

Die Rolle des orbitalen präfrontalen Kortex bei instrumentellen Lernvorgängen der Ratte

Ines Bohn aus Nürtingen

*Von der Fakultät Geo- und Biowissenschaften
der Universität Stuttgart genehmigte Abhandlung zur Erlangung
der Würde eines Doktors der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)*

Hauptberichter: Prof. Dr. Wolfgang Hauber

Mitberichter: Prof. Dr. Franziska Wollnik

Tag der mündlichen Prüfung: 11.02.2003

Biologisches Institut der Universität Stuttgart, 2003

Die vorliegende Arbeit wurde von mir selbständig bearbeitet. Ich habe keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt.

Die Koautoren der zur Veröffentlichung eingereichten Manuskripte sind jeweils genannt.

Stuttgart, den 16.12.2002

Ines Bohn

1 Inhaltsverzeichnis

1	INHALTSVERZEICHNIS	5
2	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	7
3	SUMMARY	9
4	EINLEITUNG	11
4.1	Motivation	11
4.1.1	Motivation und zielgerichtetes Verhalten	11
4.1.2	Motivation und assoziatives Lernen.....	14
4.1.3	Der Motivationsschaltkreis	17
4.1.4	Medizinische Relevanz von Störungen des Motivationsschaltkreises	20
4.2	Der orbitale präfrontale Kortex	23
4.2.1	Anatomie des orbitalen präfrontalen Kortex	23
4.2.2	Verbindungen des orbitalen präfrontalen Kortex	27
4.3	Der orbitale präfrontale Kortex und der Motivationsschaltkreis	33
4.3.1	Der orbitale präfrontale Kortex, Belohnungen und belohnungsanzeigenden Stimuli	33
4.3.2	Der orbitale präfrontale Kortex und zielgerichtetes Verhalten	38
4.3.3	Der orbitale präfrontale Kortex und Erlernen neuer Stimulus-Belohnungs-Beziehungen	41
4.3.4	Der orbitale präfrontale Kortex und Abruf erlernter Stimulus-Belohnungs-Beziehungen.....	43
4.3.5	Der orbitale präfrontale Kortex und Lernen umgekehrter Stimulus-Belohnungs-Beziehungen .	44
4.3.6	Der orbitale präfrontale Kortex und Lernen weiterer Änderungen von Stimulus-Belohnungs-Beziehungen.....	46
4.4	Glutamat: ein wichtiger Neurotransmitter im orbitalen präfrontalen Kortex	49
4.4.1	Biosynthese, Wiederaufnahme und Abbau von Glutamat	49
4.4.2	Glutamaterge Neurone im präfrontalen Kortex.....	50
4.4.3	Glutamat-Rezeptor-Typen	51
4.4.4	Glutamat und assoziatives Lernen	54
4.5	Ziele der vorliegenden Arbeit	58
4.6	Anmerkungen zur verwendeten Methodik	59
4.6.1	Messung von Verhalten bei instrumentellen Lernvorgängen.....	59
4.6.2	Verwendete Substanzen zur Inaktivierung des orbitalen präfrontalen Kortex	61
5	DURCHGEFÜHRTE EXPERIMENTE	63
5.1	Experiment 1: Orbital Prefrontal Cortex and Guidance of Instrumental Behaviour in Rats under Reversal Conditions	64
5.2	Experiment 2: Orbital Prefrontal Cortex and Guidance of Instrumental Behavior of Rats by Visuospatial Stimuli Predicting Reward Magnitude	72
5.3	Experiment 3: NMDA Receptors in the Rat Orbital Prefrontal Cortex and Guidance of Instrumental Behavior under Reversal Conditions	83

6	ZUSAMMENFASSENDE DISKUSSION	93
6.1	Diskussion	93
6.1.1	Beurteilung der verwendeten Aufgabenstellungen	93
6.1.2	Beurteilung von Läsionen und Mikroinfusionen.....	96
6.1.3	Übersicht über die Verhaltensergebnisse	98
6.1.4	Der orbitale präfrontale Kortex und Erlernen neuer Stimulus-Belohnungs-Beziehungen	98
6.1.5	Der orbitale präfrontale Kortex und Abruf erlernter Stimulus-Belohnungs-Beziehungen.....	99
6.1.6	Der orbitale präfrontale Kortex und Lernen umgekehrter Stimulus-Belohnungs-Beziehungen	100
6.1.7	Der orbitale präfrontale Kortex und Lernen weiterer Änderungen von Stimulus-Belohnungs-Beziehungen.....	106
6.2	Ausblick.....	107
6.3	Schlussfolgerungen.....	109
7	ANHANG	111
7.1	Weitere Ergebnisse.....	111
7.2	Ergänzungen zur Methodik.....	114
7.2.1	Versuchsaufbauten und Aufgabenstellungen	114
7.2.2	Zeitpläne der Experimente	117
7.2.3	Habituation der Ratten	119
7.2.4	Stereotaktische Operationen und Substanzinfusionen.....	122
7.2.5	Histologie.....	127
7.3	Computer-Programme für die Habituation von Experiment 1	130
8	LITERATURVERZEICHNIS	143
9	DANKSAGUNG	157
10	LEBENS LAUF	159

2 Abkürzungsverzeichnis

5-HT	Serotonin
AI	agranulärer insulärer Kortex ¹
AId	dorsaler agranulärer insulärer Kortex ²
AIv	ventraler agranulärer insulärer Kortex ²
AMPA	α -Amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolpropionsäure
AP5	DL-2-Amino-5-phosphonovaleriansäure
CG1	cingulärer Kortex (Area 1) ¹
CG2	cingulärer Kortex (Area 2) ¹
CG3	cingulärer Kortex (Area 3) ¹
CR	konditionierte Reaktion
CS	konditionierter oder zu konditionierender Stimulus
DA	Dopamin
FAL	<i>food approach latency</i> (Futter-Annäherungszeit)
Fr1	frontaler Kortex (Area 1) ¹
Fr3	frontaler Kortex (Area 3) ¹
Glu	Glutamat
i.p.	intraperitoneal
LO	lateral orbitaler Kortex ¹
LPD	<i>lever press duration</i> (Tasten-Druckzeit)
LTD	<i>long term depression</i> (Langzeitdepression)
LTP	<i>long term potentiation</i> (Langzeitpotenzierung)
MO	medialer orbitaler Kortex ¹
NA	Noradrenalin
NMDA	N-methyl-D-aspartat
OPFC	orbitaler präfrontaler Kortex ³
PAF	<i>platelet-activating factor</i>
PFC	präfrontaler Kortex ¹
RL	<i>response latency</i> (Antwortzeit)
RT	<i>reaction time</i> (Reaktionszeit)
UR	unkonditionierte Reaktion
US	unkonditionierter Stimulus
SEM	Standardfehler des Mittelwertes
VLO	ventrolateraler orbitaler Kortex ¹
VO	ventraler orbitaler Kortex ¹
VTA	ventrale tegmentale Area

¹ Nomenklatur nach Paxinos und Watson (1986)

² Nomenklatur nach Zilles und Wree (1995)

³ Nomenklatur in der vorliegenden Arbeit

3 Summary

The orbital prefrontal cortex (OPFC) has been suggested to be part of a brain circuitry through which information on the incentive value of stimuli influences the selection and execution of reward-directed behavioural responses. Recent electrophysiological data suggest that neural activity in the OPFC links the current incentive value of reinforcers to predictive stimuli and that stimulus-reward associations represented in the OPFC are essential to guide instrumental behaviour. Accordingly, the few behavioural studies available in rats indicate that animals with OPFC lesions were impaired in reversal learning in go, no-go olfactory discrimination tasks. Likewise, primates including humans with OPFC lesions exhibit behavioural impairments after changes of stimulus-reward contingencies.

This PhD thesis investigated the role of the rat OPFC in guidance of reward-directed behaviour in more detail. As the OPFC seems to be particularly relevant to adapt behaviour if the rules guiding behaviour are altered, the effects of OPFC lesions on learning of instrumental responding after changes of stimulus-reward contingencies were investigated.

In one study (experiment 2), it was examined whether the OPFC is involved in guidance of the speed of instrumental behaviour by visuospatial stimuli predictive of different reward magnitudes. Un-operated rats, sham-lesioned rats and rats with bilateral lesions of the OPFC by the neuroexcitotoxin NMDA were trained in a visuospatial discrimination task. The task required a lever press on the illuminated of two levers to obtain food reward. On each trial, the position of the illuminated lever was pseudo-randomly determined in advance. Different reward magnitudes were permanently assigned to lever presses to respective sides of the operant chamber, e.g. responses to one lever (e.g. the left one) were always rewarded with one, responses to the other lever with five pellets (e.g. the right one). Results revealed that OPFC lesions did not impair acquisition of the task as conditioned responses were significantly shorter with expectancy of a high reward magnitude. In addition, during reversal, shift and re-shift of lever position- reward magnitude contingencies and under extinction conditions, performance of the OPFC-lesioned and control groups did not differ. It is concluded that the OPFC in rats might not be critical for adapting behavioural responses to changes of stimulus- reward magnitude contingencies signaled by visuospatial stimuli.

In another study (experiment 1), it was investigated whether the OPFC might be involved in adapting behavioural responses to changes of stimulus- reward magnitude contingencies signaled by non-spatial instead of spatial stimuli. A non-spatial discrimination task was used which is sensitive to subtle changes in discriminative guidance of instrumental behaviour by the anticipated reward magnitudes. The task demands conditioned lever release triggered by

an imperative stimulus. The upcoming reward magnitude (5 or 1 food pellet) for each trial was randomly chosen and signalled in advance by distinct instructive stimuli. In trained rats, reaction times (RTs) of instrumental responses were determined by the two distinct stimulus-reward magnitude contingencies, i.e. RTs were shorter to the instructive stimulus predictive of the higher reward magnitude. Results show that OPFC lesions by NMDA did not impair discriminative guidance of behavioural responses according to preoperatively acquired stimulus-reward magnitude contingencies. However, guidance of instrumental behaviour was altered in lesioned rats after a reversal of the stimulus-reward magnitude contingencies. The data add further support to the hypothesis that the rat OPFC is not involved in retrieval of acquired stimulus-reward magnitude contingencies but in integration of incentive information to guide behaviour after a reversal of stimulus-reward magnitude contingencies.

The third study (experiment 3) was designed to examine whether signals in the OPFC transmitted via N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptors are critical for learning a reversal of stimulus-reward magnitude contingencies. Rats were trained in the non-spatial discrimination task demanding conditioned lever release with the two distinct instructive stimuli signalling in advance the upcoming reward magnitude (5 or 1 pellet). After acquisition, RTs of responses with expectancy of high reward magnitude were significantly shorter indicating that instrumental responding was guided by the stimulus associated reward magnitudes. Thereafter, stimulus-reward magnitude contingencies were reversed and rats received intra-OPFC infusions of saline or of the NMDA receptor antagonist DL-2-amino-5-phosphonopentanoic acid (AP5). Reversal learning was tested for six days, microinfusions were given on Days 1, 3 and 5. Intra-OPFC blockade of NMDA receptors impaired learning a reversal of the previously acquired stimulus-reward magnitude contingencies: (i) RTs of correct responses were generally shortened regardless of the response-associated reward magnitude, (ii) the proportion of premature responses was increased, and (iii) responses were not guided by the current, but predominantly by the prior significance of the reward predicting stimuli. These findings provide novel evidence for NMDA receptor-dependent plasticity in the OPFC in reversal learning.

Taken together, the present studies reveal that the OPFC is involved in adapting goal-directed instrumental behaviour to changes of stimulus-reward magnitude contingencies if non-spatial reward predicting stimuli were presented. Furthermore, the findings suggest that the underlying functional changes might rely on NMDA receptor dependent plasticity in the OPFC.

4 Einleitung

In der vorliegenden Arbeit wird die Rolle des orbitalen präfrontalen Kortex (OPFC) von Ratten bei instrumentellen Lernvorgängen untersucht. Der OPFC ist eine bedeutende Teilstruktur eines als Motivationsschaltkreis bezeichneten neuronalen Netzes. Daher wird in der Einleitung zuerst näher auf Motivation und damit verbunden auf zielgerichtetes Verhalten, assoziatives Lernen und den Motivationsschaltkreis eingegangen. Anschließend werden Aufbau und Verbindungen des OPFC mit anderen Gehirnstrukturen erklärt. Darauf zurückgreifend werden die bisherigen Kenntnisse zur Rolle des OPFC im Motivationsschaltkreis beschrieben und Glutamat, ein wichtiger Neurotransmitter im OPFC, und seine mögliche Rolle bei den untersuchten Lernvorgängen vorgestellt. Nach der Definition der Ziele der vorliegenden Arbeit werden abschließend einige Anmerkungen zur verwendeten Methodik gemacht.

4.1 Motivation

In diesem Kapitel werden zuerst der Begriff „Motivation“ definiert, der Zusammenhang zwischen Motivation und zielgerichtetem Verhalten hergestellt, Ziele von zielgerichtetem Verhalten genannt und die Begriffe zielgerichtetes, appetitives und konsumatorisches Verhalten gegeneinander abgegrenzt. Darauf aufbauend wird auf den Zusammenhang zwischen Motivation, zielgerichtetem Verhalten und assoziativem Lernen eingegangen und dabei die Pawlowsche und instrumentelle Konditionierung erklärt. Viele dieser Leistungen werden durch den Motivationsschaltkreis erbracht, der mit seinen wichtigsten Strukturen vorgestellt wird. Abschließend wird die medizinische Relevanz von Störungen des Motivationsschaltkreises erläutert, d. h. bei Schädigungen von Strukturen des Motivationsschaltkreises und bei Sucht.

4.1.1 Motivation und zielgerichtetes Verhalten

Definition des Begriffes „Motivation“

Der Begriff Motivation leitet sich von dem lateinischen Wort *motivum* ab, d. h. Beweggrund, und bedeutet, dass interne Ursachen bzw. Motive „Verhalten und Aktion in Gang setzen bzw. aufrechterhalten, deren Richtung oder Intensität ändern und das Wählen unter verschiedenen Möglichkeiten leiten. In der Ethologie ist der Begriff weitgehend synonym zu Antrieb, Trieb, Drang, Stimmung, Bereitschaft und spezifischer Handlungsbereitschaft, in der Psychologie umfasst er unbewusste Motive, intuitive Bewertungen und bewusste Gründe (Intentionen) und

hängt mit Gewohnheiten, Erwartungen, Einstellungen, Zielen, Zwecken, Interessen und Wünschen zusammen“ (Lexikon der Neurowissenschaft, 2001).

Die verschiedenen Motivationszustände dienen dem Überleben des Individuums, da sie Anpassungen an externe oder körperinterne Veränderungen ermöglichen, z. B. Sexualverhalten beim Anblick eines Sexualpartners oder Fressen bei Hunger. Solche Anpassungen an Veränderungen können Antworten auf endokriner, autonomer und Verhaltensebene beinhalten (Gahr, 2001; Kupfermann *et al.*, 2000; Robbins und Everitt, 1999).

Einige Anpassungen an körperinterne Veränderungen finden in homöostatischen Regelungsvorgängen über negative Rückkopplungsschleifen statt. Diese homöostatischen Regelungsvorgänge führen z. B. zur Nahrungs- und Wasseraufnahme. Diese Vorgänge gehen häufig mit Befriedigung und einem starken natürlichen Bedürfnis einher, die dazu führenden Verhaltensweisen zu wiederholen (Gahr, 2001; Kupfermann *et al.*, 2000; Robbins und Everitt, 1999). Daher wurde Motivation ursprünglich hauptsächlich mit der Reduzierung von Bedürfnissen wie z. B. Hunger oder Durst erklärt.

Allerdings bleibt diese Definition v. a. in den Fällen eine Erklärung schuldig, in denen offensichtlich starke externe Anreize einen stärkeren Einfluss haben als die homöostatischen Regelungsprozesse und diese aus dem Gleichgewicht bringen, wie z. B. bei Drogenexzessen oder beim Überessen mit sehr leckerem Essen. Dieses Verhalten wird stattdessen mit der besonderen Attraktivität des externen Anreizes erklärt, der appetitive oder belohnende Eigenschaften hat („*incentive-motivation*“) (Robbins und Everitt, 1999). Dabei ist die Attraktivität dieses externen Anreizes u. a. abhängig von früheren Erfahrungen mit diesem externen Anreiz (Birbaumer und Jänig, 1995).

Motivation wird nach dem heutigen Verständnis also sowohl durch den inneren Antrieb (z. B. Hunger nach Futter-Deprivation, d. h. Entzug von Nahrung) als auch durch externe Anreize oder Ziele (z. B. sehr leckeres Essen) beeinflusst (Abb. 4.1) (Angermeier *et al.*, 1994; Robbins und Everitt, 1999).

Motivation und zielgerichtetes Verhalten

Die verschiedenen Motivationszustände beeinflussen sowohl die Kontrolle von vegetativen Funktionen (siehe oben) als auch die Organisation von willkürlichem, zielgerichtetem Verhalten (Schultz, 2000), und zwar auf drei verschiedene Arten: 1. wird das Verhalten auf „angenehme“ Ziele ausgerichtet bzw. von „unangenehmen“ Zielen abgewendet, 2. wird das individuelle Verhalten als eine Sequenz von zusammenhängenden, zielgerichteten Verhaltensabläufen organisiert und 3. wird die allgemeine Aufmerksamkeit erhöht, um das

Individuum zum Handeln anzuregen. Das Erreichen des Ziels verändert den Motivationszustand und beendet das zielgerichtete Verhalten (Kupfermann *et al.*, 2000).

Zielgerichtetes Verhalten ist dadurch charakterisiert, dass das Verhalten bestimmt wird durch die Repräsentation eines Ziels bzw. die Kenntnis über die Kontingenz zwischen Verhalten und Ziel bzw. Ergebnis des Verhaltens (Dickinson und Balleine, 1994; Schultz, 2000). Kontingenz beschreibt eine Wenn-dann-Beziehung, die eine Regelmäßigkeit bzw. einen hohen Grad an Wahrscheinlichkeit ausdrückt, mit der ein bestimmtes Verhalten ein bestimmtes Ergebnis erzielt (Lexikon der Neurowissenschaft, 2001).

Ziele von zielgerichtetem Verhalten

Ziele von zielgerichtetem Verhalten können z. B. Belohnungen sein. Belohnungen sind in der Ethologie definiert als äußere Konstellation, die in Abhängigkeit vom Motivationszustand eine Verstärkung im Verhalten im Sinne einer erfahrungs- bzw. lernbedingten Verhaltensadaptation bewirkt. Der Begriff „Verstärkung“ stammt aus der experimentellen Lernforschung und bezeichnet innere oder äußere Prozesse, in deren Folge bestimmte, meist erlernte Verhaltensweisen mit veränderter Intensität oder Häufigkeit gegenüber vorher auftreten. Wird die Verstärkung durch Belohnung erreicht, spricht man von positiver Verstärkung, handelt es sich um Vermeidungsreaktionen gegenüber Schmerz oder anderen negativen Einflüssen, spricht man von negativer Verstärkung. Die Verstärkung ist am wirkungsvollsten, wenn sie dem Verhalten unmittelbar folgt (Lexikon der Neurowissenschaft, 2001). Eine Belohnung kann im Erreichen einer angestrebten Endhandlung, wie z. B. Fressen bei Hunger, oder im erfolgreichen Vermeiden eines negativen Erlebnisses bestehen. Somit spielt die Belohnung bei der durch individuelle Erfahrung bewirkten Veränderung des Verhaltens eine wichtige Rolle. Belohnungen können subjektive positive Gefühle wie Freude induzieren. Doch nicht nur diese Belohnungen können einen motivationalen Wert besitzen. Der motivationale Wert beschreibt das Maß an Aufwand, das ein Individuum bereit ist, für den Erhalt der Belohnung oder die Vermeidung der Bestrafung aufzubringen (Schultz, 2000). Auch Signale, d. h. Stimuli, die bedeutungsvolle Ereignisse, wie z. B. Belohnungen, im Vorfeld ankündigen, können einen motivationalen Wert haben. Diese belohnungsanzeigenden Stimuli können unter experimentellen Bedingungen z. B. verschiedene Lichtsignale, d. h. visuelle Stimuli, oder Gerüche, d. h. olfaktorische Stimuli, oder Geräusche, d. h. auditorische Stimuli, sein.

Zielgerichtetes, appetitives und konsumatorisches Verhalten

In vielen Fällen sind Ziele, wie z. B. Nahrung oder ein Sexualpartner, nicht direkt verfügbar, und ein Individuum muss ggf. zuerst danach suchen. Daher ist zielgerichtetes Verhalten mehr als nur die einfache Kontrolle von konsumatorischem Verhalten, wie die direkte Reduzierung von Bedürfnissen wie Hunger oder Durst durch Essen oder Trinken. Konsumatorisches Verhalten ist meist stereotyp und reflexartig. In zielgerichtetem Verhalten, wie z. B. der Nahrungsaufnahme, geht dem konsumatorischen Verhalten häufig appetitives Verhalten voraus. Appetitives Verhalten wird meistens flexibel an die jeweilige Situation angepasst und ermöglicht dem Individuum z. B. die lokomotorische Annäherung an die Nahrung (Abb. 4.1) (Robbins und Everitt, 1996; 1999).

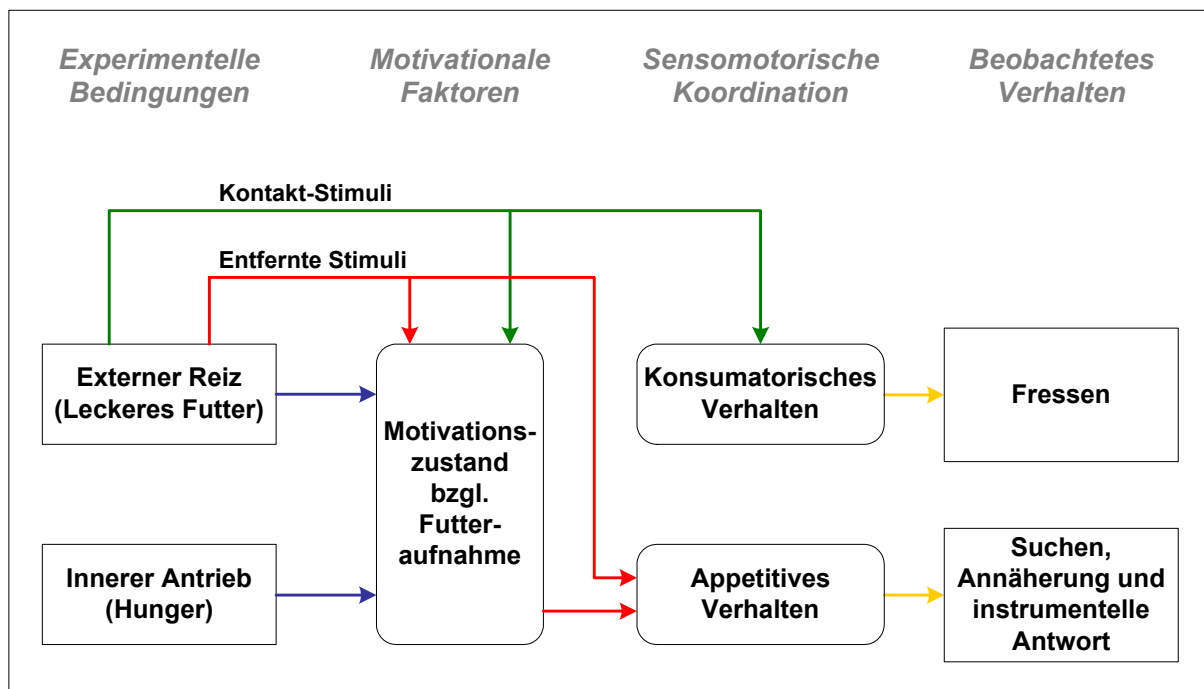


Abb. 4.1. Theorie der Steuerung von zielgerichtetem Verhalten am Beispiel der Futteraufnahme. Innerer Antrieb (Hunger) und externer Reiz (leckerer Futter) beeinflussen getrennt den Motivationszustand bzgl. Futteraufnahme. Die Entfernung zum Futter beeinflusst die sensomotorische Koordination: aus dem Kontakt mit dem Futter resultiert das konsumatorische Verhalten; die Erwartung bzw. Wahrnehmung des Futters resultiert in appetitivem Verhalten. Modifiziert nach Robbins und Everitt (1999).

4.1.2 Motivation und assoziatives Lernen

Erzielt ein bestimmtes Verhalten mehrfach dasselbe Ergebnis (z. B. eine Belohnung), werden die erhaltenen Belohnungen durch Lernvorgänge, die v. a. den Regeln der klassischen und instrumentellen Konditionierung folgen, zu Zielen willkürlichen, zielgerichteten Verhaltens. In den Lernvorgängen wird das Verhalten, um die Belohnung zu erzielen, mit den erhaltenen

Belohnungen assoziiert. Oft werden die Belohnungen im Vorfeld durch belohnungsanzeigende Stimuli angekündigt, d. h. Stimuli, die die Verfügbarkeit einer Belohnung und deren relative Wertigkeit oder die Kontingenz zwischen Stimulus und Belohnung anzeigen. Die belohnungsanzeigenden Stimuli erhalten im Laufe der Lernvorgänge einen motivationalen Wert, da sie mit den zu erhaltenden Belohnungen (nach dem entsprechenden Verhalten) assoziiert werden. Nach Zuweisung des motivationalen Wertes lösen belohnungsanzeigende Stimuli mehr oder weniger intensive Verhaltensreaktionen aus, d. h. beeinflussen Verhaltensentscheidungen und steuern die Verhaltensausführung (Balleine und Dickinson, 1998; Dickinson und Balleine, 1994; Schultz, 2000).

Die Kontrolle von zielgerichtetem Verhalten durch primäre Motivationszustände, wie z. B. Hunger oder Durst, wird durch zwei Prozesse vermittelt: 1. durch den Pawlowschen Prozess, bei dem eine Assoziation zwischen Stimulus und Ergebnis bzw. Verstärker gebildet wird, und 2. durch den instrumentellen Prozess, bei dem die Kenntnis über die Kontingenz zwischen Verhalten und ihrem Ergebnis wichtig ist (Dickinson und Balleine, 1994).

