor cortex? A longitudinal fMRI stroke study*. *Brain*, 2005. **128**(Pt 5): p. 1122-38.
50. Jay, T.M., *Dopamine: a potential substrate for synaptic plasticity and memory mechanisms*. *Prog Neurobiol*, 2003. **69**(6): p. 375-90.
51. Karni, A., et al., *The acquisition of skilled motor performance: fast and slow experience-driven changes in primary motor cortex*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1998. **95**(3): p. 861-8.
52. Kebabian, J.W. and D.B. Calne, *Multiple receptors for dopamine*. *Nature*, 1979. **277**(5692): p. 93-6.
53. Kimura, M., *Role of basal ganglia in behavioral learning*. *Neurosci Res*, 1995. **22**(4): p. 353-8.

54. Kleim, J.A., et al., *Motor learning-dependent synaptogenesis is localized to functionally reorganized motor cortex*. Neurobiol Learn Mem, 2002. **77**(1): p. 63-77.
55. Kleim, J.A., S. Barbay, and R.J. Nudo, *Functional reorganization of the rat motor cortex following motor skill learning*. J Neurophysiol, 1998. **80**(6): p. 3321-5.
56. Knowlton, B.J., J.A. Mangels, and L.R. Squire, *A neostriatal habit learning system in humans*. Science, 1996. **273**(5280): p. 1399-402.
57. Korman, M., et al., *Multiple shifts in the representation of a motor sequence during the acquisition of skilled performance*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2003. **100**(21): p. 12492-7.
58. Kreitzer, A.C. and R.C. Malenka, *Striatal plasticity and basal ganglia circuit function*. Neuron, 2008. **60**(4): p. 543-54.
59. Kritikos, A., et al., *Contingent and non-contingent auditory cueing in Parkinson's disease*. Neuropsychologia, 1995. **33**(10): p. 1193-203.
60. Lehericy, S., et al., *Distinct basal ganglia territories are engaged in early and advanced motor sequence learning*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2005. **102**(35): p. 12566-71.
61. Levesque, M., et al., *Raclopride-induced motor consolidation impairment in primates: role of the dopamine type-2 receptor in movement chunking into integrated sequences*. Exp Brain Res, 2007. **182**(4): p. 499-508.
62. Lewis, D.A., et al., *Dopamine axons in primate prefrontal cortex: specificity of distribution, synaptic targets, and development*. Adv Pharmacol, 1998. **42**: p. 703-6.
63. Li, S.C. and S. Sikstrom, *Integrative neurocomputational perspectives on cognitive aging, neuromodulation, and representation*. Neurosci Biobehav Rev, 2002. **26**(7): p. 795-808.
64. Lidow, M.S., et al., *Dopamine D2 receptors in the cerebral cortex: distribution and pharmacological characterization with [3H]raclopride*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1989. **86**(16): p. 6412-6.
65. Liepert, J., *Pharmacotherapy in restorative neurology*. Curr Opin Neurol, 2008. **21**(6): p. 639-43.
66. Luft, A., et al., *Post-stroke exercise rehabilitation: what we know about retraining the motor system and how it may apply to retraining the heart*. Cleve Clin J Med, 2008. **75 Suppl 2**: p. S83-6.
67. Luft, A.R. and M.M. Buitrago, *Stages of motor skill learning*. Mol Neurobiol, 2005. **32**(3): p. 205-16.

68. Luft, A.R., et al., *Motor skill learning depends on protein synthesis in motor cortex after training*. J Neurosci, 2004. **24**(29): p. 6515-20.
69. Luft, A.R., et al., *Treadmill exercise activates subcortical neural networks and improves walking after stroke: a randomized controlled trial*. Stroke, 2008. **39**(12): p. 3341-50.
70. Luft, A.R. and S. Schwarz, *Dopaminergic signals in primary motor cortex*. Int J Dev Neurosci, 2009.
71. Luo, Y. and G.S. Roth, *The roles of dopamine oxidative stress and dopamine receptor signaling in aging and age-related neurodegeneration*. Antioxid Redox Signal, 2000. **2**(3): p. 449-60.
72. Marsden, C.D., *Slowness of movement in Parkinson's disease*. Mov Disord, 1989. **4 Suppl 1**: p. S26-37.
73. McDonald, R.J. and N.M. White, *Parallel information processing in the water maze: evidence for independent memory systems involving dorsal striatum and hippocampus*. Behav Neural Biol, 1994. **61**(3): p. 260-70.
74. Metz, G.A. and I.Q. Whishaw, *Skilled reaching an action pattern: stability in rat (*Rattus norvegicus*) grasping movements as a function of changing food pellet size*. Behav Brain Res, 2000. **116**(2): p. 111-22.
75. Miklyeva, E.I., E. Castaneda, and I.Q. Whishaw, *Skilled reaching deficits in unilateral dopamine-depleted rats: impairments in movement and posture and compensatory adjustments*. J Neurosci, 1994. **14**(11 Pt 2): p. 7148-58.
76. Mink, J.W., *The basal ganglia: focused selection and inhibition of competing motor programs*. Prog Neurobiol, 1996. **50**(4): p. 381-425.
77. Molina-Luna, K., et al., *Dopamine in motor cortex is necessary for skill learning and synaptic plasticity*. PLoS One, 2009. **4**(9): p. e7082.
78. Moore, R.Y., A.L. Whone, and D.J. Brooks, *Extrastriatal monoamine neuron function in Parkinson's disease: an 18F-dopa PET study*. Neurobiol Dis, 2008. **29**(3): p. 381-90.
79. Newell, K.M., Y.T. Liu, and G. Mayer-Kress, *Time scales in motor learning and development*. Psychol Rev, 2001. **108**(1): p. 57-82.
80. Nitsche, M.A., et al., *Dopaminergic modulation of long-lasting direct current-induced cortical excitability changes in the human motor cortex*. Eur J Neurosci, 2006. **23**(6): p. 1651-7.
81. Nudo, R.J., *Mechanisms for recovery of motor function following cortical damage*. Curr Opin Neurobiol, 2006. **16**(6): p. 638-44.

82. Nudo, R.J., et al., *Use-dependent alterations of movement representations in primary motor cortex of adult squirrel monkeys*. J Neurosci, 1996. **16**(2): p. 785-807.
83. Nudo, R.J., E.J. Plautz, and S.B. Frost, *Role of adaptive plasticity in recovery of function after damage to motor cortex*. Muscle Nerve, 2001. **24**(8): p. 1000-19.
84. Obeso, J.A., et al., *The basal ganglia and disorders of movement: pathophysiological mechanisms*. News Physiol Sci, 2002. **17**: p. 51-5.
85. Onali, P., M.C. Olanas, and G.L. Gessa, *Selective blockade of dopamine D-1 receptors by SCH 23390 discloses striatal dopamine D-2 receptors mediating the inhibition of adenylate cyclase in rats*. Eur J Pharmacol, 1984. **99**(1): p. 127-8.
86. Ongur, D. and J.L. Price, *The organization of networks within the orbital and medial prefrontal cortex of rats, monkeys and humans*. Cereb Cortex, 2000. **10**(3): p. 206-19.
87. Ouchi, Y., et al., *Effect of simple motor performance on regional dopamine release in the striatum in Parkinson disease patients and healthy subjects: a positron emission tomography study*. J Cereb Blood Flow Metab, 2002. **22**(6): p. 746-52.
88. Packard, M.G. and B.J. Knowlton, *Learning and memory functions of the Basal Ganglia*. Annu Rev Neurosci, 2002. **25**: p. 563-93.
89. Parr-Brownlie, L.C. and B.I. Hyland, *Bradykinesia induced by dopamine D2 receptor blockade is associated with reduced motor cortex activity in the rat*. J Neurosci, 2005. **25**(24): p. 5700-9.
90. Pascual-Leone, A., et al., *Modulation of muscle responses evoked by transcranial magnetic stimulation during the acquisition of new fine motor skills*. J Neurophysiol, 1995. **74**(3): p. 1037-45.
91. Pascual-Leone, A., et al., *Reorganization of human cortical motor output maps following traumatic forearm amputation*. Neuroreport, 1996. **7**(13): p. 2068-70.
92. Pisani, A., et al., *Striatal synaptic plasticity: implications for motor learning and Parkinson's disease*. Mov Disord, 2005. **20**(4): p. 395-402.
93. Pretsell, D.O. and T.W. Robbins, *D1 and D2 receptor subtypes in the rat striatum: modulation of reaction time performance*. J. Psychopharmac, 1992.
94. Restemeyer, C., C. Weiller, and J. Liepert, *No effect of a levodopa single dose on motor performance and motor excitability in chronic stroke*. A