Pawlowsche Konditionierung

Der erstgenannte Prozess, die Bildung von Assoziationen zwischen Stimulus und Ergebnis bzw. Verstärker, wird durch eine Pawlowsche Konditionierung (Abb. 4.2) erreicht. Die Pawlowsche Konditionierung ist die einfachste Form des assoziativen Lernens. Sie tritt auf, wenn ein neutraler Stimulus (zu konditionierender oder konditionierter Stimulus: CS) einem biologisch bedeutsamen Stimulus (unkonditionierter Stimulus: US), wie Futter oder einem elektrischen Schlag, um ein bestimmtes Zeitintervall vorausgeht. Nach vielen Kopplungen der beiden Stimuli wird die Reaktion (zuerst unkonditionierte Reaktion: UR), die gewöhnlich auf den biologisch signifikanten Stimulus (US) erfolgt, auch zuverlässig durch den vormals neutralen Stimulus (CS) ausgelöst. Somit wird diese Reaktion eine konditionierte Reaktion (CR) auf den CS. Durch diese assoziativen Prozesse lernen Individuen etwas über die Kausalstruktur ihrer Umgebung, so dass ihr zukünftiges Verhalten besser an die Bedingungen angepasst ist, unter denen sie leben. Wenn ein Individuum konditioniert worden ist, hat es zwei Regeln über die Ereignisse gelernt, die es assoziieren sollte: die erste Regel ist zeitliche Nähe, denn das Individuum hat gelernt, dass der CS dem US um ein kritisches Zeitintervall vorausgeht (Kontiguität). Die zweite Regel ist eine Wahrscheinlichkeitsbeziehung, denn das Individuum hat gelernt, dass der CS das Auftreten des US ankündigt (Kontingenz). Diese zweite Regel ist wichtig, da Individuen vorhersagbare Beziehungen zwischen Ereignissen in ihrer Umwelt erkennen müssen. Dadurch, dass ein Individuum in der Lage ist, Wissen durch

Erfahrung zu erwerben, kann es viel flexibler auf eine Vielfalt von Reizen reagieren (Beggs *et al.*, 1999; Mackintosh, 1983; Menzel, 2001; Squire und Kandel, 1999).

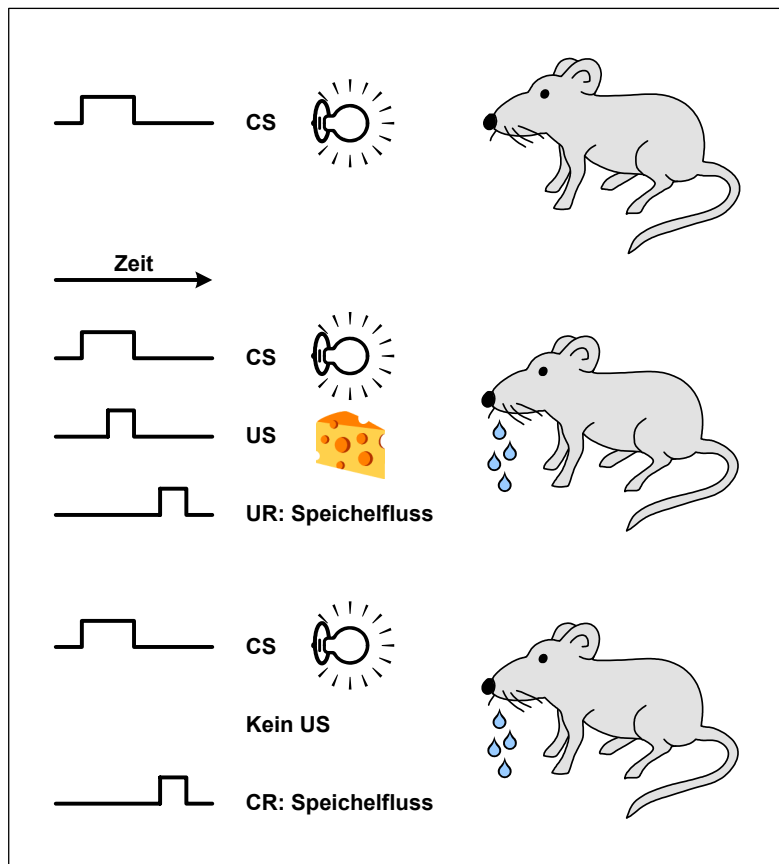


Abb. 4.2. Pawlowsche Konditionierung. Bei der Pawlowschen Konditionierung geht ein zu konditionierender Stimulus (CS), z. B. ein Licht, einem unbedingten Stimulus (US), z. B. Futter, voraus, der die unbedingte Reaktion (UR), z. B. den reflektorischen Speichelfluss, auslöst (*Mitte*). Nach vielen Kopplungen der beiden Stimuli wird die Reaktion auch durch den CS alleine ausgelöst, wodurch die Reaktion eine konditionierte Reaktion (CR) auf den CS wird (*unten*). Vor der Konditionierung löst der CS allein keine Reaktion der Ratte aus (*oben*). Modifiziert nach Beggs *et al.* (1999).

Instrumentelle Konditionierung

Der zweitgenannte Prozess, bei dem die Kenntnis über die Kontingenz zwischen ergebnisanzeigendem Stimulus, Verhalten und dem Ergebnis des Verhaltens eine wichtige Rolle spielt, wird durch eine instrumentelle oder operante Konditionierung (Abb. 4.3) erreicht. Sie ist eine Form assoziativen Lernens, die im Unterschied zur Pawlowschen Konditionierung eine Konditionierung durch den Erfolg oder Misserfolg von Aktivitäten beschreibt, d. h. eine aktive Beteiligung des Tieres erfordert. Bei der instrumentellen Konditionierung bildet das Tier eine Assoziation zwischen dem ergebnisanzeigenden Stimulus, der eigenen Aktion und dem Ergebnis der eigenen Aktion: das Tier lernt mit der Zeit, das Ergebnis des eigenen Verhaltens zu bewerten und dem ergebnisanzeigenden Stimulus daraufhin einen motivationalen Wert zuzuweisen, sodass in zukünftigen gleichen Situationen das Verhalten auf den ergebnisanzeigenden Stimulus angepasst wird, um das entsprechende Ergebnis (z. B. eine Belohnung) zu erzielen. Bei der instrumentellen Konditionierung wird also eine prädiktive Assoziation zwischen dem ergebnisanzeigenden Stimulus, dem eigenen Verhalten

und dem daraus resultierenden Ergebnis gebildet und ermöglicht so eine bessere Anpassung des zukünftigen Verhaltens an die Bedingungen, unter denen das Individuum lebt (Mackintosh, 1983; Menzel, 2001; Tembrock, 1977). Als „instrumentell“ wird die Konditionierung bezeichnet, da das Verhalten das Instrument oder Mittel ist, mit dem das entsprechende Ergebnis erzielt werden kann. In der Regel wird erst durch häufig wiederkehrende gleiche Ergebnisse ein stabiles instrumentelles Verhalten erlernt (Lexikon der Neurowissenschaft, 2001).

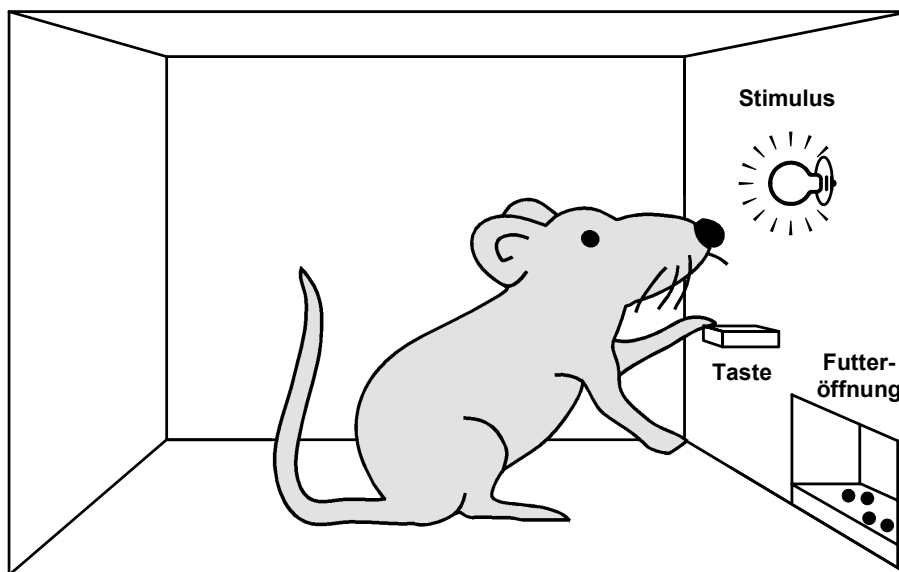


Abb. 4.3. Instrumentelle Konditionierung. Die instrumentelle Konditionierung findet z. B. in Skinnerboxen statt. Die Ratte drückt nach einem Lichtsignal (Stimulus) eine Taste. Daraufhin erhält die Ratte kleine Futterstücke in der Futteröffnung neben der Taste. Die Ratte lernt, das Lichtsignal, das Tasten-Drücken und die Futterstücke miteinander zu assoziieren.

In diesem Unterkapitel wurde der Zusammenhang zwischen Motivation, zielgerichtetem Verhalten und assoziativem Lernen hergestellt. Viele dieser Leistungen werden durch den Motivationsschaltkreis erbracht, der im Folgenden vorgestellt wird.

4.1.3 Der Motivationsschaltkreis

Der Begriff „Motivationsschaltkreis“

Für den Motivationsschaltkreis werden in der Literatur unterschiedliche Bezeichnungen verwendet, die verschiedene funktionelle und strukturelle Merkmale betonen: Motivationsschaltkreis („*motive circuit*“) (Kalivas und Nakamura, 1999), Motivationssysteme (Gahr, 2001; McFarland, 1989), Belohnungssystem („*reward system*“) (Rolls, 1999), positives Verstärkersystem (Birbaumer und Jänig, 1995), limbisches System (Zilles und Rehkämper, 1998), limbische kortiko-striatale Funktionsschleife („*limbic corticostriatal loop*“) (Cardinal *et al.*, 2002), limbisch-striatal-pallidaler Schaltkreis („*limbic-striatal-pallidal circuitry*“) (Robbins und Everitt, 1996), orbitofrontaler Schaltkreis („*orbitofrontal circuit*“) (Alexander *et al.*, 1990) oder orbitales Netzwerk („*orbital network*“) (Öngür und Price, 2000).

Während erstere Autoren auf die Informations-Verarbeitung abheben, betonen letztere die anatomischen Verbindungen, denn in Analogie zu Primaten existieren bei Ratten eine Reihe paralleler Schaltkreise zwischen den Basalganglien, dem Thalamus und dem Kortex (Deniau *et al.*, 1994; Groenewegen *et al.*, 1990; Groenewegen und Uylings, 2000).

In Anlehnung an Kalivas und Nakamura (1999) wird im Folgenden für das neurale Netzwerk (Abb. 4.4) der Begriff „Motivationsschaltkreis“ verwendet, da die verarbeiteten Informationen und nicht die anatomischen Beziehungen im Vordergrund stehen sollen.

Funktionen des Motivationsschaltkreises

Der Motivationsschaltkreis des Gehirns bildet eine plastische Verbindungsinstanz zwischen Reiz und Reaktion und ist daher sowohl mit sensorischen als auch mit motorischen Zentren verbunden (Gahr, 2001). Die Ermittlung belohnender oder bedrohlicher Qualitäten von sensorischen Signalen (z. B. der Anblick oder Geruch von Futter), die Bewertung dieser sensorischen Signale (z. B. gut oder schlecht), die Selektion bzw. Adaptation der belohnungsgerichteten oder bestrafungsvermeidenden Verhaltensabläufe und anschließend die Speicherung dieser Zusammenhänge (z. B. zwischen den erhaltenen Belohnungen und den ursächlichen Verhaltensweisen) sind elementare Funktionen dieses zentralnervösen Systems. Wurden in einem Lernprozess Assoziationen zwischen dem sensorischen Signal, der damit verbundenen Belohnung oder Bestrafung und den ursächlichen Verhaltensweisen gebildet, ist es Mensch und Tier möglich, Vorhersagen in Raum und Zeit über das Auftreten biologisch wichtiger Ereignisse oder Ressourcen zu treffen. Viele dieser Leistungen werden durch den Motivationsschaltkreis des Gehirns erbracht; er ist deshalb für das Überleben des Individuums und der Spezies unabdingbar und erfüllt fundamentale biologische Funktionen im Rahmen der Evolution (Rolls, 1999).

Wichtige Strukturen des Motivationsschaltkreises

Der neurale Schaltkreis, über den die Erwartung bzw. der Erhalt von Belohnungen modulierend auf Verhaltensabläufe wirkt, ist inzwischen in Ansätzen verstanden (Cardinal *et al.*, 2002; Kalivas und Nakamura, 1999; Pennartz *et al.*, 2000; Robbins und Everitt, 1996; Rolls, 1999). Eine herausragende Rolle in diesem Schaltkreis (Abb. 4.4) nehmen der orbitale präfrontale Kortex (OPFC) und die basolaterale Amygdala ein. Elektrophysiologischen Arbeiten zufolge sind diese beiden Strukturen bei der Ermittlung der belohnenden Qualitäten, die mit sensorischen Signalen assoziiert sind, von maßgeblicher Bedeutung. Danach kodieren Neurone in der basolateralen Amygdala die motivationale Signifikanz von Belohnungen und von belohnungsanzeigenden Stimuli und Neurone im OPFC die Bedeutung dieser

Informationen für die Auswahl des Verhaltensprogramms (Baxter und Murray, 2002; Bechara *et al.*, 1999; Hatfield *et al.*, 1996; Holland und Gallagher, 1999; Schoenbaum *et al.*, 1998, 1999).

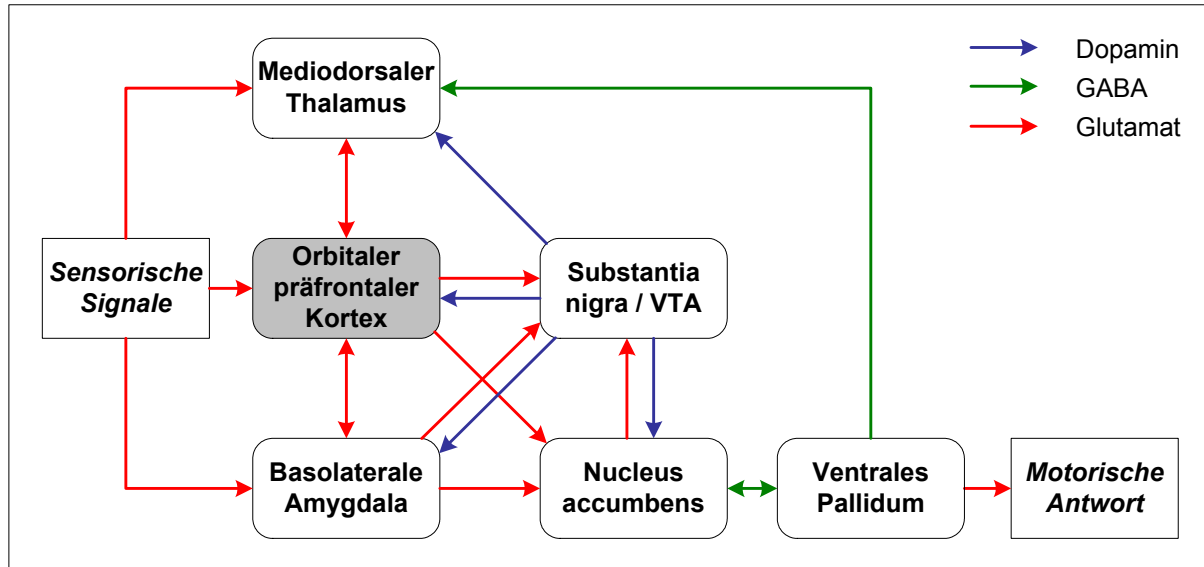


Abb. 4.4. Schematische Darstellung einiger wichtiger Strukturen des Motivationsschaltkreises. Der Motivationsschaltkreis dient der Wahrnehmung und Bewertung von sensorischen Signalen, die mit Belohnungen verknüpft sind, und darauf aufbauend der Initiierung einer belohnungsgerichteten, motorischen Antwort. Informationen in diesem System werden durch die Neurotransmitter Dopamin, GABA und Glutamat übermittelt. Der orbitale präfrontale Kortex und die basolaterale Amygdala sind bei der Ermittlung belohnender Qualitäten von sensorischen Signalen von maßgeblicher Bedeutung. Der Nucleus accumbens erhält Informationen aus dem orbitalen präfrontalen Kortex und der basolateralen Amygdala und ist an der Auswahl des Verhaltensprogramms beteiligt. Diese Informationen gibt der Nucleus accumbens an nachgeschaltete Bereiche weiter, die die Ausführung willkürlicher Bewegungen steuern. VTA: ventrale tegmentale Area. Modifiziert nach Kalivas und Nakamura (1999).

Dopaminerge Neurone aus der Substantia nigra und der ventralen tegmentalen Area (VTA) reagieren auf Belohnungen und die sie anzeigenden Stimuli (Schultz, 2000; Schultz *et al.*, 2000) und beeinflussen durch ihre zahlreichen Efferenzen viele Strukturen des Motivationsschaltkreises, wie z. B. den OPFC, die basolaterale Amygdala, den Nucleus accumbens und den mediodorsalen Thalamus. Die Feedback-Schleife zwischen OPFC, Nucleus accumbens, ventralem Pallidum, mediodorsalem Thalamus und wieder zurück zum OPFC spielt eine Rolle beim Erlernen von angemessenen Verhaltensweisen auf belohnungsanzeigende Stimuli (Chudasama *et al.*, 2001; Gaffan und Parker, 2000; Kalivas und Nakamura, 1999). Der Nucleus accumbens, eine weitere Struktur des Motivationsschaltkreises, erhält Informationen aus Arealen der Hirnrinde, wie dem OPFC oder der basolateralen Amygdala, und ist an der Auswahl des Verhaltensprogramms beteiligt. Diese Informationen gibt der Nucleus accumbens an nachgeschaltete Bereiche weiter (Groenewegen *et al.*, 1996), wie z. B. das ventrale Pallidum, die den Ablauf des zugeordneten, belohnungs-

gerichteten Verhaltens entsprechend anpassen, initiieren und regulieren (Kalivas und Nakamura, 1999).

Das Zusammenspiel der Strukturen des Motivationsschaltkreises erlaubt somit die Vorhersage von Belohnungen, die mit bestimmten Stimuli oder Verhaltenskontexten assoziiert sind, und die Adaptation des zugeordneten, belohnungsgerichteten Verhaltens (Kawagoe *et al.*, 1998; Schoenbaum *et al.*, 1998). Allerdings ist die Arbeitsweise des Motivationsschaltkreises trotz intensiver Forschung (z. B. Cardinal *et al.*, 2000) noch weitgehend unverstanden. Beispielsweise wurde noch nicht untersucht, welche Rolle der OPFC bei instrumentellen Lernvorgängen innehat, d. h. in welcher Weise ein intakter OPFC für die Speicherung des Zusammenhangs zwischen Stimulus, Belohnung und Verhalten im Gedächtnis notwendig ist. Ungeklärt sind darüber hinaus auch neurochemische Korrelate der im OPFC stattfindenden Funktionsabläufe, d. h. es stellt sich die Frage, welche Neurotransmitter des OPFC an instrumentellen Lernvorgängen beteiligt sind.

4.1.4 Medizinische Relevanz von Störungen des Motivationsschaltkreises

Schädigungen von Strukturen des Motivationsschaltkreises

Untersuchungen zur Funktionsweise des Motivationsschaltkreises sind von erheblicher medizinischer Relevanz: in diesem Netzwerk sind besonders der OPFC, die basolaterale Amygdala und der Nucleus accumbens wichtig – jene Teile des Gehirns, bei denen bei einigen neurologischen und psychiatrischen Erkrankungen, wie z. B. Depressionen und Schizophrenie, Fehlfunktionen auftreten (Brown und Pluck, 2000; Rahman *et al.*, 2001). Die Unversehrtheit und das Zusammenwirken des OPFC, der basolateralen Amygdala und des Nucleus accumbens (und natürlich die Repräsentation von Regeln und Strategien) sind Voraussetzung für die Befolgung sozialer Konventionen, moralisches Verhalten und Entscheidungsfindungen, die für das eigene Überleben und Fortkommen vorteilhaft sind (Anderson *et al.*, 1999). Bei vielen neurologischen und psychiatrischen Patienten sind normale Emotionen, Entscheidungsfindung und Verhalten beeinträchtigt. Menschen mit Schädigungen v. a. des OPFC zeigen Persönlichkeitsveränderungen und Änderungen im Sozialverhalten (Damasio, 1995; Kolb, 1990). Sie sind z. B. oft enthemmt, und das soziale Verhalten solcher Patienten ist häufig unpassend und unverantwortlich (Dolan, 1999; Spiro *et al.*, 2001).

Sucht

Auch wird zunehmend deutlich, dass Rauschdrogen die Arbeitsweise des Motivationsschaltkreises verändern und so zur Ausbildung von Suchtverhalten beitragen (Koob *et al.*, 1998; London *et al.*, 2000; Porrino und Lyons, 2000; Wise, 1996). Mittels funktioneller Magnetresonanztomographie konnte an Menschen beispielsweise gezeigt werden, dass Kokain in einigen wichtigen Strukturen dieses Systems Veränderungen der neuronalen Aktivität induziert. Weitergehende Untersuchungen ergaben, dass der Motivationsschaltkreis u. a. die durch Kokain induzierte Euphorie und das Verlangen nach der Droge („*craving*“) vermittelt (Breiter *et al.*, 1997).

Kokain, Heroin, Nikotin und Alkohol sind nur einige der Drogen, die zu Missbrauch und Abhängigkeit führen können. In Deutschland konsumieren ca. 300.000 Menschen „harte“ Drogen, d. h. Heroin, andere Opiate, Kokain, Amphetamin und Ecstasy, jährlich ist mit ca. 111.000 Tabak-bedingten Todesfällen zu rechnen und bei ca. 16 % der 18 – 59-Jährigen ist der Alkohol-Konsum als riskant einzustufen.⁴

Die meisten Definitionen von Sucht oder Abhängigkeit haben gemeinsam, dass sie Sucht als „Zwang eine Droge zu nehmen“ („*compulsion to take a drug*“) beschreiben, was mit einem Verlust der Kontrolle verbunden ist, die Einnahme der Droge zu limitieren (Koob, 1999). Die wesentliche Problematik des Suchtverhaltens ist der irreversible Drang („*craving*“) nach der die Sucht auslösenden Droge, der lebenslang bestehen kann und meist mit Entgleisungen im privaten und beruflich-sozialen Umfeld einhergeht (Lexikon der Neurowissenschaft, 2001). Das konkretisiert Wanke (1985) in seiner Definition der Sucht: „Diesem Verlangen [nach der Droge] [...] werden die Kräfte des Verstandes untergeordnet. Es beeinträchtigt die freie Entfaltung einer Persönlichkeit und zerstört die sozialen Bindungen und die sozialen Chancen des Individuums.“ Und Wanke und Täschner (1985) ergänzen dies: „Sucht ist gekennzeichnet durch einen eigengesetzlichen Ablauf und durch den fortschreitenden Verlust freier Verhandlungsfähigkeit und Kontrolle über das eigene Verhalten. Sucht liegt dann vor, wenn eine prozesshafte Abfolge in sich gebundener Handlungen kritisch geprüfte, sorgfältige und folgerichtig gesteuerte Handlungsabläufe ersetzt.“ Ebenso beschreibt Spanagel (1997) diese Erkrankung: „Drogensucht ist eine erworbene psychische Erkrankung und geht meist mit einer Entgleisung aus dem sozialen Umfeld einher; dabei wird das aufzehrende Verlangen nach der Droge zur zentralen Motivation des Verhaltens.“ Dies könnte auch bei Drogenabhängigen die Beeinträchtigungen von normalen Emotionen, Entscheidungsfindungen und Verhalten erklären.

⁴ <http://www.dhs.de>, 11.09.2002.

In der Hirnforschung werden momentan die Wirkungen dieser Drogen im Gehirn identifiziert. Die Untersuchungen konzentrieren sich dabei auf den Motivationsschaltkreis – einen Schaltkreis aus Gehirnstrukturen, der normalerweise aktiviert wird, wenn „natürliche“ Belohnungen, wie z. B. Essen, aufgesucht und aufgenommen werden. Über diesen Schaltkreis wird ein angenehmes Gefühl der Belohnung und des Wohlbefindens vermittelt, das zur Wiederholung dieser Tätigkeiten führt (Rolls, 1999). Die meisten Drogen können diesen Motivationsschaltkreis ebenfalls stimulieren und sogar stärkere Gefühle des Wohlbefindens auslösen als „natürliche“ Belohnungen (Bonson *et al.*, 2002; Koob *et al.*, 1998). Im Motivationsschaltkreis nehmen bei Sucht besonders der OPFC, die basolaterale Amygdala und der Nucleus accumbens eine Schlüsselrolle ein (Koob, 1999).

Allerdings ist bislang nicht geklärt, wie Rauschdrogen die Arbeitsweise dieses Systems langfristig verändern und so an der Entstehung von Suchtverhalten beteiligt sind (Koob *et al.*, 1998; London *et al.*, 2000). Auch sind die zugrunde liegenden neuronalen und neurochemischen Vorgänge noch weitgehend unverstanden. Bis jetzt kann Abhängigen nur mit einem Entzug „geholfen“ werden; die verschiedenen therapeutischen Programme zur Verhinderung eines Rückfalls greifen bisher hingegen nicht mit der erhofften Effizienz (Spanagel, 1997). Wären aber einmal die neurobiologischen Ursachen von Abhängigkeit bzw. Sucht bekannt, könnten wirksame Behandlungsmethoden für eine dauerhafte Heilung entwickelt werden, was die Rückfallquote von Abhängigen erheblich senken würde.

4.2 Der orbitale präfrontale Kortex

Ziel der vorliegenden Arbeit ist die Untersuchung der Teilstruktur des präfrontalen Kortex (PFC), der möglicherweise homolog zum orbitofrontalen Kortex bei Primaten ist. Zunächst wird daher auf die Anatomie des orbitalen präfrontalen Kortex (OPFC) bei Ratten genauer eingegangen, da dieser in der Literatur nicht einheitlich definiert ist. Dabei wird als erstes eine Abgrenzung des PFC zu anderen Kortexbereichen vorgenommen und die in der Literatur verschiedenen Unterteilungen des PFC in Teilstrukturen beschrieben. Anschließend wird erläutert, wie der Begriff „orbitaler präfrontaler Kortex“ in der vorliegenden Arbeit verwendet wird und welche Untereinheiten zu dieser Teilstruktur des PFC gehören. Darüber hinaus wird gezeigt, mit welchen Gehirnstrukturen der OPFC verbunden ist und welche Informationen der OPFC möglicherweise erhält und weiterleitet.

Da in der vorliegenden Arbeit der OPFC bei Ratten untersucht wurde, wird im Folgenden die Anatomie und die Verbindungen des OPFC mit anderen Strukturen hauptsächlich am Beispiel von Ratten beschrieben und nur an wichtigen Stellen auf die möglichen Homologien bzw. Unterschiede zu Primaten hingewiesen.

4.2.1 Anatomie des orbitalen präfrontalen Kortex

Definition des präfrontalen Kortex

Bei Primaten, einschließlich dem Menschen, und Ratten wird der am meisten frontal gelegene Teil des Kortex als präfrontaler Kortex (PFC) bezeichnet (Abb. 4.5).