- double-blind placebo-controlled cross-over pilot study. Restor Neurol Neurosci*, 2007. **25**(2): p. 143-50.
95. Rinaldi, A., et al., *D1 and D2 receptor antagonist injections in the prefrontal cortex selectively impair spatial learning in mice. Neuropsychopharmacology*, 2007. **32**(2): p. 309-19.
  96. Rioult-Pedotti, M.S., J.P. Donoghue, and A. Dunaevsky, *Plasticity of the synaptic modification range. J Neurophysiol*, 2007. **98**(6): p. 3688-95.
  97. Rioult-Pedotti, M.S., et al., *Strengthening of horizontal cortical connections following skill learning. Nat Neurosci*, 1998. **1**(3): p. 230-4.
  98. Robbins, T.W., *From arousal to cognition: the integrative position of the prefrontal cortex. Prog Brain Res*, 2000. **126**: p. 469-83.
  99. Robbins, T.W. and B.J. Everitt, *Functions of dopamine in the dorsal and ventral striatum Semin Neurosci*, 1992. **4**(2): p. 119–127.
  100. Robbins, T.W. and B.J. Everitt, *Neurobehavioural mechanisms of reward and motivation. Curr Opin Neurobiol*, 1996. **6**(2): p. 228-36.
  101. Robertson, E.M., A. Pascual-Leone, and R.C. Miall, *Current concepts in procedural consolidation. Nat Rev Neurosci*, 2004. **5**(7): p. 576-82.
  102. Rosenbaum, D.A., R.A. Carlson, and R.O. Gilmore, *Acquisition of intellectual and perceptual-motor skills. Annu Rev Psychol*, 2001. **52**: p. 453-70.
  103. Rosser, N., et al., *Levodopa improves procedural motor learning in chronic stroke patients. Arch Phys Med Rehabil*, 2008. **89**(9): p. 1633-41.
  104. Rossini, P.M., *Brain redundancy: responsivity or plasticity? Ann Neurol*, 2001. **48**: p. 128-129.
  105. Rossini, P.M., et al., *Post-stroke plastic reorganisation in the adult brain. Lancet Neurol*, 2003. **2**(8): p. 493-502.
  106. Salamone, J.D., *The involvement of nucleus accumbens dopamine in appetitive and aversive motivation. Behav Brain Res*, 1994. **61**(2): p. 117-33.
  107. Sanes, J.N. and J.P. Donoghue, *Plasticity and primary motor cortex. Annu Rev Neurosci*, 2000. **23**: p. 393-415.
  108. Sanes, J.N., S. Suner, and J.P. Donoghue, *Dynamic organization of primary motor cortex output to target muscles in adult rats. I. Long-term patterns of reorganization following motor or mixed peripheral nerve lesions. Exp Brain Res*, 1990. **79**(3): p. 479-91.

109. Sanes, J.N., et al., *Rapid reorganization of adult rat motor cortex somatic representation patterns after motor nerve injury*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1988. **85**(6): p. 2003-7.
110. Savasta, M., A. Dubois, and B. Scatton, *Autoradiographic localization of D1 dopamine receptors in the rat brain with [3H]SCH 23390*. Brain Res, 1986. **375**(2): p. 291-301.
111. Sawaguchi, T., *The effects of dopamine and its antagonists on directional delay-period activity of prefrontal neurons in monkeys during an oculomotor delayed-response task*. Neurosci Res, 2001. **41**(2): p. 115-28.
112. Sawaki, L., et al., *Age-dependent changes in the ability to encode a novel elementary motor memory*. Ann Neurol, 2003. **53**(4): p. 521-4.
113. Scheidtman, K., et al., *Effect of levodopa in combination with physiotherapy on functional motor recovery after stroke: a prospective, randomised, double-blind study*. Lancet, 2001. **358**(9284): p. 787-90.
114. Schieber, M.H. and R.K. Deuel, *Primary motor cortex reorganization in a long-term monkey amputee*. Somatosens Mot Res, 1997. **14**(3): p. 157-67.
115. Seamans, J.K. and C.R. Yang, *The principal features and mechanisms of dopamine modulation in the prefrontal cortex*. Prog Neurobiol, 2004. **74**(1): p. 1-58.
116. Seitz, R.J., et al., *Motor learning in man: a positron emission tomographic study*. Neuroreport, 1990. **1**(1): p. 57-60.
117. Shadmehr, R. and T. Brashers-Krug, *Functional stages in the formation of human long-term motor memory*. J Neurosci, 1997. **17**(1): p. 409-19.
118. Smythies, J., *Section II. The dopamine system*. Int Rev Neurobiol, 2005. **64**: p. 123-72.
119. Sonde, L. and J. Løkk, *Effects of amphetamine and/or L-dopa and physiotherapy after stroke - a blinded randomized study*. Acta Neurol Scand, 2007. **115**(1): p. 55-9.
120. Squire, L.R., *Mechanisms of memory*. Science, 1986. **232**(4758): p. 1612-9.
121. Tremblay, P.L., et al., *Motor sequence learning in primate: role of the D2 receptor in movement chunking during consolidation*. Behav Brain Res, 2009. **198**(1): p. 231-9.
122. Tzschentke, T.M., *Pharmacology and behavioral pharmacology of the mesocortical dopamine system*. Prog Neurobiol, 2001. **63**(3): p. 241-320.