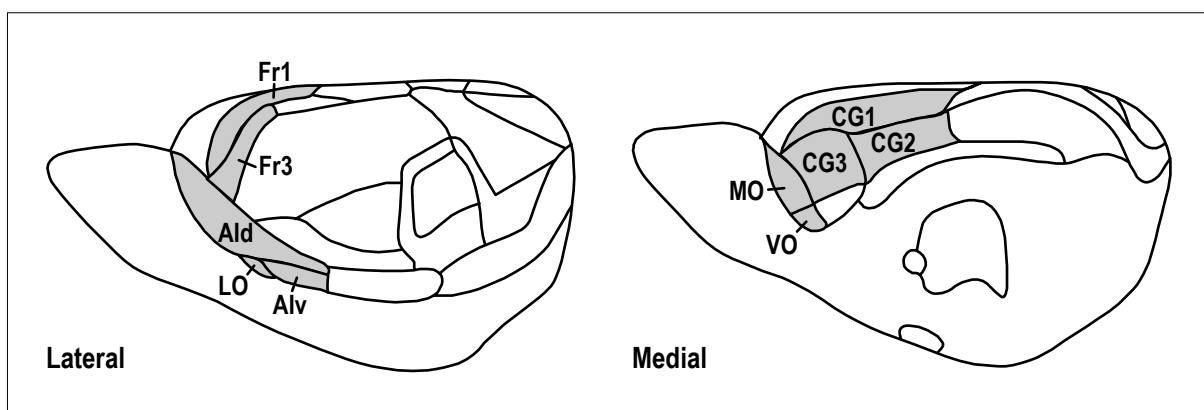


Abb. 4.5. Der präfrontale Kortex der Ratte aus lateraler und medialer Sicht. Die grau unterlegten Untereinheiten gehören zum präfrontalen Kortex der Ratte. Ald: dorsaler agranulärer insulärer Kortex; Alv: ventraler agranulärer insulärer Kortex; CG1: cingulärer Kortex (Area 1); CG2: cingulärer Kortex (Area 2); CG3: cingulärer Kortex (Area 3); Fr1: frontaler Kortex (Area 1); Fr3: frontaler Kortex (Area 3); LO: lateraler orbitaler Kortex; MO: medialer orbitaler Kortex; VO: ventraler orbitaler Kortex. Modifiziert nach Zilles und Wree (1995).

Der PFC kann zu anderen Kortextbereichen bei Primaten aufgrund des Musters der kortikalen Sulci (Furchen) und der zytoarchitektonischen Unterschiede gut abgegrenzt werden (Creutzfeld, 1983). Doch das Aufzeigen von Homologien zwischen Primaten und Nagetieren ist mittels dieser Charakteristika schwierig, da der Kortext von Nagetieren zum einen aufgrund der fehlenden Faltung des Kortext keine Sulci aufweist. Zum anderen unterscheidet sich die Zytoarchitektur bei diesen Ordnungen. So fehlt bei Nagetieren z. B. die granuläre Schicht IV, die bei Primaten gut ausgebildet ist (z. B. Öngür und Price, 2000; Warren und Akert, 1964).

Eine Abgrenzung von Kortextbereichen aufgrund der Herkunft ihrer thalamischen Afferenzen ermöglicht hingegen einen Vergleich zwischen verschiedenen Säugetier-Spezies. Nach der Definition von Rose und Woolsey (1948) gehören bei Säugetieren jene Kortextbereiche zum PFC, die vom mediodorsalen Thalamus innerviert werden. Diese Definition wird inzwischen allgemein verwendet (Berendse *et al.*, 1992; Berger, 1992; De Bruin, 1994; Eichenbaum *et al.*, 1983; Groenewegen *et al.*, 1997; Kolb, 1990; Nonneman *et al.*, 1974; Schoenbaum *et al.*, 2002, in Druck; Zilles und Wree, 1995). Allerdings haben sich in neuerer Zeit Einschränkungen dieser einheitlichen Definition herauskristallisiert, da in Primaten der mediodorsale Thalamus kortikale Regionen innerviert, die jenseits der traditionellen Grenzen des PFC liegen, wie den anterioren cingulären Kortext, den supplementär motorischen Kortext, den primären motorischen Kortext oder den anterioren insulären Kortext (Berger, 1992; Groenewegen *et al.*, 1997).

Unterteilung des präfrontalen Kortext in Teilstrukturen

Wie aus den nachfolgenden Ausführungen hervorgeht, ist eine einheitliche Untergliederung des PFC in Teilstrukturen schwierig. Der PFC wird je nach Autor in zwei bis vier Teilstrukturen untergliedert.

Vier unterschiedliche Projektionsgebiete des mediodorsalen Thalamus gibt es nach Berger (1992) bei Ratten: 1. ein mediales, 2. ein ventrales, 3. ein laterales und 4. ein dorsales Projektionsgebiet.

Nur drei verschiedene Teilstrukturen im PFC von Ratten unterscheiden hingegen Berendse und Kollegen (1992) und Groenewegen und Uylings (2000): 1. einen medialen, 2. einen ventralen orbitalen und 3. einen lateralen sulcalen PFC.

Zwei Teilstrukturen sieht die zurzeit am häufigsten anzutreffende Unterteilung des PFC vor. Nach Leonard (1969) und De Bruin und Kollegen (2000) besteht der PFC bei Ratten aus 1. einem medialen (oder dorsomedialen) und 2. einem orbitalen (oder orbitofrontalen oder suprarhinalen oder lateralen) Bereich. Der am meisten frontal gelegene Bereich des Kortext erhält keine Afferenzen vom mediodorsalen Thalamus und gehört so per Definition nicht zum

PFC. In Analogie zu dieser Unterteilung lässt sich der PFC von Primaten ebenfalls in zwei Teilstrukturen untergliedern, nämlich eine dorsolaterale und orbitofrontale Teilstruktur des PFC (De Bruin, 1994; De Bruin *et al.*, 2000). Auch Nonneman und Kollegen (1974) sprechen von einer Zweiteilung des PFC und beschreiben außerdem die Lage dieser Teilstrukturen: 1. der dorsomediale frontale Kortex bei Ratten, der „mediale Bereiche der Hemisphäre anterior zum Knie des Corpus callosum“ umfasst, entspricht dem arcuaten und dorsolateralen Kortex bei Primaten und 2. der ventrolaterale frontale Kortex, der dorsal dem rhinalen Sulcus aufliegt, entspricht nach ihrer Definition dem orbitalen Kortex bei Primaten. Dieser Bezeichnung folgen auch Eichenbaum und Kollegen (1983) weitestgehend und begründen ihre Unterteilung zum einen mit der Innervierung durch den mediodorsalen Thalamus und zum anderen mit funktionellen Homologien.

Definition und Untereinheiten des orbitalen präfrontalen Kortex

Die Daten aus verschiedenen neuroanatomischen Studien ermöglichen eine weitere Unterteilung der Teilstrukturen des PFC in verschiedene Untereinheiten und zwar sowohl bei Spezies mit einem großen PFC, wie z. B. bei Primaten, als auch bei Spezies mit einem mittelgroßen PFC, wie z. B. bei Nagetieren. In Ratten und Rhesus-Affen ermöglichen zytoarchitektonische Kriterien eine Aufteilung in bis zu 10 oder 11 verschiedene Untereinheiten (Uylings und van Eden, 1990).

Da in der vorliegenden Arbeit der orbitale präfrontale Kortex (OPFC) bei Ratten untersucht wird, wird im Folgenden lediglich detaillierter auf diese Teilstruktur des PFC bei Ratten eingegangen. Anzumerken ist hierbei, dass keine einheitliche Nomenklatur in der Literatur existiert: 1. werden für dieselben Untereinheiten des OPFC und für ähnliche Teilstrukturen des PFC unterschiedliche Bezeichnungen verwendet (z. B. sind die Begriffe lateraler PFC, orbitaler Kortex bzw. PFC oder orbitofrontaler Kortex teilweise synonym) und 2. werden mit den gleichen Namen für Teilstrukturen des PFC unterschiedliche Untereinheiten gemeint.

Die verschiedenen Namen für den OPFC, die möglichen Untereinheiten und abschließend die OPFC-Definition in der vorliegenden Arbeit werden im Folgenden anhand der Ratte vorgestellt.

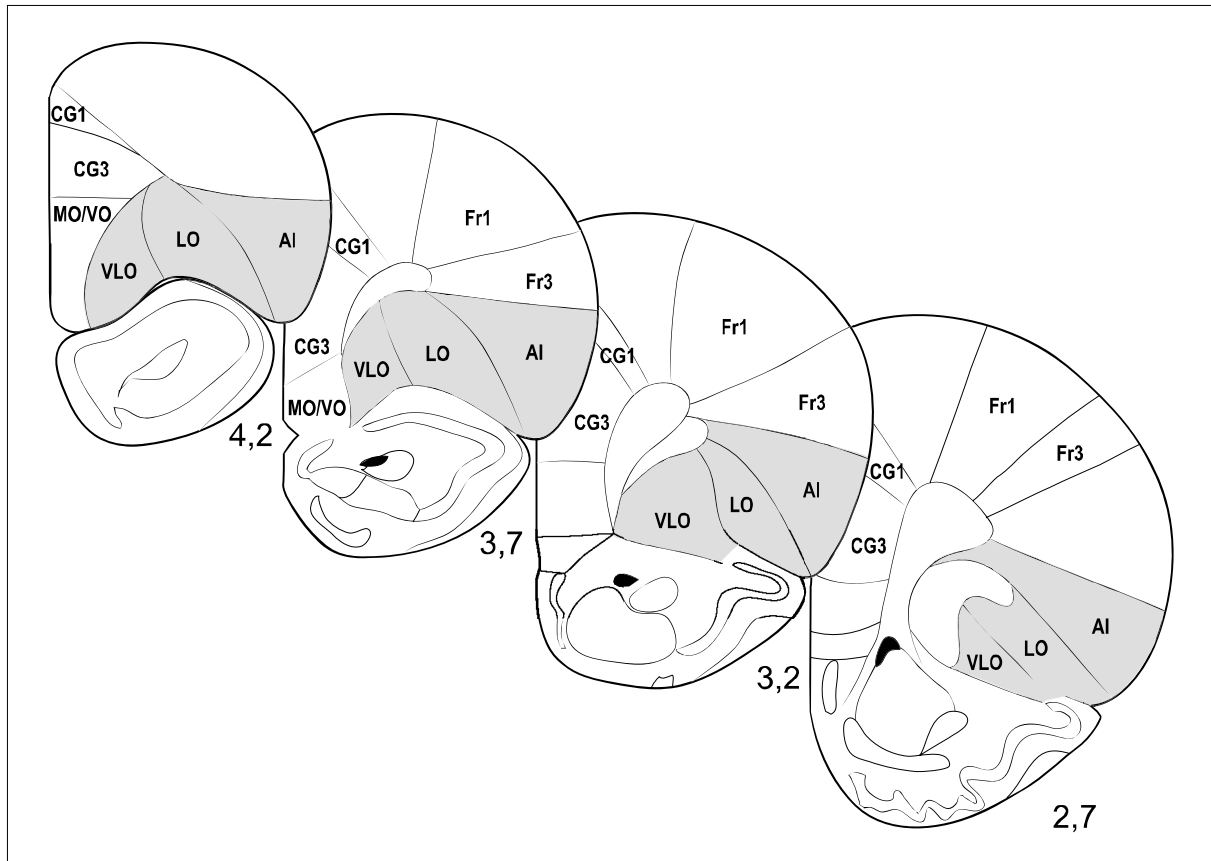


Abb. 4.6. Der orbitale präfrontale Kortex bei Ratten. Dargestellt sind vier Frontalschnitte des Rattengehirns: + 4,2 mm, + 3,7 mm, + 3,2 mm und + 2,7 mm vor Bregma. Beschriftet sind die Untereinheiten des PFC; grau unterlegt sind die Untereinheiten, für die in der vorliegenden Arbeit die Bezeichnung „orbitaler präfrontaler Kortex“ verwendet wird. AI: agranulärer insulärer Kortex; CG1: cingulärer Kortex (Area 1); CG3: cingulärer Kortex (Area 3); Fr1: frontaler Kortex (Area 1); Fr3: frontaler Kortex (Area 3); LO: lateraler orbitaler Kortex; MO: medialer orbitaler Kortex; VLO: ventrolateraler orbitaler Kortex; VO: ventraler orbitaler Kortex. Modifiziert nach Paxinos und Watson (1986).

Nach der Definition von Öngür und Price (2000) gehören zum „orbitalen PFC“ der mediale orbitale, der ventrolaterale orbitale, der dorsolaterale orbitale und der laterale orbitale Kortex. Ferry und Kollegen (2000) bezeichnen den dorsolateralen orbitalen, den ventrolateralen orbitalen und den lateralen orbitalen Kortex zusammen als orbitalen Kortex.

Das ventrale Projektionsgebiet des mediodorsalen Thalamus nach Berger (1992) besteht aus dem ventralen orbitalen, dem ventrolateralen orbitalen, dem lateralen orbitalen, aber nicht dem medialen orbitalen Kortex, und das laterale Projektionsgebiet besteht aus dem dorsalen und ventralen agranulären insulären Kortex, ersterer entspricht dem agranulären insulären Kortex und letzterer dem lateralen orbitalen Kortex. Auch De Bruin (1994) und De Bruin und Kollegen (2000) verwenden die Bezeichnung „lateraler PFC“ und beziehen sich dabei auf den dorsalen und ventralen agranulären insulären Kortex.

Der „orbitofrontale Kortex“ nach der Definition von Zilles und Wree (1995) umfasst den medialen orbitalen, den ventrolateralen orbitalen und den lateralen orbitalen Kortex. Auch

Gallagher und Kollegen (1999), Schoenbaum und Eichenbaum (1995a), Schoenbaum und Setlow (2001) und Schoenbaum und Kollegen (1998; 1999; 2000; 2002) verwenden den Begriff „orbitofrontaler Kortex“ und beziehen sich dabei auf den ventrolateralen orbitalen, den lateralen orbitalen und den agranulären insulären Kortex. Nach Schoenbaum und Kollegen (2002, in Druck) sind die orbitalen Bereiche des PFC und der dorsale und ventrale agranuläre insuläre Kortex bei Ratten homologe Strukturen zum orbitofrontalen Bereich des PFC bei Primaten. Diese Aussage begründen sie zum einen damit, dass diese Region bei Ratten wahrscheinlich thalamische Afferenzen erhält, die sehr ähnlich zu denen des orbitofrontalen Kortex bei Primaten sind (Groenewegen, 1988; Leonard, 1969; Öngür und Price, 2000; Preuss, 1995). Zum anderen stützen sie ihre Homologie-Begründung auf neuroanatomische Studien, die in den letzten beiden Jahrzehnten gezeigt haben, dass der orbitofrontale Kortex von Ratten auch direkte Verbindungen zu einer Vielzahl von anderen Strukturen hat, die denen ähneln, die im Gehirn von Primaten gefunden wurden (siehe Unterkapitel 4.2.2).

Ziel der vorliegenden Arbeit ist die Untersuchung der Teilstruktur des PFC, der vermutlich homolog zum orbitofrontalen Kortex bei Primaten ist. Aus obigen Ausführungen lässt sich somit ableiten, dass dies die Untereinheiten sein dürften, die mit ventrolateraler orbitaler, lateraler orbitaler und agranulärer insulärer Kortex bezeichnet werden (Abb. 4.6). Für diese drei Untereinheiten zusammen wird in der vorliegenden Arbeit die Bezeichnung „orbitaler präfrontaler Kortex“ (OPFC) verwendet.

4.2.2 Verbindungen des orbitalen präfrontalen Kortex

Ziel der vorliegenden Arbeit ist die Untersuchung der Rolle des OPFC bei instrumentellen Lernvorgängen. Zur Analyse dieser Fragestellung ist die Auswahl von geeigneten Aufgabenstellungen notwendig. Hierfür ist die Kenntnis der Verbindungen des OPFC essentiell, d. h. die Kenntnis der Informationen, die der OPFC erhält bzw. weiterleitet.

Nach Groenewegen und Uylings (2000), Öngür und Price (2000), Preuss (1995), Schoenbaum und Setlow (2001) und Schoenbaum und Kollegen (2002, in Druck) besteht eine große Ähnlichkeit zwischen Primaten und Ratten im Hinblick auf die Organisation der afferenten und efferenten Beziehungen des OPFC. Auch haben weitere Studien gezeigt, dass die Ähnlichkeit zwischen Primaten und Ratten z. B. in den kortiko-kortikalen Verbindungen viel größer ist als ursprünglich angenommen (van Eden *et al.*, 1992). Lediglich wenige Autoren sehen die Verbindungen des OPFC in Primaten als viel ausgedehnter an als in Ratten (Rolls, 1996).

Daher werden im Folgenden die Verbindungen des OPFC mit anderen Strukturen hauptsächlich am Beispiel von Ratten beschrieben und nur an wichtigen Stellen auf die Homologien bzw. Unterschiede zu Primaten hingewiesen.

Der OPFC ist ein Assoziationskortex. Deshalb hat er Verbindungen mit sehr vielen anderen Strukturen, wie z. B. kortikalen Bereichen, dem Diencephalon, dem Hirnstamm und limbischen Strukturen, die in einer Übersicht dargestellt sind (Abb. 4.7). Die reziproken Verbindungen des OPFC bestehen zu zwei großen, funktionell unterschiedlichen Bereichen: 1. zu verschiedenen Regionen des zerebralen Kortex, die an der Prozessierung von sensorischen Informationen beteiligt sind, und 2. zum limbischen System des Telencephalons und den verbundenen subkortikalen Strukturen, wie dem Hypothalamus, und den Strukturen im Mes- und Diencephalon, die mit dem Hypothalamus assoziiert sind. Durch Verbindungen mit letztgenannten Strukturen erfolgt eine Prozessierung von emotionalen und viszerale Informationen (Groenewegen und Uylings, 2000).

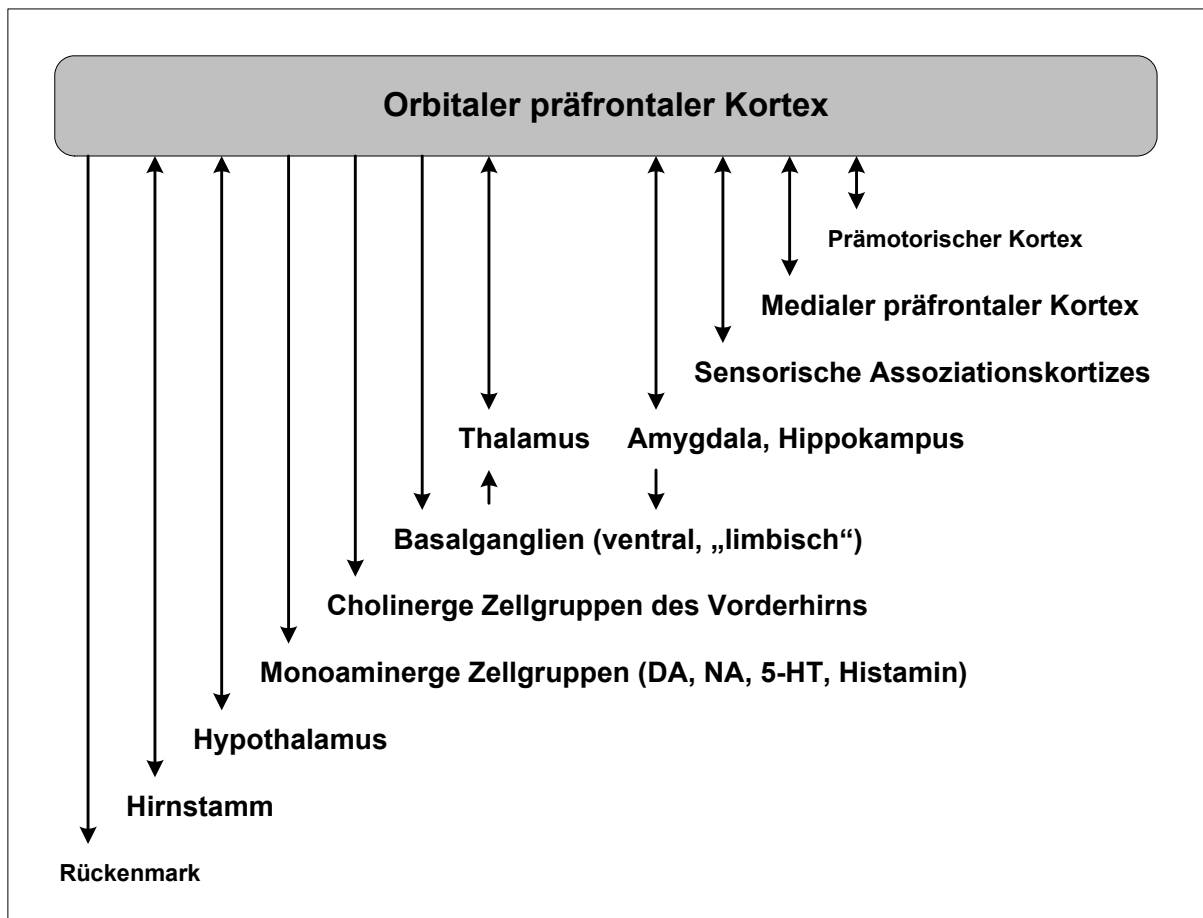


Abb. 4.7. Afferenzen und Efferenzen des OPFC. Der OPFC hat als Assoziationskortex Verbindungen mit zahlreichen Strukturen, wie z. B. kortikalen Strukturen, dem Diencephalon, limbischen Strukturen und dem Hirnstamm. 5-HT: Serotonin; DA: Dopamin; NA: Noradrenalin. Modifiziert nach Groenewegen und Uylings (2000).

Verbindungen mit kortikalen Arealen

Der OPFC bei Ratten besitzt zahlreiche direkte und indirekte reziproke Verbindungen mit verschiedenen kortikalen Arealen (Groenewegen und Uylings, 2000). Nach Öngür und Price (2000) konnten bei Affen visuelle, auditorische, somatosensorische, olfaktorische und gustatorische Eingänge im OPFC nachgewiesen werden, bei Ratten sind aber vergleichbare Eingänge bisher nur aus olfaktorischen, gustatorischen, somatosensorischen und visuellen, aber nicht aus auditorischen Arealen belegt. Andere Autoren weisen außerdem daraufhin, dass im Gegensatz zu Primaten die (indirekten) visuellen Eingänge des OPFC bei Ratten stärker ausgeprägt sind als andere sensorische Eingänge, während bei Primaten der orbitofrontale Kortex auditorische und visuelle Informationen gleichermaßen erhält (Kolb, 1990; Morecraft *et al.*, 1992). Die einzigen Quellen von direkten sensorischen Eingängen sind bei Ratten die olfaktorischen und gustatorischen Afferenzen der orbitalen Areale und des dorsalen und ventralen agranulären insulären Kortex (Eichenbaum *et al.*, 1980; 1983; Groenewegen und Uylings, 2000). Der dorsale und ventrale agranuläre insuläre Kortex bei Ratten hat darüber hinaus reziproke Verbindungen mit dem infralimbischen, prälimbischen und ventralen anterioren cingulären Kortex (Groenewegen und Uylings, 2000). Der ventrale orbitale Kortex bei Ratten besitzt ausgedehnte Verbindungen mit dem cingulären Kortex, dem frontalen Kortex (Area 2), dem somatosensorischen parietalen Kortex (Area 2), dem posterioren parietalen Kortex und dem medialen und lateralen sekundären visuellen Kortex. Der ventrolaterale orbitale Kortex bei Ratten ist mit dem insulären Kortex, dem frontalen Kortex (Area 2), dem somatosensorischen parietalen Kortex (Area 1, 2), dem posterioren parietalen Kortex und dem lateralen sekundären visuellen Kortex verbunden. Und der laterale orbitale Kortex unterhält Verbindungen mit dem granulären und agranulären insulären Kortex und dem somatosensorischen parietalen Kortex (Area 2) (Groenewegen und Uylings, 2000; Reep *et al.*, 1996).

Somit ist der OPFC bei Ratten als Assoziationskortex in der Lage, multimodale sensorische Informationen (bis auf die auditorischen) zu integrieren und prozessieren.

Verbindungen mit der Hippokampus-Formation und der Amygdala

Die limbischen Strukturen des Telencephalons – die Amygdala und der Hippokampus – sind direkt und reziprok mit dem OPFC verbunden. Diese beiden Strukturen sind durch ihre spezifischen, topografisch organisierten Projektionen in einem Netzwerk des Vorderhirns involviert, zu dem auch der OPFC gehört (Groenewegen und Uylings, 2000).

Die CA1-Region und das Subikulum der Hippokampus-Formation projizieren u. a. auf den lateralen PFC (Groenewegen und Uylings, 2000; Kolb, 1990). Dadurch erhält der OPFC Zugang zu Informationen des Langzeitgedächtnisses (Wittenberg und Tsien, 2002).

Polysensorische und viszerale sensorische Afferenzen konvergieren in der Amygdala und werden zum mediodorsalen Thalamus und OPFC weitergeleitet (Groenewegen und Uylings, 2000). Bei Ratten stammen die amygdaloidalen Afferenzen des OPFC hauptsächlich von der basolateralen Amygdala (Groenewegen *et al.*, 1990; 1991; Groenewegen und Uylings, 2000). In verschiedenen Studien konnte beobachtet werden, dass der dorsale agranuläre insuläre Kortex auf die basalen und zentralen amygdaloidalen Nuklei projiziert, und der ventrale Teil des lateralen PFC Fasern zu den oberflächlichen Bereichen der Amygdala unterhält. Der ventrale agranuläre insuläre Kortex hat als Zielgebiete die kortikalen, zentralen, akzessorischen und lateralen amygdaloidalen Nuklei (Übersicht in Groenewegen und Uylings, 2000).

Die reziproken Verbindungen des OPFC mit der Amygdala, v. a. mit dem basolateralen Kern, ermöglichen die Interaktion dieser beiden Strukturen bei der Ermittlung der belohnenden Qualitäten von sensorischen Signalen (Schoenbaum *et al.*, 1998).

Verbindungen mit dem mediodorsalen Thalamus

Der OPFC hat reziproke Verbindungen zum mediodorsalen Thalamus (Groenewegen *et al.*, 1990; Krushel und van der Kooy, 1988; Uylings und van Eden, 1990). In Ratten projiziert der mediale Teil des mediodorsalen Thalamus u. a. auf den dorsalen agranulären insulären Kortex und übermittelt dabei limbische und viszerale Informationen aus dem basalen Vorderhirn, dem lateralen Hypothalamus, dem Hirnstamm und Strukturen des Temporallappens, wie z. B. der Amygdala. Der zentrale Teil des mediodorsalen Thalamus ist eine Relaisstation für olfaktorische Informationen auf dem Weg zum ventralen agranulären insulären Kortex. Außerdem beeinflussen Informationen aus den Basalganglien über den mediodorsalen Thalamus den gesamten OPFC (Groenewegen und Uylings, 2000; Jones *et al.*, 1987). Reep und Kollegen (1996) beschreiben die Afferenzen des OPFC von den thalamischen Nuklei genauer: der ventrale orbitale Kortex wird vom lateralen mediodorsalen, vom rostromedialen submedialen und vom zentralen lateralen Nukleus innerviert. Der ventrolaterale orbitale Kortex erhält Afferenzen vom gesamten submedialen und vom lateralen mediodorsalen Nukleus und der laterale orbitale Kortex vom zentralen mediodorsalen, vom ventralen submedialen and vom ventromedialen Nukleus. Umgekehrt unterhält der OPFC auch Efferenzen zum mediodorsalen Thalamus. Der dorsale und posteriore agranuläre insuläre Kortex innervieren den medialen mediodorsalen Thalamus, der laterale und ventrolaterale

orbitale Kortex und der ventrale agranuläre insuläre Kortex den zentralen mediodorsalen Thalamus (Ray *et al.*, 1992).