123. Tzschentke, T.M. and W.J. Schmidt, *Functional relationship among medial prefrontal cortex, nucleus accumbens, and ventral tegmental area in locomotion and reward*. Crit Rev Neurobiol, 2000. **14**(2): p. 131-42.
124. Volkow, N.D., et al., *Association between decline in brain dopamine activity with age and cognitive and motor impairment in healthy individuals*. Am J Psychiatry, 1998. **155**(3): p. 344-9.
125. Wächter, T., et al., *Differential effect of reward and punishment on procedural learning*. J Neurosci, 2009. **29**(2): p. 436-43.
126. Wächter, T., et al., *Motor skill learning depends on protein synthesis in the dorsal striatum after training*. Exp Brain Res, 2009.
127. Walker, M.P., et al., *Sleep and the time course of motor skill learning*. Learn Mem, 2003. **10**(4): p. 275-84.
128. Whishaw, I.Q. and B.L. Coles, *Varieties of paw and digit movement during spontaneous food handling in rats: postures, bimanual coordination, preferences, and the effect of forelimb cortex lesions*. Behav Brain Res, 1996. **77**(1-2): p. 135-48.
129. Whishaw, I.Q., et al., *Neurotoxic lesions of the caudate-putamen on a reaching for food task in the rat: acute sensorimotor neglect and chronic qualitative motor impairment follow lateral lesions and improved success follows medial lesions*. Neuroscience, 2007. **146**(1): p. 86-97.
130. White, N.M. and R.J. McDonald, *Multiple parallel memory systems in the brain of the rat*. Neurobiol Learn Mem, 2002. **77**(2): p. 125-84.
131. Wise, R.A., *Dopamine, learning and motivation*. Nat Rev Neurosci, 2004. **5**(6): p. 483-94.
132. Xerri, C., et al., *Plasticity of primary somatosensory cortex paralleling sensorimotor skill recovery from stroke in adult monkeys*. J Neurophysiol, 1998. **79**(4): p. 2119-48.
133. Yang, C.R., J.K. Seamans, and N. Gorelova, *Developing a neuronal model for the pathophysiology of schizophrenia based on the nature of electrophysiological actions of dopamine in the prefrontal cortex*. Neuropsychopharmacology, 1999. **21**(2): p. 161-94.
134. Yarrow, K., P. Brown, and J.W. Krakauer, *Inside the brain of an elite athlete: the neural processes that support high achievement in sports*. Nat Rev Neurosci, 2009. **10**(8): p. 585-96.

## 8 Danksagungen

Herrn Professor Dr. Andreas Luft danke ich sehr für die exzellente Betreuung über den gesamten Zeitraum der Arbeit und den moralischen Zuspruch in schwierigen Zeiten.

Ana Pekanovic, Benjamin Hertler und Maximilian Schubring-Giese danke ich für die unzähligen Ratschläge und die schöne gemeinsame Zeit im Labor.

Ich danke von Herzen Kimberly Ceci, für viel Geduld und Verständnis während der Examenszeit und für die vielen schönen gemeinsamen Stunden.

Vor allem danke ich meiner Mutter für den steten Rückhalt und die großherzige Unterstützung während des Studiums.

## 9 Lebenslauf

### Persönliche Daten

---

Name	Sebastian Röhrich
Geburtsdatum	27. Juni 1980
Geburtsort	Stralsund

### Promotion

---

Die vorliegende Promotionsarbeit wurde am Hertie-Institut für klinische Hirnforschung in Tübingen durchgeführt

### Hochschulausbildung

---

#### Studium der Humanmedizin

28.10.2008	2. Ärztliche Prüfung
02/ 2008 – 07/ 2008	University of Southampton, King´s College London, School of Medicine
seit 10/ 2003	Klinisches Studium an der Universität Tübingen
09/ 2003	Ärztliche Vorprüfung
10/ 2001 – 09/ 2003	Vorklinisches Studium an der Universität Rostock

### Stipendium

---

2002 – 2008	Studienstiftung des deutschen Volkes
-------------	--------------------------------------

### Zivildienst

---

08/ 2000 – 06/ 2001	Universitäts-Kinderklinik Greifswald, Hämatologisch-Onkologische Station
---------------------	---

### Schulbildung

---

07/ 2000	Allgemeine Hochschulreife
1989 – 2000	Johann-Gottfried-Herder-Gymnasium, Greifswald