Somit erhält der OPFC vom mediodorsalen Thalamus emotionale, viszerale und sensorische Informationen, die letzterem wiederum aus verschiedenen Gehirnbereichen übermittelt werden.

Verbindungen mit dem Striatum

Der OPFC projiziert bilateral mit ipsilateraler Dominanz über die kortiko-striatalen Signalübermittlungswege zum Striatum (Groenewegen *et al.*, 1990; Uylings und van Eden, 1990). Jede der zytoarchitektonisch verschiedenen Untereinheiten des OPFC hat longitudinal orientierte striatale Terminationsgebiete, die sich nur geringfügig mit denen von benachbarten Untereinheiten des OPFC überlappen. Anatomische und elektrophysiologische Studien zeigen, dass der laterale präfrontale Kortex, d. h. der dorsale und ventrale agranuläre insuläre Kortex, auf mehr zentral und lateral gelegene Teile des Nucleus accumbens und des Caudatus-Putamen projiziert (Berendse *et al.*, 1992; Groenewegen *et al.*, 1990; 1991; Groenewegen und Berendse, 1994; Haber *et al.*, 1995; McGeorge und Faull, 1989; Montaron *et al.*, 1996; Wright und Groenewegen, 1996). Während der dorsale agranuläre insuläre Kortex auf kaudale Teile des Kernbereichs des Nucleus accumbens projiziert, innerviert der ventrale agranuläre insuläre Kortex ventrolaterale Teile des Nucleus accumbens (Groenewegen und Berendse, 1994). Die Terminationsgebiete der orbitalen Bereiche des PFC beinhalten ventrale und ventromediale Bereiche des Caudatus-Putamen (Berendse *et al.*, 1992; Groenewegen und Berendse, 1994). Bisher ist nicht bekannt, wie die Efferenzen des OPFC die Signalübermittlungswege im Striatum genau beeinflussen, aber es ist wahrscheinlich, dass OPFC-Neurone auf die striatalen Ausgangsneurone projizieren und auf diese Weise die Weiterübermittlung in den Basalganglien je nach Art der Ausgangsneurone sowohl ermöglichen als auch unterdrücken könnten (Groenewegen und Uylings, 2000).

Zusammengefasst lässt sich feststellen, dass der OPFC hauptsächlich zentrale und laterale Teile des Nucleus accumbens, den so genannten „Kernbereich“ („core“) des Nucleus accumbens, innerviert. Der OPFC könnte durch die Übermittlung von Informationen Einfluss nehmen auf die Auswahl und Initiierung von Verhalten basierend auf dem motivationalen Wert der Ergebnisse dieses Verhaltens, da dies die Schlüsselfunktionen des Kernbereichs des Nucleus accumbens sind (Corbit *et al.*, 2001).

Verbindungen mit cholinergen und monoaminergen Zellgruppen

Mehrere cholinerge und monoaminerge Zellgruppen aus dem basalen Vorderhirn, dem lateralen Hypothalamus und aus dem Hirnstamm, wie z. B. die serotonergen Neurone im Nucleus raphe, die noradrenergen Neurone im Locus coeruleus und die dopaminergen Neurone im ventralen Mesencephalon, die die prominentesten dieser Zellgruppen sind, entsenden Efferenzen zum OPFC (Divac *et al.*, 1978; Groenewegen *et al.*, 1990; Groenewegen und Uylings, 2000; Reep, 1984). Bei Ratten erhalten v. a. der laterale orbitale Kortex und die insulären Bereiche eine dopaminerge Innervation (Berger *et al.*, 1976; Berger, 1992; Ferron *et al.*, 1984; Uylings und van Eden, 1990).

Von den dopaminergen Neuronen scheint der OPFC Informationen über Belohnungen und die sie anzeigenden Stimuli zu erhalten, die u. a. für Lernvorgänge benötigt werden (Schultz, 2000; Schultz *et al.*, 2000). Serotonin und Noradrenalin verbessern allgemein die Aufmerksamkeit und das Gedächtnis für emotional bedeutende Ereignisse (Aston-Jones *et al.*, 1997; Kandel *et al.*, 2000). Diese Effekte könnten die serotonergen und noradrenergen Afferenzen auch im OPFC ausüben.

Verbindungen mit dem Hypothalamus

Der Hypothalamus unterhält direkte Afferenzen zum OPFC. Die kortikal projizierenden Neurone liegen im tuberalen und posterioren lateralen Hypothalamus, dem tuberomammilaren Nukleus und im Bereich direkt ventral vom Thalamus. Letztere Neurone innervieren den insulären Kortex. Alle diese Zellgruppen projizieren in einer ungefähr medial-lateral topografisch organisierten Weise auf den gesamten zerebralen Kortex, auch wenn die Intensität unterschiedlich ist und eine Präferenz für limbische und präfrontale Bereiche besteht. Der OPFC erhält aber nicht nur Afferenzen vom Hypothalamus, sondern projiziert auch direkt auf den lateralen Hypothalamus zurück. Durch direkte reziproke Verbindungen mit dem Hypothalamus steuert der OPFC viszerale Funktionen (Groenewegen und Uylings, 2000).

In diesem Unterkapitel konnte gezeigt werden, dass der OPFC als Assoziationskortex Verbindungen mit zahlreichen Strukturen unterhält, wie z. B. kortikalen Bereichen, dem Diencephalon, dem Hirnstamm und limbischen Strukturen, und somit in der Lage ist, verschiedene sensorische (außer auditorische) und limbische Informationen zu integrieren und prozessieren und Einfluss auf motorisches Verhalten zu nehmen. Die Verbindungen ermöglichen dem OPFC in den Aufgabenstellungen der vorliegenden Arbeit als Struktur des

Motivationsschaltkreises die Kodierung der relativen Belohnungsstärke von sensorischen Stimuli und die Repräsentation des motivationalen Wertes dieser belohnungsanzeigenden Stimuli für die Steuerung des zielgerichteten Verhaltens. Diese möglichen Funktionen des OPFC im Rahmen des Motivationsschaltkreises werden im folgenden Kapitel vorgestellt.

4.3 Der orbitale präfrontale Kortex und der Motivationsschaltkreis

Im Hinblick auf mögliche Funktionen des OPFC weisen die Daten von verschiedenen Spezies in vergleichbaren Aufgabenstellungen eine deutliche Übereinstimmung auf (z. B. Baxter *et al.*, 2000; Cardinal *et al.*, 2002; Corwin *et al.*, 1994; De Bruin *et al.*, 2000; Kolb *et al.*, 1974; Schoenbaum und Setlow, 2001; Schoenbaum *et al.*, 2002, in Druck). Nach Rolls (2000) ist es hingegen schwierig, homologe Strukturen bei Primaten und Ratten zu determinieren, sodass bei einem Vergleich der Funktionen dieses Gehirnbereichs zwischen diesen Spezies Vorsicht geboten ist. Bereits in Kapitel 4.2.1 wurde beschrieben, dass homologe Gehirnbereiche des OPFC bei Affen und Primaten aufgezeigt werden können. Daher werden im Folgenden zur Charakterisierung der möglichen Funktionen des OPFC im Motivationsschaltkreis Studien sowohl mit Ratten als auch mit Primaten, einschließlich Menschen, herangezogen.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist die Untersuchung der Rolle des OPFC bei instrumentellen Lernvorgängen. Bevor der derzeitige Stand der Forschung zu verschiedenen zeitlichen Phasen des instrumentellen Lernens (Erlernen, Abruf, Umlernen und weitere Lernvorgänge bei Veränderungen von Stimulus-Belohnungs-Beziehungen) detaillierter beschrieben werden, wird zuerst allgemein auf die Rolle des OPFC bei der Kodierung von Belohnungen und belohnungsanzeigenden Stimuli und bei zielgerichtetem Verhalten eingegangen.

4.3.1 Der orbitale präfrontale Kortex, Belohnungen und belohnungsanzeigenden Stimuli

Der OPFC wird allgemein als Struktur des Motivationsschaltkreises angesehen, der die Auswahl und Ausführung von zielgerichtetem Verhalten mittels Informationen über den motivationalen Wert von Belohnungen und belohnungsanzeigenden Stimuli steuert (siehe Unterkapitel 4.1.3). Diese Annahmen stützen sich auf folgende Daten:

Repräsentation von Stimulus-Belohnungs-Beziehungen

Es konnte gezeigt werden, dass im OPFC von Affen multimodale Neurone existieren, die auf Stimulation der visuellen, olfaktorischen und gustatorischen Systeme reagieren. Somit scheint der OPFC bei Affen eine Region sein, in der Informationen aus vielen verschiedenen sensorischen Modalitäten konvergieren (Rolls und Baylis, 1994; Rolls, 1997). Auf die

Integration verschiedener Informationen deuten auch die Befunde von Morris und Dolan (2001) aus einer PET-Scan-Studie hin, wonach die Aktivität des OPFC auf belohnungsanzeigende Stimuli sich je nach Hungerzustand, Gedächtnisanforderungen und Stimulus-Kategorie, d. h. Futter versus Nicht-Futter, verändert. Daraus schlossen sie, dass der OPFC bei der Integration von Wahrnehmungs- (z. B. Futter), motivationalen (z. B. Hunger) und kognitiven (z. B. Gedächtnis) Prozessen im menschlichen Gehirn eine Rolle spielt. Außerdem sind Neurone des OPFC bei Ratten an der Bildung von Assoziationen innerhalb des Langzeitgedächtnisses beteiligt, z. B. von Assoziationen zwischen Gerüchen und den Orten des Auftretens dieser Gerüche (Lipton *et al.*, 1999). Auch konnte im OPFC von Ratten nach einer Pawlowschen Konditionierung eine erhöhte Fos-Expression auf den konditionierten Stimulus gemessen werden. Dies bedeutet, dass konditionierte Stimuli, die mit Belohnungen assoziiert sind u. a. plastische Veränderungen im OPFC von Ratten induzieren (Schroeder *et al.*, 2001), die möglicherweise im Zusammenhang mit der Repräsentation von Stimulus-Belohnungs-Beziehungen im OPFC stehen.

Diskrimination verschiedener belohnungsanzeigender Stimuli

Aktivitätsänderungen können im OPFC bei Affen und Menschen auf belohnungsanzeigende Stimuli, d. h. in Erwartung einer Belohnung, sowie vor und nach Erhalt der Belohnung beobachtet werden (O'Doherty *et al.*, 2002; Schultz, 2000; Schultz *et al.*, 1998; 2000; Tremblay und Schultz, 2000a).

Der OPFC repräsentiert aber nicht nur belohnungsanzeigende Stimuli im Allgemeinen. Die Aktivität von einzelnen Neuronen im OPFC von Ratten und Primaten wird auch durch die Identität des Stimulus beeinflusst, da die Neurone in unterschiedlichem Ausmaß auf verschiedene Stimuli reagieren, also z. B. auf die physikalischen Eigenschaften der Stimuli, und somit verschiedene Stimuli diskriminieren können (Rolls, 1996; Schoenbaum und Eichenbaum, 1995a; 1995b; Schultz *et al.*, 2000). Auch haben die erlernte Assoziation zwischen den Stimuli und den ihnen zugewiesenen Belohnungen und die daraus resultierenden Belohnungserwartungen einen Einfluss auf die Aktivität der einzelnen Neurone, wobei das Muster der Aktivität der OPFC-Neurone in Ratten der von OPFC-Neuronen in Primaten ähnelt (Rolls, 1996; Schoenbaum und Eichenbaum, 1995a; 1995b; Schultz, 2000; Schultz *et al.*, 1998; 2000; Tremblay und Schultz, 2000a). Somit sind OPFC-Neurone in der Lage, verschiedene Stimuli, die mit verschiedenen Belohnungen assoziiert sind, zu diskriminieren.

Kodierung des aktuellen motivationalen Wertes von Belohnungen und belohnungsanzeigenden Stimuli

Die Rolle des OPFC bei der Kodierung des Wertes von Belohnungen und belohnungsanzeigenden Stimuli wurde in zahlreichen Studien untersucht: in PET-Scan-Studien bei Menschen konnte beobachtet werden, dass der OPFC bei emotional angenehm oder unangenehm bewerteten Stimuli unterschiedlich aktiviert wird (Royet *et al.*, 2000). Bei Affen ändern OPFC-Neurone ihre Aktivität während einer Tastendruckaufgabe für Futter. Sie zeigen unterschiedliche Aktivitätsänderungen in verschiedenen Belohnungs-Situationen: bei Standardfutter nimmt die Aktivität ab, in Versuchsdurchgängen ohne Futter ist diese Abnahme der Aktivität sehr gering und in Versuchsdurchgängen mit schmackhafterem Futter ist die Abnahme der Aktivität größer (Abb. 4.8) (Aou *et al.*, 1983).

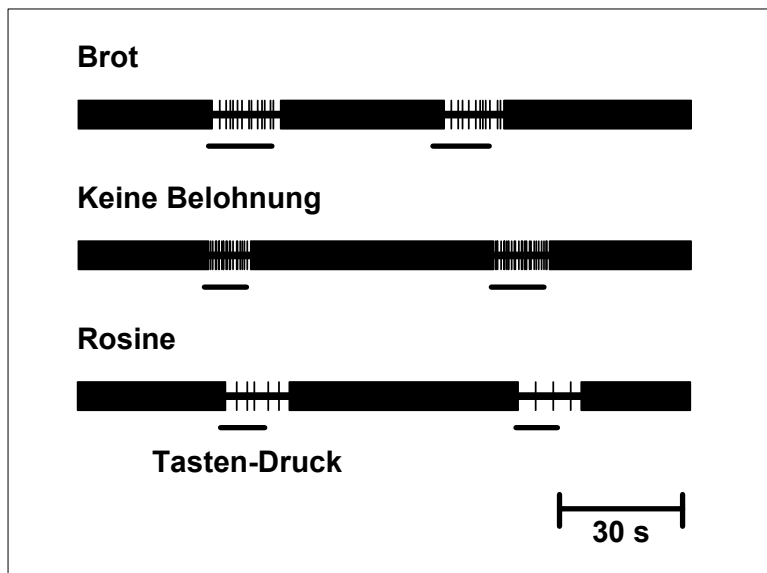


Abb. 4.8. Charakteristische Aktivität eines OPFC-Neurons eines Affen. Pro Zeile ist die Aktivität eines OPFC-Neurons in zwei aufeinander folgenden Versuchsdurchgängen dargestellt. Die Aufgabe besteht darin, eine Taste für verschiedene Sorten Futter zu drücken. Im oberen Fall erhält der Affe normales Futter (Brot): die Aktivität des Neurons nimmt ab. Im mittleren Fall wird dem Affen kein Futter gegeben: die Aktivität des Neurons nimmt kaum ab. Und im unteren Fall wird dem Affen schmackhafteres Futter (eine Rosine) präsentiert: die Aktivität des Neurons nimmt sehr stark ab. Dies zeigt, dass OPFC-Neurone verschiedene Belohnungen diskriminieren. Modifiziert nach Aou *et al.* (1983).

Dabei scheint weder das Fressen an sich noch der Blutglukose-Spiegel, sondern andere interozeptive Faktoren, wie z. B. Hormone oder Metaboliten, die Aktivität der OPFC-Neurone zu beeinflussen: die Aktivität von OPFC-Neuronen ist noch für eine relativ lange Zeit verändert, nachdem Affen bis zur Sättigung gefressen haben. Glukose-Injektionen hingegen haben keinen Einfluss auf die Aktivität der OPFC-Neurone. Diese Daten liefern somit einen Hinweis darauf, dass der OPFC interozeptive Informationen erhält und an der Integration dieser Informationen bei Affen beteiligt ist. Durch die Integration dieser Informationen kann der OPFC seine Rolle bei der Verarbeitung von emotionalen und externen sensorischen Informationen erfüllen (Nakano *et al.*, 1984). Dass der OPFC eine Funktion bei der Kodierung des Wertes von Belohnungen hat, zeigt auch die folgende Studie, in der Affen nach OPFC-Läsionen Futter auswählen und fressen, das sie vor den Läsionen

zurück gewiesen haben. Dieses Ergebnis wird als Veränderung der Futter-Präferenzen aufgrund der Schädigung des OPFC interpretiert (Rolls, 1984). Diese Veränderung könnte auch erklären, warum Ratten nach Läsionen des OPFC weniger Wasser und Futter aufnehmen und langsam, aber langfristig deutlich an Gewicht verlieren (De Bruin *et al.*, 1983; Kolb und Nonneman, 1975). In einer Aufgabenstellung mit verschiedenen Belohnungen konnten auch Hikosaka und Watanabe (2000) nachweisen, dass der OPFC bei Affen mit dem motivationalen Aspekt der Belohnungserwartung befasst ist. Denn die Aktivität der OPFC-Neurone variiert mit der unterschiedlichen Präferenz für die verschiedenen Belohnungen und der motivationale Zustand des Affen moduliert zudem diese Aktivität. Dies konnte ebenso in den folgenden Studien beobachtet werden: die Höhe der Aktivität von OPFC-Neuronen korreliert mit der Höhe des aktuellen Wertes des belohnungsanzeigenden Stimulus oder der Belohnung oder Bestrafung, die das Individuum erhält (O'Doherty *et al.*, 2001; Schoenbaum und Eichenbaum, 1995a). Dies zeigt, dass der OPFC an der Kodierung des aktuellen motivationalen Wertes von Belohnungen und belohnungsanzeigenden Stimuli beteiligt ist.

Kodierung des relativen motivationalen Wertes von Belohnungen und belohnungsanzeigenden Stimuli

Neurone im OPFC kodieren weniger die verschiedenen physikalischen Eigenschaften und den absoluten motivationalen Wert von verschiedenen Belohnungen und belohnungsanzeigenden Stimuli, sondern vielmehr ihren relativen motivationalen Wert, ihre relative motivationale Signifikanz bzw. die relative Präferenz des Affen für die Belohnung. Dieser Befund gründet sich darauf, dass Affen eine Präferenz im Verhalten zeigen für eine Belohnung, die durch einen belohnungsanzeigenden Stimulus angekündigt wird, im Vergleich zur alternativ verfügbaren Belohnung, die durch einen anderen belohnungsanzeigenden Stimulus angekündigt wird. Diese Präferenz für eine Belohnung und damit einen belohnungsanzeigenden Stimulus korreliert mit der unterschiedlichen Aktivität der OPFC-Neurone, was den motivationalen Wert des belohnungsanzeigenden Stimulus in Relation zum alternativ präsentierten belohnungsanzeigenden Stimulus widerspiegeln könnte (Abb. 4.9) (Tremblay und Schultz, 1999).

Die relative Kodierung der Attraktivität von belohnungsanzeigenden Stimuli zeigt sich auch in folgender Studie: wenn ein Affe oder Mensch eine Sorte Nahrung bis zur Sättigung isst, nimmt die Aktivität der Neurone im OPFC auf den Geschmack oder Geruch dieser Nahrung ab und das Verhalten des Affen bzw. Menschen ändert sich, während die Antworten der Neurone im OPFC auf andere Sorten Nahrung davon unbeeinflusst bleiben. Dies wird als „spezifische sensorische Sättigkeit“ bezeichnet (O'Doherty *et al.*, 2000a; b; Rolls, 1997; 1999;

2000). Die Attraktivität der gerade bis zur Sättigung gegessenen Nahrung wird somit geringer bewertet als die Attraktivität anderer Sorten Nahrung. Ebenso bewerten menschliche Probanden, wenn sie Schokolade essen, den Geschmack von Schokolade am Anfang als angenehm, nachdem sie satt sind, jedoch als unangenehm. Entsprechend dem sich ändernden motivationalen Wert der Schokolade verändert sich auch die Aktivität der Neurone im menschlichen OPFC (Small *et al.*, 2001).

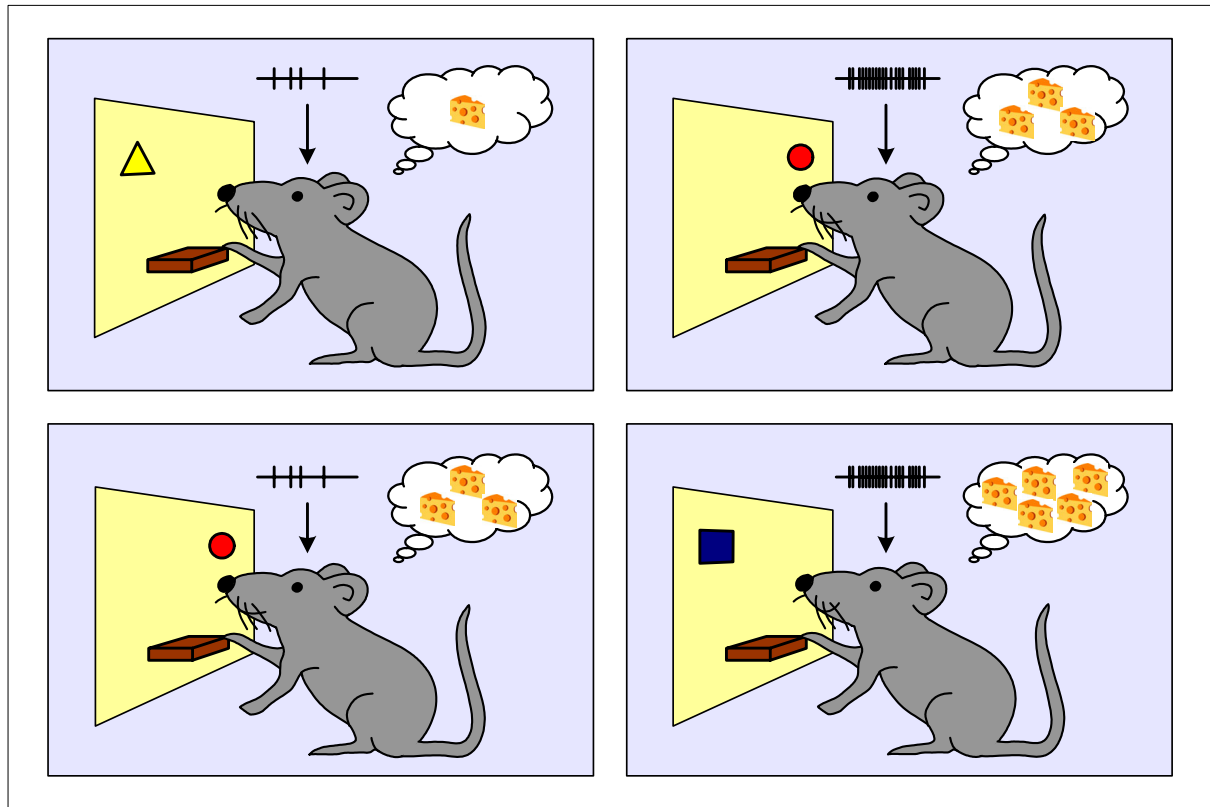


Abb. 4.9. Aktivität eines imaginären OPFC-Neurons, das die relative Präferenz für eine Belohnungsstärke widerspiegelt. Um eine Belohnung zu erhalten, muss die Ratte sich erinnern, welcher Stimulus welche Belohnungsstärke anzeigt. Im ersten Versuch (*oben*) zeigt ein Dreieck ein Käsestück und ein Kreis drei Käsestücke als Belohnung an. Die Ratte bevorzugt drei gegenüber einem Käsestück, sodass die Aktivität des Neurons höher ist, wenn die Ratte den Kreis sieht. Im zweiten Versuch (*unten*) zeigt ein Kreis drei Käsestücke und ein Quadrat fünf Käsestücke als Belohnung an. Da die Ratte fünf gegenüber drei Käsestücken bevorzugt, ist die Aktivität des Neurons höher, wenn die Ratte das Quadrat sieht. Die Aktivität des Neurons beim Anblick des Kreises ist geringer im Vergleich zum Anblick des Quadrates im zweiten Test und auch im Vergleich zum Anblick des Kreises beim ersten Test. Modifiziert nach Watanabe (1999).

Wahrscheinlichkeitsbeziehung von belohnungsanzeigenden Stimuli und Belohnungen

In Studien mit funktioneller Magnetresonanztomografie wurde bei Kartentests, bei denen den Probanden entweder die Kartenvorderseite oder -rückseite gezeigt wurde und sie die Farbe nennen oder erraten mussten, eine umso größere Aktivität im menschlichen OPFC beobachtet, je schwieriger die Aufgabe wurde, also je komplexer die Anforderungen an die Wahrscheinlichkeitsvoraussage wurden. D. h. Neurone im OPFC weisen bei Menschen dann

eine größere Aktivität auf, wenn ungenügende Informationen zur Verfügung stehen (z. B. wenn die Kartenrückseite gezeigt wird), um das entsprechende Verhalten anzupassen (d. h. die Farbe erraten werden soll) (Elliott *et al.*, 1999). Im Besonderen kann im OPFC v. a. dann eine erhöhte Aktivität beobachtet werden, wenn Aufgaben durchgeführt werden, bei denen die Repräsentation von motivationalen Werten und das im Gedächtnis-Behalten der motivationalen Werte von bisherigen und zukünftigen belohnungsanzeigenden Stimuli und Belohnungen benötigt wird. D. h. der OPFC wird besonders dann aktiviert, wenn eine Wahrscheinlichkeitsvoraussage des motivationalen Wert von belohnungsanzeigenden Stimuli und Belohnungen zur Steuerung des Verhaltens verwendet werden kann (Elliott *et al.*, 2000).

4.3.2 Der orbitale präfrontale Kortex und zielgerichtetes Verhalten

Steuerung von zielgerichtetem Verhalten

Motivationale Prozesse determinieren die Wahrscheinlichkeit, mit der bestimmte Verhaltensreaktionen auftreten, und die Intensität, mit der diese Verhaltensreaktionen ausgeführt werden. Da OPFC-Neurone die motivationalen Aspekte von Belohnungen und belohnungsanzeigenden Stimuli kodieren, nehmen sie Einfluss darauf, „warum“ eine Verhaltensreaktion ausgelöst wird (Schultz *et al.*, 2000). Oder anders ausgedrückt könnte die Fähigkeit, den relativen motivationalen Wert von konkurrierenden Zielen zu prozessieren, möglicherweise essentiell bei der Auswahl von zielgerichtetem Verhalten sein, wenn mehrere Ziele gleichzeitig zur Verfügung stehen (Hollerman *et al.*, 2000; Rolls, 1999; Tremblay und Schultz, 1999). Einige Studien deuten darauf hin, dass der OPFC nicht nur den relativen motivationalen Wert von konkurrierenden Zielen als Voraussetzung für die Steuerung des Verhaltens kodieren könnte, sondern möglicherweise auch selber an der Steuerung von zielgerichtetem Verhalten beteiligt sein könnte: Neurone im OPFC bei Affen kodieren Informationen darüber, welche Stimuli präsent sind und welche Konsequenzen das Verhalten des Affen haben werden. Vermutlich bilden die Neurone zusammen einen neuronalen Mechanismus, um zu entscheiden, welche speziellen visuellen Stimuli mit Belohnungen assoziiert sind, und um dafür zu sorgen, dass die Antworten des Affen auf die Stimuli angepasst werden (Thorpe *et al.*, 1983). Weiterhin finden bei Ratten Aktivitätsänderungen von Neuronen im OPFC und Änderungen des zielgerichteten Verhalten der Ratten auf verschiedene Stimuli zeitgleich statt (Yonemori *et al.*, 2000). Ebenso konnte in elektrophysiologischen Arbeiten mit Ratten gezeigt werden, dass durch Veränderungen der Stimulus-Belohnungs-Beziehungen Aktivitätsänderungen in OPFC-Neuronen auftreten, die zeitlich mit Änderungen des zielgerichteten Verhaltens korrelieren. Dies deutet darauf hin,

dass der OPFC für die Integration und Bewertung von Informationen, für die Entscheidungsfindung, welches Verhalten passend ist, und darauf aufbauend für die Steuerung dieses Verhaltens benötigt wird (Schoenbaum *et al.*, 1998; 1999). Dies bestätigen auch die elektro-physiologischen Befunde von Ramus und Eichenbaum (2000) bei Ratten, die darauf hindeuten, dass der OPFC als höherer Assoziationskortex sowohl für die Repräsentationen von spezifischen Stimuli im Gedächtnis als auch für die Akquisition und Anwendung von Aufgabenregeln wichtig ist. Es wird also vermutet, dass der OPFC bei Ratten für die Ausbildung von zielgerichtetem Verhalten wichtig ist (Yonemori *et al.*, 2000). Auch bei Menschen konnte in PET-Scan-Studien gezeigt werden, dass Verhalten, das mit Geld belohnt wurde, deutlich mit einer Aktivierung des OPFC verbunden ist, d. h. dass der OPFC im menschlichen Gehirn an der Prozessierung von belohnungsbezogenen Informationen beteiligt ist. Darüber hinaus vermuten die Autoren, dass diese Struktur eine Beurteilung der Konsequenzen des zielgerichteten Handelns vornimmt (Thut *et al.*, 1997). Damasio (1995) unterstreicht dies mit seiner Aussage, wonach der OPFC das Verhalten aufgrund des antizipierten Wertes der verschiedenen möglichen Verhaltensalternativen steuert.

Inhibition von Verhalten

Die Studie von Hodgson und Kollegen (2002) unterstützt die Hypothese, dass der OPFC eine Rolle bei der Steuerung von zielgerichtetem Verhalten spielen könnte: in dieser Studie wurden Augenbewegungen bei menschlichen Probanden in die eine Richtung belohnt und die in die andere Richtung bestraft. Dabei war die Patientin mit einer Schädigung des OPFC beeinträchtigt, da ihre Augenbewegungen in die Richtung der Bestrafung im Gegensatz zu denen von gesunden Probanden nicht inhibiert wurden. Dies deutet darauf hin, dass ein intakter OPFC einen inhibierenden Effekt auf Verhalten ausübt, das mit Bestrafungen verbunden ist, das also nicht angepasst ist. Weiterhin konnte in einer Tastendruckaufgabe beobachtet werden, dass durch Stimulation des OPFC das Tasten-Drücken von Ratten für Belohnungen unterdrückt wird. Dies lässt vermuten, dass ein intakter OPFC einen inhibierenden Einfluss auf instrumentelles Verhalten ausübt (Wilcott, 1981). Auch Wallis und Kollegen (2001) gehen von einer Rolle des OPFC bei der Steuerung von zielgerichtetem Verhalten aus, da bei Affen mit Läsionen des OPFC eine Disinhibition von unangemessenen Antworten stattfindet. Allgemein wird davon ausgegangen, dass die inhibitorischen Kontrollmechanismen des intakten OPFC dazu dienen könnten, schnelle konditionierte Antworten und Reflexe vorübergehend zu unterdrücken, sodass langsamere kognitive Mechanismen das Verhalten steuern könnten. Somit stimmen diese Daten mit der allgemeinen Hypothese

überein, dass eine OPFC-Fehlfunktion zu Defiziten bei der Inhibierung von unpassenden Antworten führen könnte (Cummings, 1995; Jentsch und Taylor, 1999).

Klinische Befunde

Menschen mit Schädigungen des OPFC zeigen deutliche Defizite in Labortests mit Glücksspielen, bei denen Entscheidungen basierend auf der früheren Wahrscheinlichkeit von monetärem Gewinn oder Verlust getroffen werden müssen. Es wird allgemein vermutet, dass diese Defizite mit ihrer Unfähigkeit zusammenhängen, die Höhe des Gewinns oder Verlustes bei diesen Glücksspielen bzw. den Wert von abstrakteren Belohnungen oder Bestrafungen im Alltag einzuschätzen, und somit Schwierigkeiten haben, zu beurteilen, ob bestimmte Entscheidungen basierend auf früheren Erfahrungen vorteilhaft sind und ob ein gewisses Verhalten passend ist (Berthoz *et al.*, 2002; Moll *et al.*, 2002; Spiro *et al.*, 2001). Eine andere Erklärungsmöglichkeit für dieses unangepasste Verhalten könnte sein, dass diese Patienten mit Schädigungen des OPFC nicht in der Lage sind, ihr Wissen über die Höhe des Gewinns oder Verlustes bei diesen Glücksspielen bzw. über den Wert von abstrakteren Belohnungen oder Bestrafungen des Alltags zu nutzen, um ihr Verhalten bei diesen Glücksspielen oder im Alltag zu steuern. Oder dieses Verhalten ließe sich damit erklären, dass der OPFC eine Rolle bei der Auswahl von Antworten spielt und sie ihre unangemessenen Antworten nicht inhibieren können (Spiro *et al.*, 2001).

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass im OPFC Stimulus-Belohnungs-Beziehungen repräsentiert sind, OPFC-Neurone zwischen verschiedenen belohnungsanzeigenden Stimuli diskriminieren und der prädiktive relative motivationale Wert von Belohnungen und belohnungsanzeigenden Stimuli im OPFC kodiert wird. Darauf zurückgreifend könnte der OPFC eine Rolle bei der Steuerung von zielgerichtetem Verhalten bzw. bei der Inhibition von unangemessenem Verhalten spielen. Da zielgerichtetes Verhalten durch die Kenntnis über die Kontingenz zwischen Verhalten und Ziel bzw. Ergebnis des Verhaltens geleitet wird und diese Zusammenhänge durch Bildung von Assoziationen gelernt werden, wird im Folgenden die Rolle des OPFC bei verschiedenen assoziativen Lernvorgängen vorgestellt.

4.3.3 Der orbitale präfrontale Kortex und Erlernen neuer Stimulus-Belohnungs-Beziehungen

In der Akquisitionsphase einer instrumentellen Konditionierung lernen Individuen, eine Assoziation zwischen Stimulus und Belohnung und dem notwendigen Verhalten zu bilden, d. h. sie erlernen die neuen Stimulus-Belohnungs-Beziehungen und passen ihr Verhalten dementsprechend an.

Alvarez und Eichenbaum (2002) haben OPFC-Neurone bei Ratten während des Erlernens einer olfaktorischen Go-/no-go-Diskriminationsaufgabe untersucht, in der bei jeweils einem Stimulus-Paar der eine Stimulus eine Belohnung und der andere Stimulus eine Bestrafung anzeigt. Aus den Ergebnissen geht hervor, dass die OPFC-Neurone Stimuli und ihre zugehörigen Belohnungen diskriminieren und dass die ihnen zugewiesenen motivationalen Werte sich im Laufe des Erlernens verändern. Außerdem verändert sich beim Erlernen einer visuellen Go-/no-go-Diskriminationsaufgabe parallel zur neuronalen Aktivität im OPFC das instrumentelle Verhalten der Ratten entsprechend der Bedeutung der belohnungsanzeigenden Stimuli (Abb. 4.10) (Schoenbaum *et al.*, 1998; 1999; 2000). Auch im OPFC von Affen verändert sich beim Erlernen einer olfaktorischen Go-/no-go-Diskriminationsaufgabe die Aktivität der Neurone im Zusammenhang mit einer Änderung der Verhaltensstrategie (Tremblay und Schultz, 2000b).

Ebenso deuten Läsions-Arbeiten darauf hin, dass der OPFC eine Rolle beim Erlernen von Stimulus-Belohnungs-Beziehungen spielen könnte: Schädigungen des OPFC bei Affen beeinträchtigen das Bilden von Stimulus-Belohnungs-Assoziationen in einer Go-/no-go-Diskriminationsaufgabe (Rolls, 1996). Auch Ratten mit Läsionen des OPFC benötigen beim Erlernen einer olfaktorischen Go-/no-go-Diskriminationsaufgabe signifikant mehr Versuchsdurchgänge als Kontrolltiere (Eichenbaum *et al.*, 1980). Otto und Eichenbaum (1992) untersuchten Ratten mit OPFC-Läsionen beim Erlernen einer olfaktorischen verzögerten Nichtübereinstimmungs-Aufgabe („*delayed non-matching-to-sample task*“). In dieser Aufgabe gab es eine Belohnung nur bei der aufeinander folgenden Präsentation von zwei nicht-übereinstimmenden Stimuli, aber nicht bei der von zwei übereinstimmenden Stimuli. Aus den Ergebnissen geht hervor, dass Ratten mit OPFC-Läsionen schlechter sind als Kontrolltiere. Außerdem sind Ratten mit Läsionen des OPFC beim Erlernen von Aufgabenstellungen im so genannten Morris-Wasserlabyrinth und in einem Labyrinth mit 8 radial angeordneten Armen beeinträchtigt (Kolb *et al.*, 1983).

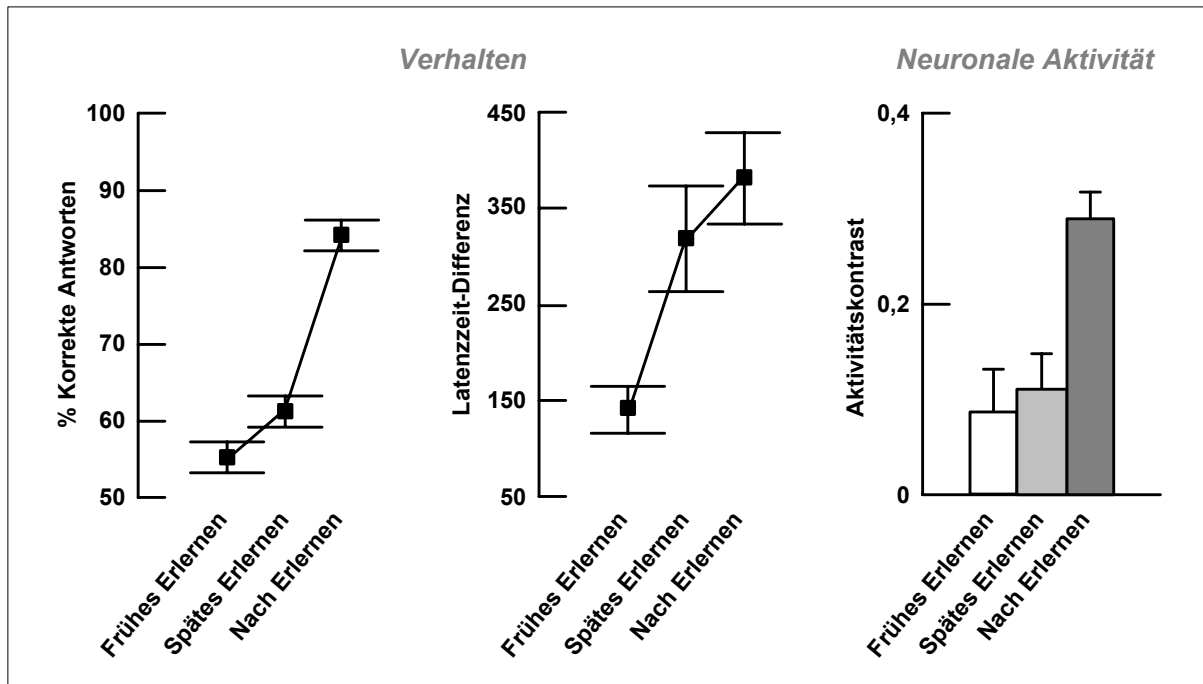


Abb. 4.10. Veränderungen der Aktivität von OPFC-Neuronen beim Erlernen von neuen Stimulus-Belohnungs-Beziehungen. Die Ratten erlernen die olfaktorische Go-/no-go-Diskriminationsaufgabe, d. h. die prozentualen korrekten Antworten (*links*) nehmen zu. Als korrekt wird eine Antwort bezeichnet, wenn die Ratte sich bei belohnten Stimuli die Belohnung im Flüssigkeitsloch abholt und wenn sie bei nicht belohnten Stimuli nicht reagiert. Außerdem vergrößert sich während der Erlernphase die Latenzzeit-Differenz zwischen den belohnten und nicht belohnten olfaktorischen Stimuli (*Mitte*). Die Latenzzeit misst die Zeit, bis sich die Ratte die Belohnung im Flüssigkeitsloch abholt. Parallel dazu verändert sich auch der Aktivitätskontrast der OPFC-Neurone, d. h. die Differenz der Feuerraten bei Präsentation von belohnten und nicht belohnten olfaktorischen Stimuli wird größer (*rechts*). Dies bedeutet, dass die OPFC-Neurone im Laufe der Erlernphase zwischen den belohnten und nicht belohnten olfaktorischen Stimuli unterscheiden und die Ratten ihr Verhalten entsprechend anpassen. Nachdem die Ratten die Stimulus-Belohnungs-Beziehungen gelernt haben, sind der Aktivitätskontrast und die Latenzzeit-Differenz am größten und die Anzahl der korrekten Antworten am höchsten. Modifiziert nach Schoenbaum *et al.* (2000).

In einigen Studien, in denen der Einfluss von Schädigungen des OPFC auf das Erlernen von Stimulus-Belohnungs-Beziehungen in verschiedenen Aufgabenstellungen untersucht wird, werden jedoch keinerlei Defizite bei den Individuen mit Schädigungen des OPFC gefunden: Ratten mit OPFC-Läsionen benötigen zum Erlernen einer olfaktorischen Go-/no-go-Diskriminationsaufgabe gleich viele Versuchsdurchgänge wie Kontrolltiere (Schoenbaum *et al.*, 2002). Doch nicht nur Individuen mit irreversiblen Schädigungen des OPFC, sondern auch Ratten mit kurzfristiger pharmakologischer Unterbrechung der Signalübertragung im OPFC wurden bisher untersucht: nach vollständiger Inaktivierung des OPFC mit einem Lokalanästhetikum sind Ratten in der Lage, das Tastendrücken für Belohnungen zu erlernen (De Bruin *et al.*, 2000), was zeigt, dass der OPFC bei Ratten nicht für die Erlernphase essentiell ist. Und auch Patienten mit Schädigungen des OPFC können eine einfache visuelle Diskriminationsaufgabe problemlos erlernen (Rolls *et al.*, 1994).

Letztendlich lässt sich also bisher nicht eindeutig sagen, ob der OPFC am Erlernen von Stimulus-Belohnungs-Beziehungen beteiligt ist.

4.3.4 Der orbitale präfrontale Kortex und Abruf erlernter Stimulus-Belohnungs-Beziehungen

Während eines so genannten *retrievals* wird der Abruf bereits erlernter Stimulus-Belohnungs-Beziehungen getestet. Die Studien, in denen die Rolle des OPFC beim Abruf von erlernten Stimulus-Belohnungs-Beziehungen in verschiedenen Aufgabenstellungen untersucht wird, liefern unterschiedliche Aussagen:

Alvarez und Eichenbaum (2002) konnten zeigen, dass die Aktivität der OPFC-Neurone bei Ratten sich auch noch nach Ende der Erlernphase verändert. Daraus schlossen sie, dass Lernen eine kontinuierliche Reorganisation, und zwar auch noch nach Ende der Erlernphase, von neuronalen Ensembles im OPFC triggert, die Stimuli und ihre zugehörigen Belohnungen repräsentieren. Dass der OPFC bei Ratten beim Abruf von bereits erlernten Assoziationen beteiligt sein könnte, zeigen weitere Studien: so sind die Latenzzeiten zum Aufdecken von Vertiefungen, in denen sich Futterbelohnungen befinden, nach OPFC-Läsionen verlängert (Ragozino und Kesner, 1999). Auch DeCoteau und Kollegen (1997) schreiben dem OPFC eine Rolle bei der Prozessierung von motivationalen Informationen innerhalb des präfrontalen Kurzzeit- und Gedächtnissystems zu, da der Abruf von gelernten Assoziationen nach Läsionen des OPFC beeinträchtigt ist. Ebenso benötigen Ratten mit OPFC-Läsionen beim postoperativen Abrufen von präoperativ erlernten Assoziationen in einer olfaktorischen Go-/no-go-Diskriminationsaufgabe mehr Versuchsdurchgänge bis sie die Aufgabe wieder beherrschen als Kontrolltiere (Eichenbaum *et al.*, 1980; 1983).

Schoenbaum und Kollegen (2002) konnten hingegen keinen Unterschied beim Abruf bereits erlernter Stimulus-Belohnungs-Beziehungen bei Ratten mit OPFC-Läsionen in einer olfaktorischen Go-/no-go-Diskriminationsaufgabe feststellen. Ebenso sind Ratten mit OPFC-Läsionen beim postoperativen Abrufen einer präoperativ erlernten Aufgabenstellung in einem Y-Labyrinth, bei der die Belohnungen abwechselnd in den beiden Armen präsentiert wurden, nicht beeinträchtigt (Eichenbaum *et al.*, 1983).

Die Rolle des OPFC beim Abruf von bereits erlernten Stimulus-Belohnungs-Beziehungen ist zurzeit somit noch unklar.

4.3.5 Der orbitale präfrontale Kortex und Lernen umgekehrter Stimulus-Belohnungs-Beziehungen

Ein so genanntes *reversal*, also die Umkehr der Stimulus-Belohnungs-Beziehungen, erfordert das Umlernen bereits erlernter Stimulus-Belohnungs-Beziehungen. Diese Umkehr der Stimulus-Belohnungs-Beziehungen bedeutet beispielsweise, dass der Stimulus, der ursprünglich eine große Belohnung angezeigt hat, während des *reversals* die umgekehrte Belohnung, also eine kleine Belohnung, anzeigt, und dass der Stimulus, der ursprünglich eine kleine Belohnung angezeigt hat, während des *reversals* entsprechend eine große Belohnung anzeigt. D. h. die Tiere müssen während des *reversals* diese umgekehrten Stimulus-Belohnungs-Beziehungen lernen und ihr instrumentelles Verhalten entsprechend daran anpassen.

Welche Rolle der OPFC beim Umlernen von Stimulus-Belohnungs-Beziehungen spielen könnte, wird im Folgenden aufgezeigt: Patienten mit Schädigungen des OPFC machen deutlich mehr Fehler beim *reversal* in einer einfachen visuellen Diskriminationsaufgabe. Die mangelnde Flexibilität der Patienten im Verhalten beruht wahrscheinlich darauf, dass sie einmal gelernte Stimulus-Belohnungs-Beziehungen nicht verändern können (Rolls *et al.*, 1994). Dies passt zu den allgemeinen Befunden, dass Patienten mit Schädigungen des OPFC weder in verschiedenen Labortests noch im normalen Leben in der Lage sind, aus früheren Fehlern zu lernen und ihr Verhalten an die neuen Stimulus-Belohnungs-Beziehungen anzupassen (z. B. Bechara und Kollegen, 1997; 1998; 1999; 2000; Damasio, 1995).

Weiterhin konnte in PET-Scan-Studien gezeigt werden, dass der OPFC Veränderungen bei belohnungsbezogenen Informationen prozessiert (Rogers *et al.*, 1999). Dabei wird dem OPFC eine besonders kritische Funktion bei der Entdeckung von Abweichungen von gewohnten Mustern und bei der Veränderung oder dem Umlernen von Stimulus-Antwort-Beziehungen zugeschrieben. Insgesamt könnte der OPFC beim Menschen sowohl an den möglichen Veränderungen des emotionalen Zustandes nach einer Änderung der Stimulus-Belohnungs-Beziehungen als auch an der Veränderung der Antworten beteiligt sein (Nobre *et al.*, 1999).

In Studien mit Ratten und Affen konnte bestätigt werden, dass der OPFC am Umlernen von Stimulus-Belohnungs-Beziehungen beteiligt ist: in einer olfaktorischen Go-/no-go-Diskriminationsaufgabe wird die selektive Aktivität von OPFC-Neuronen bei Ratten nach einem *reversal* nicht umkehrt, sondern die Neurone weisen wie in frühen Phasen des Erlernens keine selektive Aktivität mehr auf. Die Änderungen der neuronalen Aktivität gehen also zeitgleich mit Änderungen des Verhaltens einher, und die Veränderungen der Selektivität der OPFC-Neurone spiegeln dabei die Veränderungen des selektiven Verhaltens der Ratte wider. Dies

deutet darauf hin, dass im OPFC Informationen zur Steuerung der Verhaltensstrategie repräsentiert sind (Abb. 4.11) (Schoenbaum *et al.*, 1999; Schoenbaum und Setlow, 2001).

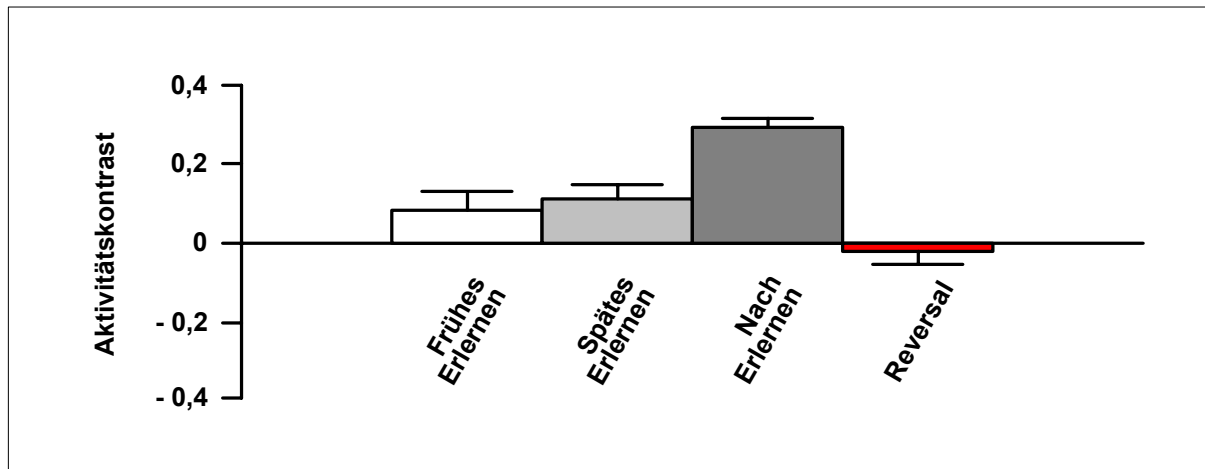


Abb. 4.11. Veränderungen der selektiven Aktivität von OPFC-Neuronen. Während des Erlernens von neuen Stimulus-Belohnungs-Beziehungen in einer olfaktorischen Go-/no-go-Diskriminationsaufgabe nimmt der Aktivitätskontrast der OPFC-Neurone zu, d. h. die Differenz der Feuerraten bei Präsentation von belohnten und nicht belohnten olfaktorischen Stimuli wird größer. Dies bedeutet, dass die OPFC-Neurone im Laufe der Erlernphase zwischen den belohnten und nicht belohnten olfaktorischen Stimuli unterscheiden. Nach dem *reversal* nimmt der Aktivitätskontrast vollständig ab, d. h. es besteht wie am Anfang des Erlernens keine Differenz der Feuerraten bei Präsentation von belohnten und nicht belohnten olfaktorischen Stimuli mehr. Somit finden Änderungen der neuronalen Aktivität und Änderungen des Verhaltens zeitgleich statt, und die Veränderungen der Selektivität der OPFC-Neurone reflektieren dabei die Veränderungen des Verhaltens der Ratte. Daher könnte es sein, dass im OPFC Informationen zur Steuerung der Verhaltensstrategie repräsentiert sind. Modifiziert nach Schoenbaum *et al.* (1999).

Nach Dias und Kollegen (1996) besteht der Umlernprozess aus zwei Teilprozessen, nämlich dem Erlernen der neuen und dem Unterdrücken der früher gelernten Stimulus-Belohnungs-Beziehungen. Die Rolle des OPFC dissoziierten sie mit ihrer Aufgabenstellung bei Affen genauer: beim Umlernen bereits erlernter Stimulus-Belohnungs-Beziehungen, aber nicht dem Erlernen neuer Stimulus-Belohnungs-Beziehungen sind Affen mit Läsionen des OPFC beeinträchtigt. Dies bedeutet, dass der OPFC nicht für das Erlernen von neuen Stimulus-Belohnungs-Beziehungen, sondern für das Unterdrücken des Einflusses von früher gelernten Assoziationen benötigt wird. Daraus folgt, dass der OPFC wichtig ist für die inhibitorische Kontrolle von instrumentellem Verhalten (siehe auch Unterkapitel 4.3.2). Ein funktionierender OPFC befähigt somit Affen, ihr Verhalten an Änderungen der motivationalen Signifikanz von Stimuli anzupassen (Dias *et al.*, 1996). Rolls (1984) bestätigt ebenfalls die „Unterdrückungs-Hypothese“ beim Umlernen: Affen mit Schädigungen des OPFC sind nicht mehr in der Lage, ihre Antworten im Hinblick auf Futter zu korrigieren, auch wenn sie nicht mehr angemessen sind. Der Autor vermutet, dass ein intakter OPFC Neurone enthält, die die notwendigen Informationen für das Unterdrücken von unpassendem Verhalten liefern (Rolls, 1984). Dies wird durch die Untersuchungen von Elliott und Kollegen

(2000) erhärtet, denn die lateralen Bereiche des OPFC sind dann involviert, wenn die Unterdrückung von früher belohnten Antworten notwendig ist.

Im Unterschied zu den vorherigen Studien beobachteten Corwin und Kollegen (1994) bei Ratten mit Läsionen des OPFC keine Beeinträchtigung beim Umlernen in einer allozentrischen „cheeseboard“-Aufgabe. Auch zeigen Ratten mit OPFC-Läsionen keine Defizite beim Umlernen von Aufgabenstellungen in einem Morris-Wasserlabyrinth oder in der so genannten „grice box“ (Kolb *et al.*, 1983). Dies bestätigen auch die folgenden Studien: die mittlere Fehlerrate von OPFC-läsionierten Ratten unterscheidet sich nicht von der von Kontrolltieren bei räumlichen *reversals* in einer so genannten „grice box“ (Kolb *et al.*, 1974; Nonneman *et al.*, 1974). Doch nicht nur Tiere mit irreversiblen Schädigungen des OPFC, sondern auch Ratten nach kurzfristiger Inaktivierung des OPFC durch ein Lokalanästhetikum wurden bisher beim Umlernen untersucht: die Ratten waren trotzdem in der Lage, serielle *reversals* in einer Tastendruckaufgabe mit zwei Tasten zu lernen (De Bruin *et al.*, 2000).

Die Rolle des OPFC beim Umlernen von bereits erlernten Stimulus-Belohnungs-Beziehungen ist zurzeit somit noch unklar.

4.3.6 Der orbitale präfrontale Kortex und Lernen weiterer Änderungen von Stimulus-Belohnungs-Beziehungen

Devaluation

Die so genannte Devaluation einer Belohnung bezeichnet die Reduzierung des Wertes dieser Belohnung. Dies wird z. B. erreicht, indem die Tiere nach dem Konsum der wohlschmeckenden Belohnung eine Übelkeit verursachende Substanz injiziert bekommen oder indem die Tiere vor Beginn des Versuchs so viel von der wohlschmeckenden Belohnung fressen können, bis sie satt sind. Der Effekt ist in beiden Fällen der gleiche: der motivationale Wert des Futters im nächsten Versuch ist reduziert.

In Studien mit Ratten wurde beobachtet, dass die Tiere mit OPFC-Läsionen nicht in der Lage sind, ihr Verhalten und die neu gelernten Informationen über die geänderte Belohnungsqualität in Einklang zu bringen: sie antworten weiterhin auf den Stimulus, der früher eine wohlschmeckende Belohnung angezeigt hat, obwohl sie in der Zwischenzeit gelernt haben, dass die Belohnung, die mit diesem Stimulus assoziiert ist, Übelkeit nach sich zieht, d. h. eine Devaluation erfahren hat. Bei Ratten mit OPFC-Läsionen beeinflusst somit die Devaluation der Belohnung nicht die früher gelernte konditionierte Reaktion auf das Licht. D. h. Ratten mit OPFC-Läsionen können ihr Verhalten nicht an die geänderten Stimulus-Belohnungs-

Beziehungen anpassen, wenn die mit dem Stimulus assoziierte Belohnung eine Devaluation erfahren hat (Abb. 4.12) (Gallagher *et al.*, 1999).

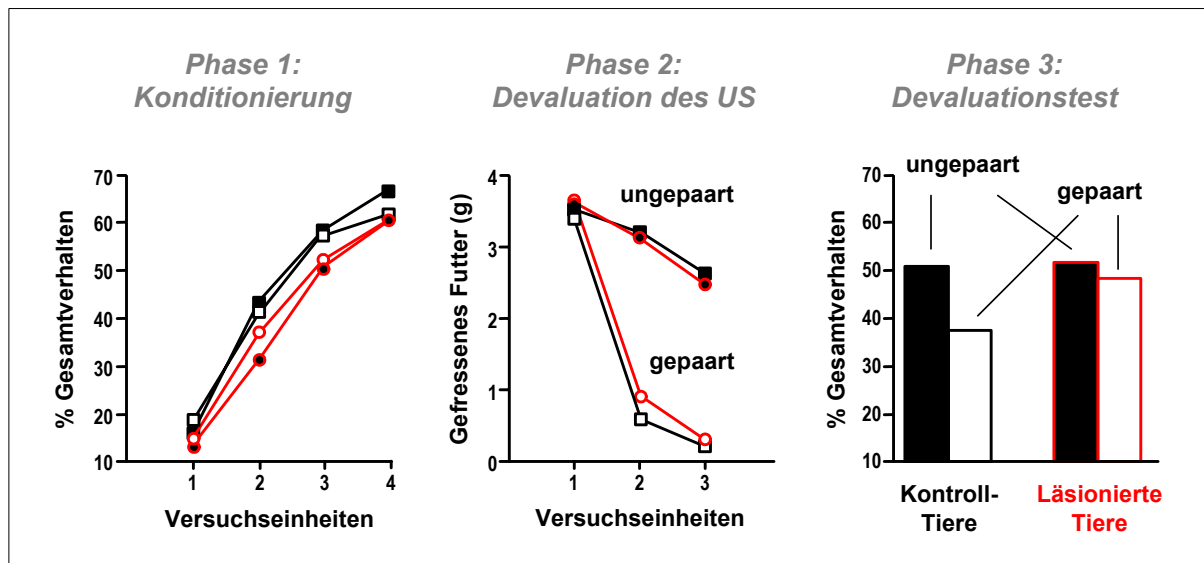


Abb. 4.12. Die Rolle des OPFC nach einer Devaluation des US. In Phase 1 des Versuchs (*links*) wird in einer Pawlowschen Konditionierung eine Belohnung (US) mit Licht (CS) gepaart. Die Kontrolltiere sind als *Quadrate*, die läsierten Ratten als *rotumrandete Kreise* dargestellt. Bei allen Gruppen nimmt der Anteil des konditionierten Verhaltens bezogen auf das Gesamtverhalten während der Konditionierung zu. In Phase 2 des Versuchs (*Mitte*) wird der Hälfte der Tiere direkt nach der Futteraufnahme Übelkeit verursachendes Lithiumchlorid injiziert (Devaluation des US) (*weiß gefüllte Symbole*), sodass die Menge an gefressenem Futter über die Versuchseinheiten abnimmt. Bei der anderen Hälfte der Tiere sind Futteraufnahme und Lithiumchlorid nicht gepaart (*schwarz gefüllte Symbole*) und die Menge an gefressenem Futter nimmt nur wenig ab. In Phase 3 des Versuchs (*rechts*) werden alle Tiere erneut in der Pawlowschen Konditionierung aus Phase 1 getestet: bei den Kontrolltieren, bei denen die Paarung mit Lithiumchlorid in Phase 2 stattgefunden hat, ist das konditionierte Verhalten reduziert im Vergleich zu den anderen Kontrolltieren ohne Paarung, während bei den beiden OPFC-läsionierten Gruppen kein Unterschied festgestellt werden kann. Dies deutet darauf hin, dass die Devaluation der Belohnung bei Ratten mit OPFC-Läsionen keinen Einfluss auf die früher gelernte konditionierte Reaktion auf das Licht hat. Modifiziert nach Gallagher *et al.* (1999).

Affen mit gekreuzten unilateralen Läsionen der Amygdala und des OPFC und einer Durchtrennung der Verbindungen dieser beiden Strukturen, wodurch die Kommunikation dieser beiden Gehirnbereiche verhindert wird, sind nicht mehr in der Lage, ihr instrumentelles Verhalten an devaluierte Belohnungen anzupassen, während Affen mit Läsionen von nur einer der beiden Strukturen (Amygdala oder OPFC) weiterhin dazu in der Lage sind. Daraus schließen die Autoren, dass die Interaktion zwischen OPFC und Amygdala zur Anpassung instrumentellen Verhaltens an eine Reduzierung des motivationalen Wertes einer Belohnung notwendig ist (Baxter *et al.*, 2000).

Extinktion

Eine so genannte Extinktion erfordert das Löschen von gelernten Stimulus-Belohnungs-Beziehungen, da während der Extinktion die Stimuli keine Belohnungen mehr ankündigen. Dies bedeutet, dass das konditionierte Verhalten der Tiere nicht mehr belohnt wird. Evidenzen für eine mögliche Rolle des OPFC beim Löschen von Stimulus-Belohnungs-Beziehungen werden im Folgenden aufgezeigt:

Patienten mit Schädigungen des OPFC machen deutlich mehr Fehler in der Extinktionsphase bei einer einfachen visuellen Diskriminationsaufgabe. Die mangelnde Flexibilität der Patienten im Verhalten beruht vermutlich darauf, dass sie einmal gelernte Stimulus-Belohnungs-Beziehungen nicht verändern können (Rolls *et al.*, 1994). Bei Ratten mit OPFC-Läsionen wird in bestimmten Phasen der Extinktion in einer T-Labyrinth-Aufgabe ein perseverierendes Verhalten beobachtet: die OPFC-läsionierten Ratten suchen ursprünglich belohnte Orte in einem Labyrinth auch dann noch viele Male auf, wenn dort keine Futterbelohnung mehr zu finden ist, d. h. die Anzahl an Versuchsdurchgängen nimmt bei Ratten mit OPFC-Läsionen im Gegensatz zu der von Kontrolltieren nicht ab. Dies wird mit mangelnder Inhibition falscher, d. h. nicht angepasster, Antworten aufgrund der OPFC-Läsionen erklärt (De Bruin, 1994) (siehe auch Unterkapitel 4.3.2). Ebenso beeinflusst eine kurzfristige Inaktivierung des OPFC mit einem Lokalanästhetikum Ratten bei der Durchführung einer Tastendruckaufgabe mit zwei Tasten: die Ratten mit inaktiviertem OPFC drücken im Gegensatz zu den Kontrolltieren weiterhin die Tasten, auch wenn sie dafür keine Belohnungen mehr erhalten (De Bruin *et al.*, 2000).

Auch Kolb und Kollegen (1974) sprechen von einer „Perseveration der Verhaltenstendenzen“ bzw. einer Beeinträchtigung beim Löschen von Stimulus-Belohnungs-Beziehungen: OPFC-läsionierte Ratten benötigen zu Beginn einer Extinktionsphase mehr Antworten, um die Anforderungen der Tastendruckaufgabe zu erfüllen, und erst nach mehreren Versuchseinheiten gleichen sich das Verhalten der läsionierten Ratten und das der Kontrolltiere an. Nonneman und Kollegen (1974) konnten in der gleichen Aufgabe während der Extinktion bei OPFC-läsionierten Ratten allerdings keine Defizite feststellen.

Insgesamt ist die Rolle des OPFC beim Löschen von Stimulus-Belohnungs-Beziehungen somit noch unklar.

4.4 Glutamat: ein wichtiger Neurotransmitter im orbitalen präfrontalen Kortex

In der vorliegenden Arbeit wird nicht nur die Rolle des OPFC bei instrumentellen Lernvorgängen im Allgemeinen untersucht, sondern auch die Beteiligung von Glutamat, einem wichtigen Neurotransmitter im OPFC, an diesen Lernvorgängen. Daher ist das folgende Kapitel dem Neurotransmitter Glutamat gewidmet.

Einleitend wird auf die Metabolisierung und das Vorkommen von Glutamat eingegangen. Die Kenntnis der verschiedenen Glutamat-Rezeptor-Typen ist wichtig für das Verständnis der Rolle von Glutamat bei assoziativen Lernvorgängen, da bei diesen Lernvorgängen verschiedenen Subtypen von Glutamat-Rezeptoren unterschiedliche Funktionen zukommen. Anschließend werden die Zusammenhänge zwischen assoziativem Lernen und Langzeitpotenzierung (LTP) aufgezeigt, die grundlegenden Prinzipien von LTP erläutert, das Auftreten von LTP in verschiedenen Gehirnstrukturen beschrieben, bevor die mögliche Funktion von NMDA-Rezeptoren, einem Glutamat-Rezeptor-Subtyp, im OPFC bei assoziativen Lernvorgängen angesprochen wird.

4.4.1 Biosynthese, Wiederaufnahme und Abbau von Glutamat

L-Glutamat, das in wässriger Lösung vorliegende Salz der Glutaminsäure, ist der wichtigste exzitatorische Neurotransmitter im Zentralnervensystem.

Da Glutamat nicht die Bluthirnschranke passieren kann, wird es im Zentralnervensystem synthetisiert. Das Enzym Glutaminase, das in den Nervenendigungen lokalisiert ist, bildet den Neurotransmitter Glutamat aus Glutamin. Daraufhin wird Glutamat in den synaptischen Spalt freigesetzt und übt dort seine Funktion aus. Die Steuerung des Glutamat-Spiegels im synaptischen Spalt und damit die Begrenzung der Erregungszeit erfolgt nicht durch enzymatische Spaltung, sondern durch Wiederaufnahme (engl. *reuptake*) des Transmitters; weiterhin werden die synaptischen Wirkungen auch durch Diffusion beendet. In den synaptischen Spalt freigesetztes Glutamat wird von den präsynaptischen Nervenendigungen und von benachbarten Astrozyten durch spezifische Glutamat-Transporter aufgenommen. In den Neuronen wird es wieder vesikulär gespeichert, in den Astrozyten hingegen durch die Glutamin-Synthetase zu Glutamin umgewandelt. Anschließend wird Glutamin aus den Astrozyten in die Nervenzellen zur Neusynthese von Glutamat zurücktransportiert (Abb. 4.13) (Kandel *et al.*, 2000; Nicholls und Attwell, 1990; Tohyama und Takatsuji, 1998).

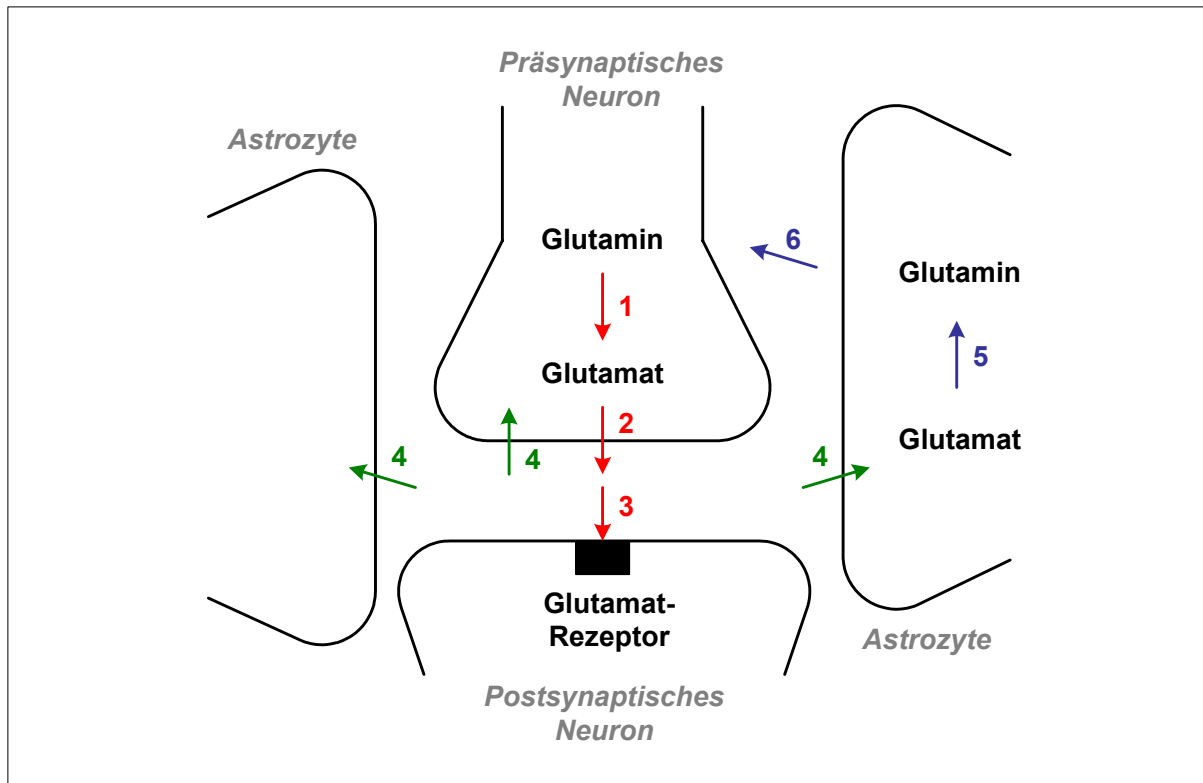


Abb. 4.13. Glutamat-Neurotransmission. 1. Synthese von Glutamat durch die Glutaminase aus Glutamin; 2. Glutamat-Freisetzung von Glutamat aus dem präsynaptischen Neuron; 3. Aktivierung des Glutamat-Rezeptors durch Bindung von Glutamat; 4. Entfernung von Glutamat aus dem synaptischen Spalt; 5. Abbau des Glutamats durch die Glutamin-Synthetase zu Glutamin; 6. Rücktransport von Glutamin in das präsynaptische Neuron. Modifiziert nach Tohyama und Takatsuji (1998).

4.4.2 Glutamaterge Neurone im präfrontalen Kortex

Glutamat kommt als Botenstoff in den meisten Neuronen bei Säugetieren vor (Nakanishi, 1992). In Hirnarealen wie der Großhirnrinde und dem Hippokampus ist die Dichte an Glutamat-Rezeptoren sehr hoch (Hollmann und Heinemann, 1994), und mit radioaktiv markiertem Glutamat wurden besonders die äußeren Schichten des gesamten Kortex intensiv gefärbt (Rudolf *et al.*, 1996; Young *et al.*, 1990). Da die meisten afferenten Verbindungen des OPFC Glutamat als Botenstoff verwenden, ist Glutamat auch im OPFC der am häufigsten vorkommende Neurotransmitter (Kalivas und Nakamura, 1999; Kodama *et al.*, 2002; Pennartz *et al.*, 2000; Ray *et al.*, 1992; Takita *et al.*, 1997).

Die Synapsen der glutamatergen Neurone liegen meistens auf den Dendriten, und da im Besonderen auf den Dendritendornen, den so genannten *spines*, seltener an den Dendritschäften. Die Synapsen der glutamatergen Neurone gehören zu den Gray-Typ I Synapsen (Abb. 4.14). Diese Synapsen zeichnen sich dadurch aus, dass die synaptischen Vesikel eine charakteristische runde Form besitzen, dass die präsynaptische aktive Zone mit einem Gebiet von $1 - 2 \mu\text{m}^2$ sehr groß ist, in der die *dense projections*, also die Bereiche der

vesikulären Freisetzung, zahlreich vorhanden sind, und dass postsynaptisch auf einer großen Fläche viele Rezeptoren vorkommen (Übersicht Kandel *et al.*, 2000).

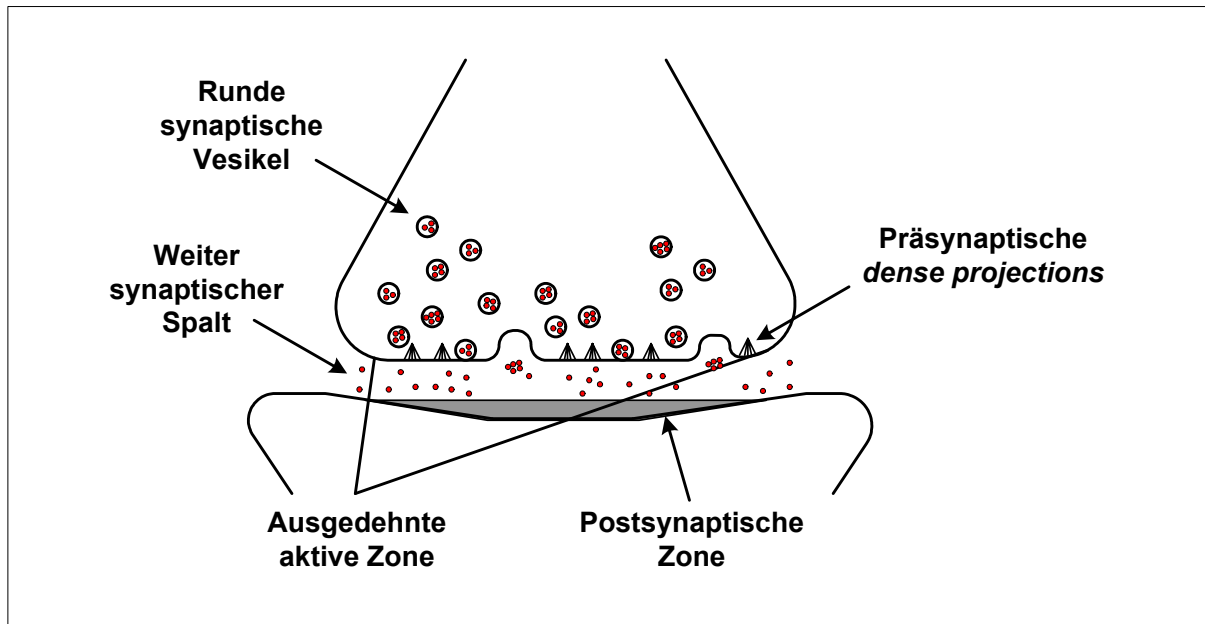


Abb. 4.14. Gray-Typ I Synapse. Gray-Typ I Synapsen sind oft glutamaterg und damit exzitatorisch. Dieser Synapsentyp ist charakterisiert durch runde synaptische Vesikel, einen weiten synaptischen Spalt (30 nm), eine ausgedehnte aktive Zone, in dessen Bereich an den zahlreichen *dense projections* auf präsynaptischer Seite die Transmitter-Freisetzung erfolgt, und einen großen postsynaptischen Bereich mit sehr vielen Rezeptoren. Modifiziert nach Kandel *et al.* (2000).

4.4.3 Glutamat-Rezeptor-Typen

Im Gehirn der Säugetiere werden die meisten schnellen exzitatorischen Signale in Synapsen durch Glutamat weitergeleitet (Nakanishi, 1992). Aufgrund von pharmakologischen, elektrophysiologischen und biochemischen Daten können zwei Rezeptor-Typen unterschieden werden: metabotrope und ionotrope Glutamat-Rezeptoren.

Metabotrope Glutamat-Rezeptoren

Die metabotropen Glutamat-Rezeptoren sind in den postsynaptischen Membranen an G-Proteine gekoppelt und können auf diese Weise intrazelluläre Signalkaskaden beeinflussen oder Ionenkanäle indirekt öffnen. Bei diesen Rezeptoren sind also Bindungsstellen für den Neurotransmitter und zelluläre Effektoren getrennte Einheiten. Der metabotrope Glutamat-Rezeptor ist ein Rezeptor der langsamen synaptischen Übertragung mit einer Latenz von über 10 ms für das Binden des Transmitters Glutamat bis zum Eintritt des Effekts, z. B. der Aktivierung von Proteinkinasen (Hollmann und Heinemann, 1994; Kandel *et al.*, 2000; Nakanishi, 1992).

Ionotrope Glutamat-Rezeptoren

Bei den ionotropen Glutamat-Rezeptoren hingegen sind die Bindungsstelle für den Neurotransmitter und der Ionenkanal in einem Makromolekül zusammengefasst. Ionotrope Glutamat-Rezeptoren bilden Ionenkanäle in den postsynaptischen Membranen und werden nach Stimulierung durch den Neurotransmitter Glutamat geöffnet, um so die Weiterleitung schneller exzitatorischer Signale (Latenzzeit < 5 ms) zu vermitteln. Die ionotropen Glutamat-Rezeptoren werden in drei Subtypen unterteilt, die nach ihren Agonisten benannt werden: in 1. den Subtyp der N-methyl-D-aspartat-Rezeptoren (NMDA-Rezeptoren), 2. den der Kainat-Rezeptoren und 3. den der α -Amino-3-hydroxy-5-methylisoxazol-4-propionsäure-Rezeptoren (AMPA-Rezeptoren). Bei den Kainat- und AMPA-Rezeptoren spricht man zusammen auch von Non-NMDA-Rezeptoren (Hollmann und Heinemann, 1994; Kandel *et al.*, 2000; Nakanishi, 1992).

Non-NMDA-Rezeptoren

Non-NMDA-Rezeptoren (Abb. 4.15, links) haben wie auch NMDA-Rezeptoren große transmembranäre Poren, die als unspezifische Kationenkanäle in der postsynaptischen Membran hauptsächlich für Na^+ und K^+ permeabel sind. Durch bestimmte AMPA-Rezeptoren kann jedoch auch ein Ca^{2+} -Einstrom stattfinden (Keinänen *et al.*, 1990; Pellegrini-Giampietro *et al.*, 1997). Bei Öffnung der Kanäle strömen Na^+ und Ca^{2+} entlang ihrem elektrochemischen Gradienten in das Zellinnere ein, K^+ verlässt es. Netto resultiert somit ein in das Zellinnere gerichteter Ionenstrom: die Zelle wird depolarisiert. Da sich der Kanal als Reaktion auf Glutamat äußerst schnell öffnet und schließt, trägt der Ionenstrom durch Non-NMDA-Rezeptoren zum schnellen, frühen Gipfel des exzitatorischen postsynaptischen Potentials bei (Kandel *et al.*, 2000).

NMDA-Rezeptoren

NMDA-Rezeptoren (Abb. 4.15, rechts) unterscheiden sich von Non-NMDA-Rezeptoren in mehreren Punkten. NMDA-Rezeptoren sind zwar auch Kationenkanäle, aber ihre Permeabilität für Ca^{2+} ist bedeutend größer als die der Non-NMDA-Rezeptoren. Weiterhin sind diese Kanäle sowohl Transmitter- als auch spannungsgesteuert: Glutamat bewirkt an ruhenden Zellen (Membranpotential um -70 mV) keine messbaren Effekte über NMDA-Rezeptor-Kanäle. Sind die Zellen allerdings bereits durch andere Stimuli erregt, d. h. die postsynaptische Membran ist vordepolarisiert, z. B. durch geöffnete AMPA-Rezeptoren, wird der spannungsabhängige Mg^{2+} -Block bei NMDA-Rezeptoren aufgehoben und nach Bindung des Neurotransmitters Glutamat findet ein Ca^{2+} -Einstrom statt. Außerdem muss zur Öffnung

der NMDA-Rezeptor-Kanäle noch Glycin vorhanden sein (Nakanishi, 1992). Wegen der Zeitverzögerung beim Öffnen trägt der Ionenstrom durch diese Kanäle zur späten Phase des exzitatorischen postsynaptischen Potentials bei. NMDA-Rezeptoren generieren primär also nicht elektrische Signale, sondern ihre Hauptfunktion in Abhängigkeit vom aktuellen Membranpotential der Zelle ist die Vermittlung des Anstiegs der intrazellulären Ca^{2+} -Konzentration.

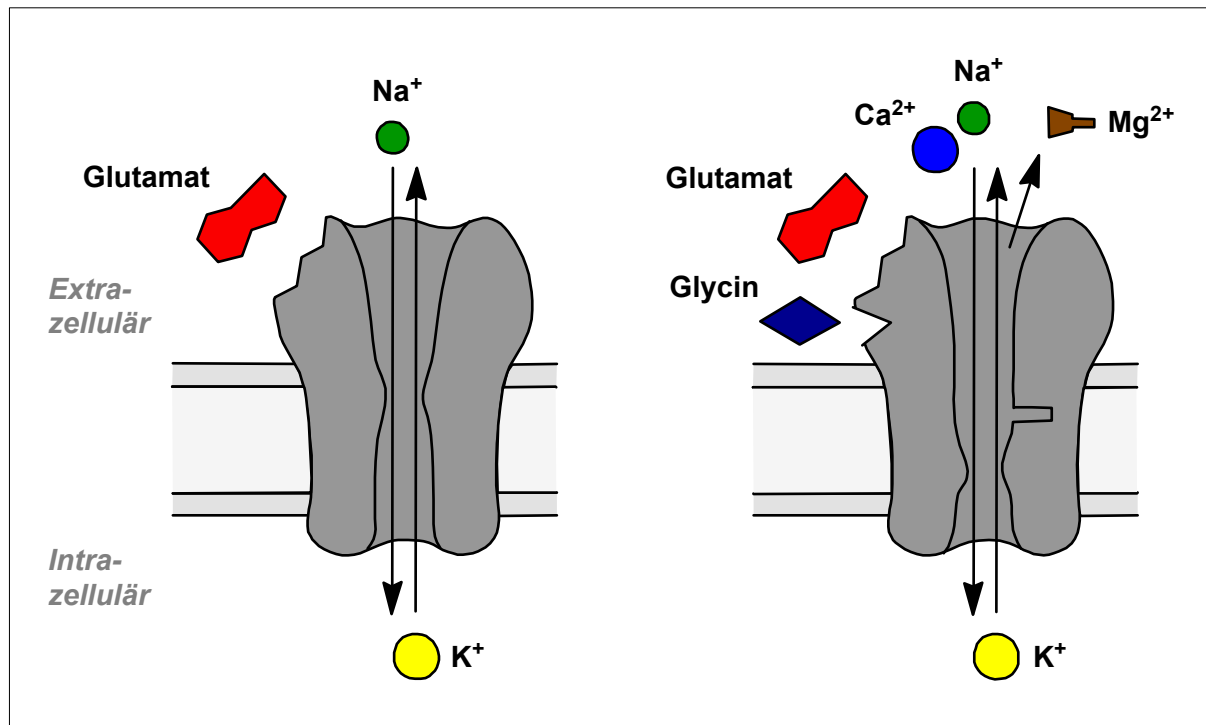


Abb. 4.15. Ionotrope Glutamat-Rezeptoren. Es lassen sich zwei Typen ionotroper Glutamat-Rezeptoren unterscheiden: Non-NMDA-Rezeptoren (*links*) werden durch Bindung von Glutamat geöffnet, während NMDA-Rezeptoren (*rechts*) erst nach Bindung von Glutamat und Glycin und nach Entfernung des Mg^{2+} -Blocks durch Depolarisation der Membran öffnen. Modifiziert nach Kandel *et al.* (2000).

Der Ca^{2+} -Einstrom aktiviert Ca^{2+} -abhängige intrazelluläre Signalkaskaden. Man nimmt an, dass NMDA-Rezeptoren durch die Eigenschaft der spannungssensitiven Glutamat-Wirkung und den Ca^{2+} -Einstrom an neurotoxischen Effekten (siehe Unterkapitel 4.6.2), synaptischer Plastizität und Lernvorgängen beteiligt sind (siehe Unterkapitel 4.4.4) (Burnashev, 1996; Collingridge und Watkins, 1994; Kandel *et al.*, 2000).

4.4.4 Glutamat und assoziatives Lernen

Assoziatives Lernen, LTP und NMDA-Rezeptoren

Beim assoziativen Lernen werden z. B. ein Stimulus und die erhaltene Belohnung durch wiederholte Paarung miteinander verknüpft (siehe Unterkapitel 4.1.2). Diese koinzident auftretenden Signale (z. B. Stimulus und Belohnung) führen zu spezifischen Änderungen an bestimmten Synapsen: wenn die präsynaptische Aktivität mit postsynaptischer Depolarisation durch andere erregende Zuflüsse einhergeht, findet eine Stabilisierung dieser Synapsen statt. Auf diese Weise kann es zur Ausbildung einer assoziativen LTP (Langzeitpotenzierung, engl. *long term potentiation*) kommen (Cain, 1997; Collingridge und Singer, 1990; Collingridge und Watkins, 1994).

LTP und LTD (Langzeitdepression, engl. *long term depression*) sind wahrscheinliche zelluläre Mechanismen der aktivitätsabhängigen Plastizität und sind damit auch Grundlage für Lernvorgänge und die Speicherung von Gedächtnisinhalten. Assoziativer LTP liegt also assoziatives Lernen zugrunde. Der Extinktion bei der Konditionierung entspricht assoziative LTD. NMDA-Rezeptoren spielen dabei eine wichtige Rolle, sind aber nicht die einzigen Glutamat-Rezeptoren, die LTP und LTD vermitteln. NMDA-Rezeptoren dienen auf der postsynaptischen Seite als Koinzidenzdetektoren, die das Auftreten mehrerer, zeitgleich stattfindender Stimuli erkennen (Bliss und Collingridge, 1993; Menzel, 2001; Westbrook, 1994), da NMDA-Rezeptoren mindestens zwei Eigenschaften haben, die relevant sind für assoziatives Lernen: 1. sind sie sowohl chemisch- als auch spannungs-gesteuert, da die maximale Öffnung der Ionenkanäle zum einen die Depolarisation der Membran und zum anderen die Transmitter-Bindung benötigt. 2. triggert der Ca^{2+} -Einstrom in das postsynaptische Neuron über eine Kaskade von Ereignissen LTP, die in einer Erhöhung der Effektivität der synaptischen Übertragung resultiert (Cain, 1997).

Grundlegende Prinzipien von LTP

Hinter dem Begriff LTP verbergen sich sehr unterschiedliche zelluläre Vorgänge. Daher werden im Folgenden nur die grundlegenden Prinzipien von LTP vorgestellt (Abb. 4.16): wenn Aktionspotentiale an das synaptische Endknöpfchen gelangen, wird Glutamat freigesetzt. Es diffundiert zur postsynaptischen Nervenzelle und bindet dort an AMPA-Rezeptoren. Daraufhin öffnen sich diese, so dass Na^{2+} -Ionen in die postsynaptische Zelle einströmen und dort zu einer Depolarisation führen. Durch diese werden Mg^{2+} -Ionen aus den NMDA-Rezeptor-Kanälen entfernt und nach Bindung von Glutamat an die NMDA-

Rezeptoren findet in das postsynaptische Neuron ein Ca^{2+} -Einstrom statt, der eine Kaskade unterschiedlicher biochemischer Reaktionen auslöst, indem es Enzyme aktiviert.

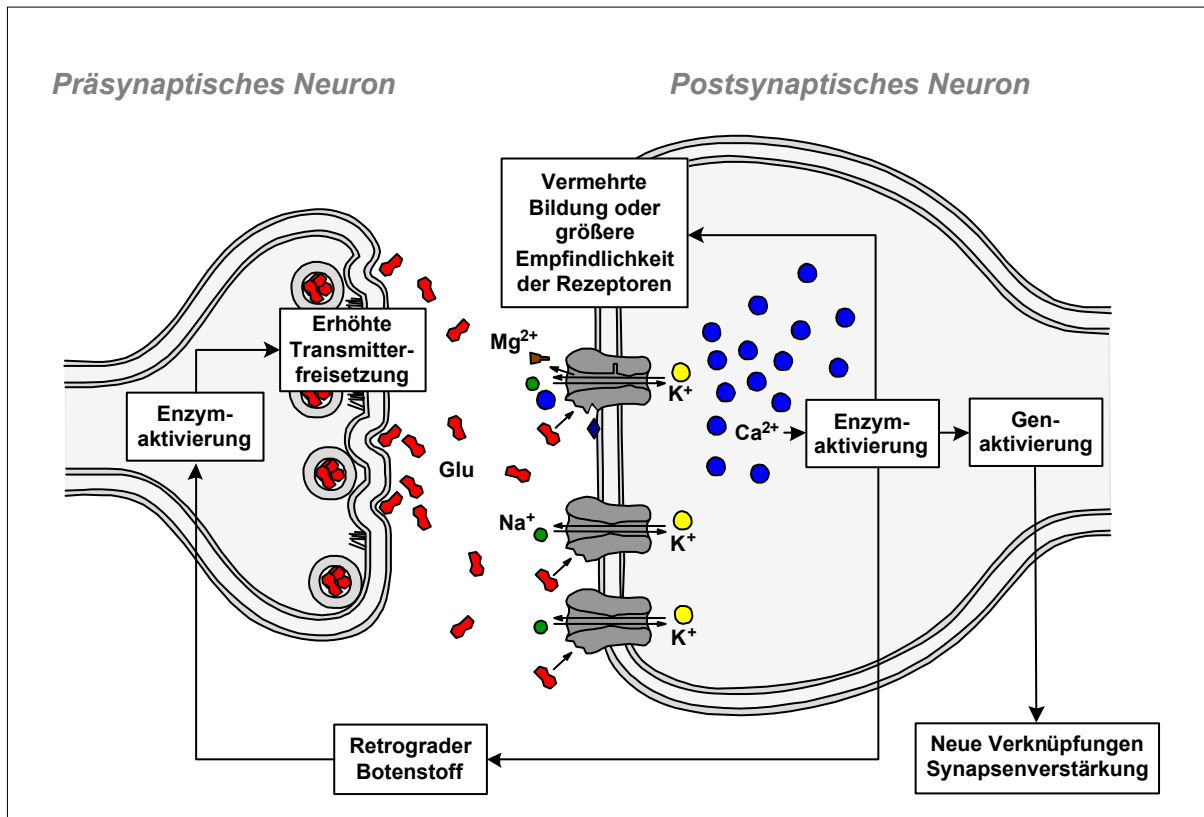


Abb. 4.16. Grundlegende Prinzipien von Langzeitpotenzierung. Die AMPA-Rezeptor-Kanäle (unterer und mittlerer Rezeptor im rechten Neuron) öffnen aufgrund der Glutamat-Freisetzung einer Nachbar-Synapse. Die folgende Depolarisation entfernt den Mg^{2+} -Block aus dem NMDA-Rezeptor-Kanal (oberer Rezeptor) und nach der Bindung von Glutamat kann der NMDA-Rezeptor-Kanal öffnen. Der Ca^{2+} -Einstrom in die postsynaptische Zelle triggert über eine Kaskade von Ereignissen LTP, die in einer Erhöhung der Effektivität der synaptischen Übertragung resultiert. Glu: Glutamat. Modifiziert nach Kandel *et al.* (2000) und Lexikon der Neurowissenschaft (2001).

Diese Enzyme induzieren die synaptische Verstärkung, die sich sowohl prä- als auch postsynaptisch auswirkt. Postsynaptisch können die Affinität der AMPA- und bzw. oder der NMDA-Rezeptoren gesteigert und diese Rezeptoren in ihrer Zahl vermehrt werden. Um präsynaptische Veränderungen, wie z. B. eine erhöhte Transmitter-Ausschüttung, zu bewirken, müssen membrangängige retrograde Botenstoffe freigesetzt werden, die den synaptischen Spalt überwinden können. Für Stickoxid, Kohlenmonoxid und den „platelet-activating factor“ (PAF) konnte eine spezifische Wirkung auf das depolarisierte präsynaptische Neuron, sowie eine selektive Verstärkung der synaptischen Verbindung gezeigt werden. Alle drei Mediatoren werden nach NMDA-Rezeptor-Stimulation gebildet (Grassi und Pettorossi, 2001; Zhuo *et al.*, 1993). Während das Kurzzeitgedächtnis auf subzellulären Veränderungen wie der synaptischen Verstärkung beruht, sind für das

Langzeitgedächtnis strukturelle Veränderungen grundlegend, d. h. neue synaptische Verbindungen. Zunächst werden dafür frühe Gene wie c-fos und c-jun angeschaltet, die ihrerseits an der Aktivierung anderer Gene beteiligt sind. Die Folge können elektrophysiologische und morphologische Veränderungen sein, wie z. B. die Bildung zusätzlicher Kontakte (Kandel *et al.*, 2000).

LTP in verschiedenen Gehirnstrukturen

Durch verschiedene Studien konnte festgestellt werden, dass LTP über exzitatorische Transmitter im Hippokampus wahrscheinlich zu Lernen und Gedächtnis beiträgt (Cain, 1997; Lu *et al.*, 2001), und dass LTP normalerweise ein lang anhaltender Prozess ist, der aktiv durch Stimulation von NMDA-Rezeptoren rückgängig gemacht werden kann und somit sowohl in frühen als auch späten Phasen der LTP durch NMDA-Rezeptoren reguliert wird (Villarreal *et al.*, 2002). Darüber hinaus können LTP und LTD durch Behandlung mit AP5 *in vivo* verhindert werden (Morris, 1989). LTP und LTD werden durch Aktivierung von pharmakologisch unterschiedlichen NMDA-Rezeptor-Subtypen vermittelt (Hrabetova und Sacktor, 1997).

Beeinträchtigungen des Gedächtnisses sind offensichtlich, wenn NMDA-Rezeptor-Antagonisten, z. B. AP5, in den Hippokampus oder in verschiedene andere Strukturen, wie die Amygdala, injiziert werden (Castellano *et al.*, 2001). Weiterhin wurde durch Stimulation von Afferenzen der Amygdala *in vitro* an Gehirnschnitten LTP induziert, die viele gleiche Eigenschaften wie die LTP im Hippokampus hat. Durch Vorbehandlung der Gehirnschnitte mit AP5 konnte die Induktion von LTP verhindert werden (Gean *et al.*, 1993). Dies zeigt, dass NMDA-Rezeptor-vermittelte LTP nicht nur im Hippokampus vorkommt, sondern auch in einer Struktur des Motivationsschaltkreises, der eine wichtige Rolle bei assoziativen Lernvorgängen zugesprochen wird (siehe Unterkapitel 4.1.3). Darüber hinaus wurde von Constantine-Paton und Cline (1998) NMDA-Rezeptor-vermittelte LTP sowohl im Hippokampus und in den oberflächlichen Schichten des gesamten zerebralen Neokortex gemessen. Auf NMDA-Rezeptor-vermittelte Plastizität innerhalb der Amygdala und des medialen PFC beim Erlernen von appetitivem, instrumentellem Verhalten deutet auch hin, dass durch Mikroinfusion von AP5 in den medialen PFC bzw. die Amygdala das Erlernen einer Tastendruckaufgabe für Futter beeinträchtigt wurde (Baldwin *et al.*, 2000). Und auch in einer weiteren kortikalen Struktur, dem frontalen Kortex (Area 2), konnte durch Mikroinfusionen von AP5 ebenfalls auf Lernprozesse Einfluss genommen werden, denn die Konsolidierung von Gedächtnisprozessen wurde beim Erlernen einer so genannten passiven Vermeidungsaufgabe beeinträchtigt, in der die Ratten für das Verlassen eines bestimmten

Bereiches mit Elektroschocks bestraft wurden (Mello *et al.*, 2000). Bei Tauben konnten Lissek und Kollegen (2002) weiterhin zeigen, dass eine Mikroinfusion von AP5 in den PFC das Umlernen in einer Diskriminationsaufgabe mit farblich unterschiedlichen Stimuli hemmte.

Insgesamt liefern diese Ergebnisse Evidenzen für eine Beteiligung von NMDA-Rezeptoren an verschiedenen Lernprozessen, auch in Strukturen des Motivationsschaltkreises und in kortikalen Strukturen.

NMDA-Rezeptoren im orbitalen präfrontalen Kortex und assoziatives Lernen

Die NMDA-Rezeptor-vermittelten Prozesse im OPFC wurden bisher kaum untersucht. Da im OPFC von Primaten mit Hilfe von Mikrodialyse-Messungen jedoch etwas erhöhte Glutamat-Konzentrationen bei der Durchführung einer Tastendruck-Aufgabe festgestellt werden konnten, könnte Glutamat im OPFC bei Primaten an der Prozessierung von sensorischen, belohnungsbezogenen Informationen beteiligt sein (Kodama *et al.*, 2002). Darüber hinaus konnten Takita und Kollegen (1997) im OPFC von Ratten das Vorkommen von NMDA-Rezeptoren nachweisen. Diese Befunde und die postulierte Rolle des OPFC bei verschiedenen Lernvorgängen (siehe Kapitel 4.3) lassen vermuten, dass auch NMDA-Rezeptoren im OPFC von Ratten für verschiedene Lernvorgänge von Bedeutung sein könnten.

4.5 Ziele der vorliegenden Arbeit

Der Motivationsschaltkreis ist für die Steuerung von zielgerichtetem Verhalten von herausragender Bedeutung. In der vorliegenden Arbeit wird an Ratten untersucht, wie eine Schlüsselstruktur dieses Motivationsschaltkreises an der Anpassung von konditioniertem Tasten-Drücken in Skinnerboxen an wechselnde Stimulus-Belohnungs-Beziehungen mitwirkt. Im Mittelpunkt der Arbeit steht dabei die bislang wenig untersuchte Funktion des OPFC. Welche Rolle der OPFC bei diesen instrumentellen Lernvorgängen innehat, ist noch weitgehend unverstanden. Ebenso sind die neurochemischen Korrelate dieser Vorgänge bisher unbekannt.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es daher, den Beitrag des OPFC bei diesen Lernvorgängen zu ermitteln. Dazu wurden Aufgabenstellungen verwendet, die es erlauben, die Reaktionsgeschwindigkeit oder Latenzzeit als Maß für den motivationalen Wert von belohnungsanzeigenden Stimuli heranzuziehen: je kürzer die Reaktionszeit ist, desto höher ist der motivationale Wert des belohnungsanzeigenden Stimulus. In den beiden verwendeten Aufgabenstellungen informieren verschiedene instruktive Stimuli über die zu erwartende Belohnungsstärke. Die Stimuli variieren von Versuchsdurchgang zu Versuchsdurchgang. Außerdem wurden die Stimulus-Belohnungs-Beziehungen in verschiedenen Phasen des instrumentellen Lernens verändert.

In diesen Aufgabenstellungen wird die Funktion des OPFC zum einen in diesen verschiedenen Phasen des instrumentellen Lernens untersucht, d. h. z. B. während des Lernens und Umlernens unterschiedlicher Stimulus-Belohnungs-Beziehungen. Zum anderen wird die Rolle des OPFC bei diesen Lernvorgängen unter verschiedenen Bedingungen, d. h. in den beiden verschiedenen Aufgabenstellungen, ermittelt.

Ein weiteres Ziel der vorliegenden Arbeit ist, neurochemische Mechanismen im OPFC aufzuklären, die den oben beschriebenen Lernvorgängen zugrunde liegen. Da dem Glutamat-Rezeptor-Subtyp der NMDA-Rezeptoren eine Beteiligung an vielen Lernvorgängen zugeschrieben wird, könnte diesen Rezeptoren eine noch wenig erfasste Schlüsselfunktion bei instrumentellen Lernvorgängen zukommen. Die Rolle dieses Transmitter-Systems bei diesen Vorgängen wird durch Unterbrechung der NMDA-Rezeptor-vermittelten Signalübertragungsvorgänge mittels Mikroinjektionen von NMDA-Rezeptor-Antagonisten in den OPFC untersucht.

4.6 Anmerkungen zur verwendeten Methodik

Bevor die durchgeführten Experimente vorgestellt werden, wird erläutert, wie Verhalten bei instrumentellen Lernvorgängen gemessen werden kann und welche Substanzen zur Inaktivierung des OPFC verwendet werden.

4.6.1 Messung von Verhalten bei instrumentellen Lernvorgängen

Während instrumenteller Lernvorgänge werden Belohnungen zu Zielen zielgerichteten Verhaltens und den belohnungsanzeigenden Stimuli werden motivationale Werte zugewiesen (siehe Unterkapitel 4.1.2). Weil der motivationale Wert von belohnungsanzeigenden Stimuli zur Klasse der nicht direkt beobachtbaren Variablen gehört, muss er bei wissenschaftlichen Untersuchungen sowohl an messbare äußere Verhaltensindikatoren (abhängige Variablen) als auch an beobachtbare Bedingungsvariationen (unabhängige Variablen) gebunden werden. D. h. da der motivationale Wert nicht direkt messbar ist, wird er unter konstant gehaltenen Außenbedingungen aus den gemessenen Parametern des Verhaltens geschlossen. Indikatoren dafür sind z. B. das Aktivitäts- und Leistungsniveau, die Lernrate, die Präferenz für bestimmte Ziele oder Aktivitäten, die Intensität des Bewegungsablaufes, die Häufigkeit und Dauer der Einzelhandlungen oder die Latenzzeit. Durch stärkere Intensitätsstufen, erhöhte Häufigkeit oder die verlängerte Dauer von Verhaltensweisen bei gleich bleibenden Außenbedingungen kann auf einen erhöhten motivationalen Wert der belohnungsanzeigenden Stimuli geschlossen werden. Als Latenzzeit wird die Zeitspanne definiert, die zwischen Reizeinwirkung und dem Verhaltensbeginn liegt. Demzufolge korreliert eine Abnahme der Latenzzeit mit einer Zunahme des motivationalen Wertes (Franck, 1997; Lexikon der Neurowissenschaft, 2001).

In der vorliegenden Arbeit kommt eine instrumentelle Konditionierung zum Lernen von Stimulus-Belohnungs-Beziehungen in verschiedenen Aufgabenstellungen in Skinnerboxen zum Einsatz. Aufgabenstellungen, bei denen die Latenz- oder Reaktionszeit gemessen wird, sind zur Untersuchung von neuronalen Prozessen hilfreich, die an der Kontrolle von sensomotorischen Reaktionen beteiligt sind. In den verwendeten Aufgabenstellungen ist die Latenz- oder Reaktionszeit die Zeit, die zur Initiierung der motorischen Reaktion benötigt wird. Dabei ist die Latenz- oder Reaktionszeit umso kürzer, je mehr Belohnung für die Ausführung der Reaktion erwartet wird (Hauber *et al.*, 2000), d. h. je höher der motivationale Wert des belohnungsanzeigenden Stimulus ist. Für diese zielgerichtete Anpassung des Verhaltens ist es für ein Individuum wichtig, dass es gelernt hat, dass ein bestimmtes

Verhalten voraussichtlich zu einer Belohnung führen wird, wie attraktiv diese Belohnung sein wird und ob bzw. welcher Stimulus diese Belohnung anzeigt.

Verschiedene Arten von Aufgabenstellungen

Bei der nicht-räumlichen Diskriminationsaufgabe in den Experimenten 1 und 3 der vorliegenden Arbeit (Abb. 4.17, links), in der zwei verschiedene Helligkeitsstufen eines instruktiven Stimulus diskriminiert werden müssen, ist bei jedem Versuchsdurchgang die Antwort gleich. Die Antwort kann deshalb bei Beginn des Versuchsdurchgangs bereits vorprogrammiert sein und muss dann nach der Wahrnehmung des Stimulus nur noch initiiert und ausgeführt werden. Die Antworten unterscheiden sich lediglich durch die Geschwindigkeit ihrer Ausführung in Abhängigkeit vom nicht-räumlichen instruktiven Stimulus.

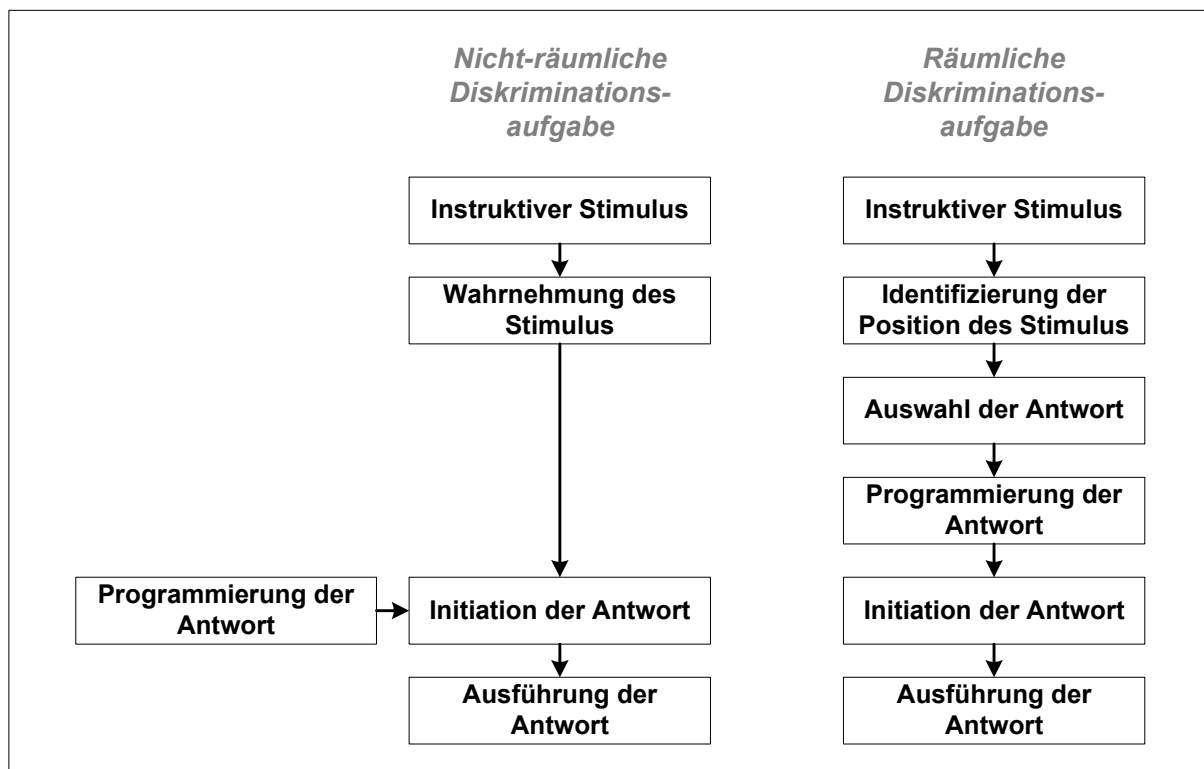


Abb. 4.17. Schema der verschiedenen Arten von Aufgabenstellungen. Bei der nicht-räumlichen Diskriminationsaufgabe (*links*) wird nach Wahrnehmung des Stimulus die bereits vorprogrammierte Antwort nur noch initiiert und dann ausgeführt. Bei der räumlichen Diskriminationsaufgabe mit zwei räumlich-verschiedenen instruktiven Stimuli (*rechts*) muss nach Identifizierung der Position des Stimulus die Antwort ausgewählt, programmiert und initiiert werden und kann erst dann ausgeführt werden. Modifiziert nach Jahanshahi *et al.* (1992).

Im Gegensatz dazu wird bei der räumlichen Diskriminationsaufgabe in Experiment 2 der vorliegenden Arbeit (Abb. 4.17, rechts), in der zwei räumlich-verschiedene instruktive Stimuli diskriminiert werden müssen, je nach Position des instruktiven Stimulus die

entsprechende Antwort ausgewählt. Nach Identifizierung der Position des instruktiven Stimulus muss hier erst noch die entsprechende Antwort ausgewählt (d. h. linke oder rechte Taste drücken) und programmiert werden, bevor sie initiiert und ausgeführt werden kann. Bei dieser Aufgabenstellung unterscheiden sich die Antworten also durch die Art der Antwort und durch die Geschwindigkeit ihrer Ausführung in Abhängigkeit vom instruktiven Stimulus (Jahanshahi *et al.*, 1992; Robbins *et al.*, 1993).

4.6.2 Verwendete Substanzen zur Inaktivierung des orbitalen präfrontalen Kortex

NMDA

NMDA (N-methyl-D-aspartat) (Abb. 4.18, links) ist ein Agonist an einem Subtyp von Glutamat-Rezeptoren, den NMDA-Rezeptoren, die auch nach ihrer Bindungsstelle für NMDA benannt wurden. Als Agonist übt NMDA dieselben Wirkungen an NMDA-Rezeptoren aus wie Glutamat, d. h. er öffnet ebenso wie Glutamat die Ionenkanäle der NMDA-Rezeptoren.

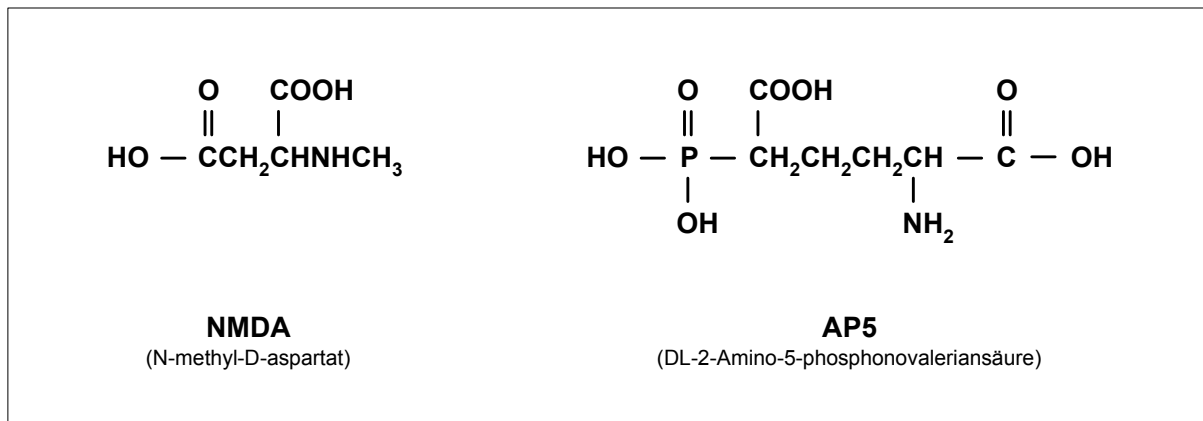


Abb. 4.18. Verwendete Substanzen zur Inaktivierung des OPFC. Dargestellt sind die chemischen Formeln von NMDA (*links*) und AP5 (*rechts*). Modifiziert nach Cooper *et al.* (1991).

NMDA wird in der vorliegenden Arbeit als Neurotoxin zur Läsion des OPFC in den Experimenten 1 und 2 eingesetzt. Seit langem ist bekannt, dass Glutamat als exzitatorischer Neurotransmitter auch für neurotoxische Prozesse verantwortlich ist (z. B. Burnashev, 1996; Meldrum und Garthwaite, 1990; Olney, 1987). Die exzessive Aktivierung von Glutamat-Rezeptoren trägt vermutlich zur Neurodegeneration bei, die einer großen Anzahl von neurologischen Erkrankungen wie Ischämie, Trauma, Hypoglykämie und Epilepsie folgt. Bei chronischen neurodegenerativen Erkrankungen wie Alzheimer, Huntington, AIDS und amyotropher Lateralsklerose könnte der Glutamat-induzierte neuronale Zelltod ebenfalls eine

Rolle spielen. Eine exzessive Glutamat-Freisetzung hat eine starke und andauernde Stimulierung von Glutamat-Rezeptoren, und insbesondere von NMDA-Rezeptoren, zur Folge. Das Resultat ist ein abnormer Einstrom von Ca^{2+} durch Glutamat-Rezeptor-Kanäle, was letztendlich zum Absterben der Neurone beiträgt (Pellegrino-Giampietro *et al.*, 1997). Als Hauptursache für die starke Neurotoxizität wird die Produktion sehr großer Mengen von Stickoxidradikalen, die aus den Neuronen freigesetzt werden, durch die Stickoxid-Synthase angesehen. Ca^{2+} -Einstrom und Stickoxid-Freisetzung führen in der Folge zur Bildung weiterer Radikale (Choi, 1993). Letztendlich sind diese reaktiven Substanzen für die Inaktivierung von Enzymen, Schädigung von DNA und schließlich den Zelltod verantwortlich (Lafon-Cazal *et al.*, 1993).

AP5

AP5 (DL-2-Amino-5-phosphonovaleriansäure) (Abb. 4.18, rechts) ist ein kompetitiver NMDA-Rezeptor-Antagonist, d. h. AP5 konkurriert mit Glutamat um dessen Bindungsstellen an NMDA-Rezeptoren. Besetzt AP5 die Glutamat-Bindungsstellen an NMDA-Rezeptoren, kann dieser nicht mehr öffnen und seine Aufgaben erfüllen. Somit ist das Ausmaß der NMDA-Rezeptor-Blockade abhängig vom Konzentrationsverhältnis zwischen Glutamat und AP5.

AP5 wird in der vorliegenden Arbeit zur Blockade der glutamatergen Signalübertragung im OPFC in Experiment 3 durch Mikroinfusion direkt in den OPFC verabreicht.

5 Durchgeführte Experimente

5.1 *Experiment 1: Orbital Prefrontal Cortex and Guidance of Instrumental Behaviour in Rats under Reversal Conditions*

Seiten 64 – 71

5.2 *Experiment 2: Orbital Prefrontal Cortex and Guidance of Instrumental Behavior of Rats by Visuospatial Stimuli Predicting Reward Magnitude*

Seiten 72 – 82

5.3 *Experiment 3: NMDA Receptors in the Rat Orbital Prefrontal Cortex and Guidance of Instrumental Behavior under Reversal Conditions*

Seiten 83 – 92

Orbital Prefrontal Cortex and Guidance of Instrumental Behaviour in Rats under Reversal Conditions

Ines Bohn, Christian Gierler and Wolfgang Hauber

Abteilung Tierphysiologie, Biologisches Institut, Universität Stuttgart, Stuttgart, Germany, D-70550
Corresponding author: Tel: +49-711-685-5003; Fax: +49-711-685-5090; E-Mail: hauber@po.uni-stuttgart.de

Abstract

The orbital prefrontal cortex (OPFC) is suggested to be part of a circuitry mediating the perception of reward and the initiation of adaptive behavioural responses. In the present study, we investigated in rats changes of goal-directed behaviour after bilateral OPFC-lesions by N-methyl-D-aspartate (NMDA) in more detail. A reaction time (RT) task was used which is sensitive to subtle changes in discriminative guidance of instrumental behaviour by the anticipated reward magnitudes. The task demands conditioned lever release triggered by an imperative stimulus. The upcoming reward magnitude (5 or 1 food pellet) for each trial was randomly chosen and signalled in advance by distinct instructive stimuli. In trained rats, RTs of instrumental responses were determined by the two distinct stimulus-reward magnitude contingencies, i.e. RTs were shorter to the instructive stimulus predictive of the higher reward magnitude. Results show that lesions of the OPFC did not impair discriminative guidance of behavioural responses according to preoperatively acquired stimulus-reward magnitude contingencies. However, guidance of instrumental behaviour was altered in lesioned rats after a reversal of the stimulus-reward magnitude contingencies. The data add further support to the hypothesis that the rat OPFC is not involved in retrieval of acquired stimulus-reward magnitude contingencies but in integration of incentive information to guide behaviour after a reversal of stimulus-reward contingencies.

Key words: reward, reward magnitude, goal-directed action, reaction time, stimulus-reward learning, instrumental learning, orbitofrontal

Introduction

The orbital prefrontal cortex (OPFC) has been widely suggested as part of a circuitry through which information on the incentive value of stimuli influences the selection and execution of reward-directed behavioural responses [5,13,18,20]. This hypothesis is based on findings that monkeys and humans with damage to OPFC exhibit behavioural impairments after changes of stimulus-reward contingencies [7,8,15,19,21]. Furthermore, electrophysiological data indicate that the acquired incentive value of cues is encoded in OPFC neurons [14,17,28,31]. In addition, firing to discriminative cues in OPFC neurons does not correlate with reinforcer identity, but reflects the incentive value of the reinforcer [23,30]. Besides, cue-selective firing in OPFC is altered markedly after changes in cue-outcome contingencies [23,24,29]. As changes in cue-selective firing induced by cue-outcome alterations are time-locked to changes in choice behaviour, neuronal activity in OPFC might represent the conjunction of the acquired incentive value of the cues with the use of that information to guide performance [22,23,25].

The role of the OPFC in control of goal-directed behaviour has been explored primarily in monkeys and humans. The few rat studies available so far

demonstrate subtle behavioural impairments after inactivation of the rat OPFC which were strongly task-dependent and in part inconsistent across different studies. For example, rats with OPFC-lesions were impaired after reversal in an olfactory discrimination task [26], while other studies showed that rats with OPFC-lesions were not affected during the first, but during a second serial reversal in a discrimination task [9]. On the other hand, rats with transient OPFC-inactivation were not impaired after reversal of stimulus-reward contingencies in a two-lever task [6].

The present study was designed to examine in more detail behavioural changes in rats with OPFC-lesions. To this end, a reaction time (RT) task was used which is sensitive to subtle changes in discriminative guidance of instrumental behaviour by anticipated reward magnitudes [4,11,12]. In this task, RTs of instrumental responses were determined by distinct stimulus-reward magnitude contingencies. We tested whether OPFC-lesions impaired (1) discriminative guidance of instrumental behaviour according to preoperatively acquired stimulus-reward magnitude contingencies and, (2) behavioural adaptation to a postoperative reversal of stimulus-reward magnitude contingencies.

Materials and methods

Experiments were performed according to the German Law on Animal Protection and approved by the proper authorities in Stuttgart, Germany.

Subjects

Thirty-three male Sprague-Dawley rats (Charles-River, Sulzfeld, Germany) were maintained in a temperature- and humidity-controlled room on a 12 h light : 12 h dark schedule (lights on 07.00 – 19.00 h) with testing in the light phase. All rats were given *ad libitum* access to water. Standard laboratory maintenance chow (Altromin, Lage, Germany) was restricted to 12 g per animal and day. On days with behavioural tests, rats received 6 – 7 g food reward (45 mg pellets, Bioserv, Frenchtown, USA) in the testing apparatus. On these days, the amount of standard laboratory chow was adapted in order to keep body weights constant. Rats weighed 200 – 225 g on arrival and 250 – 310 g at the time of surgery.

Surgery

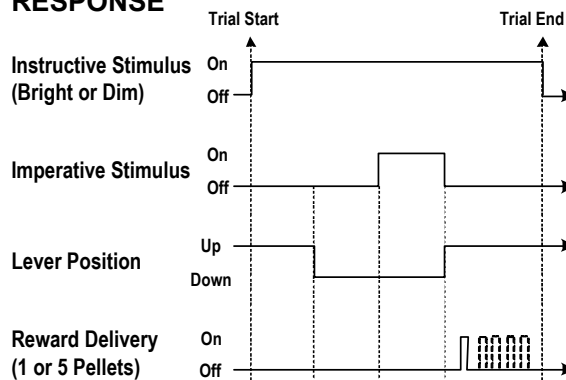
For stereotaxic surgery, rats were anaesthetized with sodium pentobarbital (50 mg/kg, i.p.) (Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Germany) following pretreatment with atropine sulphate (0.05 mg/kg, i.p.) (Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Germany) and secured in a Kopf stereotaxic apparatus (Kopf Instruments, Tujunga, USA). Standard stereotaxic methods were used for bilateral microinjections of N-methyl-D-aspartate (NMDA) (Tocris Cookson Ltd., Bristol, UK) at the following coordinates: 4.0 mm anterior to bregma, 1.8 and 3.0 mm lateral to midline, and 4.6 mm ventral from the skull surface [16]. A second set of bilateral injections was made at 3.0 mm anterior to bregma, 2.8 and 3.6 mm lateral to midline, and 5.6 mm ventral from the skull surface. At each of the four sites per hemisphere, NMDA (20 mg/ml) (OPFC-lesioned group, $n = 11$) or the Krebs'-Ringer's solution phosphate vehicle (sham-lesioned group, $n = 11$) was delivered in a volume of 0.1 μ l over a 1 min interval. The injector was left *in situ* for a further 3 min to allow for diffusion. Each rat was given at least 7 d to recover from surgery before postoperative training was started. One group of rats (un-operated group, $n = 11$) did not undergo surgery. The lesion protocol was similar to the one described elsewhere [10].

Apparatus

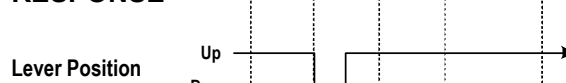
Four operant test chambers (24 x 21 x 30 cm) (Med Associates, St. Albans, USA) were placed in separate sound attenuating cubicles with fans providing a constant low level of background noise. Each chamber was supplied with a retractable lever, a food dispenser with receptacle on the right hand side of the retractable lever and two stimulus lights, one above the retractable lever (providing the

imperative stimulus) and one above the food receptacle (providing the instructive stimulus). The experiments were controlled online (SmartControl[®]-Interfaces; Med Associates, St. Albans, USA) by a computer system (MedPC-Software; Med Associates, St. Albans, USA).

CORRECT RESPONSE



EARLY RESPONSE



LATE RESPONSE

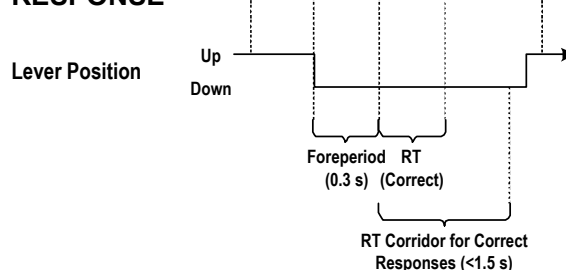


Fig. 1. Schematic representation of the order of trial events. At the beginning of a trial, the instructive stimulus light was turned on at one of two brightness levels which were associated with different reward magnitudes (1 or 5 pellets). Thereafter, the rat pressed the lever spontaneously. After a foreperiod of 0.3 s, the imperative stimulus light was presented signalling the rat to release the lever in order to get the food reward. Responses with reaction time (RT) < 1.5 s were considered as being correct and were rewarded as indicated by the instructive stimulus (top). Early responses (before onset of the imperative stimulus) (middle) or late responses (RT > 1.5 s) (bottom) caused the trial to be repeated with the identical foreperiod and reward magnitude.

Reaction time task

A simple reaction time (RT) task [11,12] was used which demands conditioned lever release with instructive stimuli indicating the reward magnitude to be obtained after a subsequent imperative stimulus.

Rats had to press the lever and to wait for the imperative stimulus after a foreperiod of 0.3 s. The

imperative stimulus signalled to release the lever quickly and to respond to the food receptacle in which the food pellets were delivered (45 mg pellets, Bioserv, Frenchtown, USA). On each correct trial, the rats received one or five food pellets. The number of pellets for each trial was randomly determined in advance and signalled to the rats by two distinct brightness levels of the instructive stimulus light. The instructive stimulus light was turned on at the beginning of each trial before lever press and remained present until delivery of food reward. To check for equal perception of the two different brightness levels of the instructive stimulus light, for 50 % of the rats, the bright stimulus was associated with delivery of 5 pellets and the dim stimulus was associated with delivery of 1 pellet. For the other 50 % of the rats, the opposite pattern was used.

RTs defined as latency from the onset of the imperative stimulus to lever release were recorded with an accuracy of 10 ms. For a correct trial, rats had to release the lever within 1.5 s after presentation of the imperative stimulus. Responses before onset of the imperative stimulus were defined as “early” responses, responses with RTs longer than 1.5 s were defined as “late” responses. A daily individual session lasted approximately 10 min and demanded 50 correct trials, i.e. 25 correct trials for each reward magnitude (1 and 5 pellets). All rats were trained in one daily session on 5 d per week during the complete experimental period. A schematic representation of the order of trial events is given in Fig. 1.

Experimental procedure

Habituation. On the first day, subjects were habituated to the operant chamber with access to food pellets placed into the food receptacle. The following days, a habituation program with a FR-1 schedule commenced until a criterion of 20 consecutive lever responses was attained.

Preoperative sessions. Rats were trained in the RT task for 20 sessions. Thereafter, the correct response rate was at least 70 %, i.e. rats needed at maximum 71 trials to attain the necessary 50 correct responses. In addition, mean RTs of all responses of a session with an expected low reward magnitude were significantly longer than those with an expected high reward magnitude, i.e. responses were guided by the expected reward magnitude. Afterwards, rats were subjected to surgery.

Retrieval sessions. After at least 7 d of recovery, retrieval of preoperatively learned stimulus-reward magnitude contingencies was tested for 25 sessions. After retrieval, correct response rate was at least 70 % and mean RTs of all responses of a session with an expected low reward magnitude were significantly longer than those with an expected high reward magnitude in all treatment groups.

Reversal sessions. Subsequently, acquisition of reversed stimulus-reward magnitude contingencies

was tested for 60 sessions, i.e. rats had to acquire that the stimulus formerly predicting high reward magnitude was under reversal conditions associated with low reward magnitude (and *vice versa*).

Data analysis

Results showed equal perception of the two different brightness levels of the instructive stimulus light, i.e. all rats discriminated stimulus-reward magnitude contingencies irrespective of the brightness-reward magnitude relationship. Therefore performance and RT data obtained with both stimulus-reward magnitude contingencies were pooled. For analysis, data were grouped into blocks of 5 sessions.

Accuracy of task performance was determined by using (1) the mean total number of trials per session (\pm standard error of the mean, SEM), and (2) the correct response rate, i.e. the per cent means of correct responses from the total number of trials per session (\pm SEM). Two-way analyses of variance (ANOVAs) of each experimental period (preoperative, retrieval, reversal) were conducted with treatment groups as between factor and blocks as within (repeated measures) factor followed by planned contrasts.

The calculations of RT performance were conducted with RT data from correct responses ($RT < 1.5$ s). For outlying data points having less influence, geometric RT means instead of arithmetic means of responses with the expected high and low reward magnitude, respectively, were calculated for the individual rat for each session. Overall RT means of responses with the expected high and low reward magnitude, respectively, represent the arithmetic average of the geometric means of individual rats [3]. Preoperatively as well as after retrieval, RTs of responses with an expected low reward magnitude were significantly longer than those with an expected high reward magnitude. Calculated RT differences (\pm SEM) reflecting RT guidance by reward magnitude expectancy based on instructive stimuli [11] were further analysed by ANOVAs followed by planned contrasts. A calculated “positive” difference between RTs with expected low vs. high reward magnitudes indicates intact determination of instrumental responses by the expected reward magnitudes.

Statistical computations were carried out with the STATISTICA (⁹⁹, StatSoft Inc., Hamburg, Germany) statistical package. The level of statistical significance (α -level) was set at $p < 0.05$.

Histology

On completion of behavioural testing, rats were euthanized with Ethrane[®] (Abbott, Wiesbaden, Germany) and transcardially perfused with 350 ml 0.02 % heparin sodium salt solution (Gibco BRL, Grand Island, N.Y., USA), followed by 400 ml 4 % formalin (Schuchardt, Hohenbrunn, Germany). Brains were removed, post-fixed in 4 % formalin for 20 hr, and stored in 30 % glucose. Brain sections

(30 μm) were cut with a cryostat (Reichert & Jung, Heidelberg, Germany), mounted on coated slides and stained with cresyl violet. Sham-lesions and OPFC-lesions were analysed [16].

Results

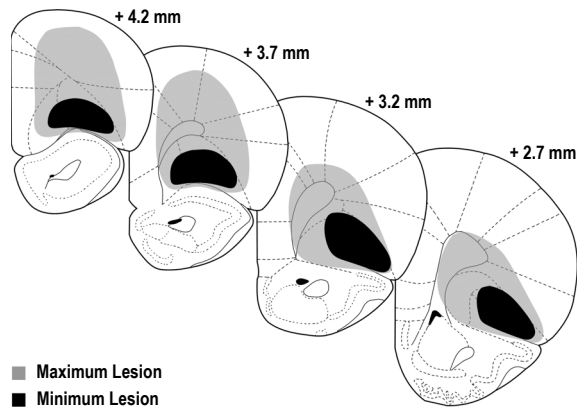


Fig. 2. Schematics showing the area of orbital prefrontal cortex damage. The schematics depict the approximate extent and placement of the orbital prefrontal cortex lesions for all rats used for data analysis. Black and shaded regions, respectively, represent the minimum and maximum extent of cell loss across animals. Plates are adaptations from the atlas of Paxinos and Watson (1986). Numbers beside each plate correspond to millimetres anterior to bregma.

Histological results

Infusion of NMDA resulted in extensive neuronal loss and gliosis in ventrolateral and lateral orbital regions. On average, lesions encompassed 80 % of OPFC bilaterally, ranging from 50 to 100 %. Only rats with OPFC-lesions encompassing at least 50 % of ventrolateral and lateral orbital regions were included in data analysis. Two rats were excluded from the OPFC-lesioned group because of too small lesions. The largest lesions reached to the medial orbital area and included some minor damage to claustrum and frontal, parietal and agranular insular cortex. No relationship between any behavioural measure and the extent of the encroachment of the lesions on adjacent structures was observed. Therefore, no animal was excluded because of large lesions including some damage to other areas. The approximate extent and placement of OPFC-lesions of all rats included in data analysis is depicted in Fig. 2. In sham-lesioned rats, no mechanical damage caused by the four injections per hemisphere was observed.

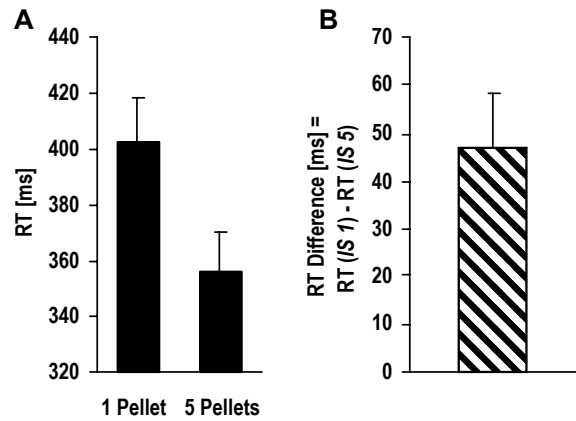


Fig. 3. Effect of the number of expected pellets on reaction times (RTs) in the last retrieval block in un-operated rats ($n = 11$, $n = 50$ correct responses per animal). (a) Mean RTs (\pm SEM) were significantly determined by the number of expected pellets: RTs of responses with an expected low reward magnitude were significantly longer than those with an expected high reward magnitude. (b) The calculated “positive” RT difference between RT with an expected low vs. high reward magnitude reflects an intact determination of behavioural responses by the two stimulus-reward magnitude contingencies. RT (IS 1): RT of responses with the instructive stimulus indicating 1 pellet; RT (IS 5): RT of responses with the instructive stimulus indicating 5 pellets.

Performance in preoperative and retrieval sessions

Correct response rate. In all preoperative blocks, correct response rate (RT < 1.5 s) was between 83 and 89 %, i.e. on average a total of 56 – 60 trials were necessary to attain 50 correct responses. In all postoperative retrieval blocks, correct response rate was between 83 and 89 %. A two-way ANOVA on correct response rates with treatment groups as between factor and preoperative and retrieval blocks as within (repeated measures) factor indicated significant differences neither between OPFC-lesioned and control groups nor between blocks.

RT performance. Mean RTs were significantly longer with expectancy of a low reward magnitude resulting in positive RT differences (\pm SEM) of $+63 \pm 8$ ms in the OPFC-lesioned group ($F_{(1,88)} = 13.46$; $p < 0.001$), of $+41 \pm 12$ ms in the sham-lesioned group ($F_{(1,108)} = 6.09$; $p < 0.05$), and of $+47 \pm 11$ ms in the un-operated group ($F_{(1,108)} = 4.74$; $p < 0.05$) in the last retrieval block (Fig. 3). RT performance in OPFC-lesioned and control groups did not differ: a two-way ANOVA on RT differences with treatment groups as between factor and preoperative and retrieval blocks as within (repeated measures) factor revealed significant differences neither between the three treatment groups nor between preoperative and retrieval blocks (Fig. 4).

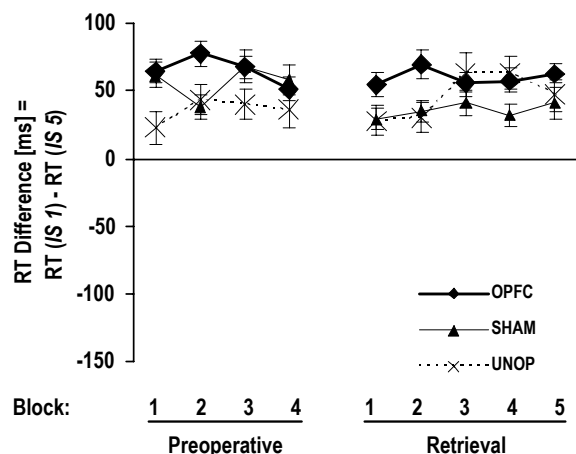


Fig. 4. Effect of OPFC-lesion on reaction time (RT) differences (\pm SEM) during postoperative retrieval testing. In all pre- and postoperative blocks, RT differences were positive indicating intact stimulus-reward magnitude discrimination, i.e. RTs were longer with the stimulus associated with low reward magnitude. In all postoperative retrieval blocks, OPFC-lesioned (OPFC), sham-lesioned (SHAM) and un-operated (UNOP) rats showed comparable levels of RT performance. RT (IS 1): RT of responses with the instructive stimulus indicating 1 pellet; RT (IS 5): RT of responses with the instructive stimulus indicating 5 pellets.

Performance in reversal sessions

Correct response rate. Reversal of stimulus-reward magnitude contingencies did not alter correct response rate compared to preceding retrieval sessions. In addition, there were no significant differences between OPFC-lesioned and control groups.

RT performance. In the last retrieval block before reversal testing, RT differences were positive, i.e. RTs were longer with the stimulus indicating low reward magnitude. In the first blocks of reversal testing, RT differences were negative indicating that RTs were longer to the stimulus predictive of high reward magnitude. Thus, animals responded to the stimuli according to their prior significance. Over the next blocks of reversal testing, RT differences became less negative in control groups and positive in OPFC-lesioned group. A two-way ANOVA on RT differences with treatment groups as between factor and reversal blocks as within (repeated measures) factor revealed that there was a significant treatment effect ($F_{(2,152)} = 4.83$, $p < 0.01$), a significant block effect ($F_{(11,1672)} = 25.99$, $p < 0.001$) and a significant treatment \times block interaction effect ($F_{(22,1672)} = 5.76$, $p < 0.001$). Further comparisons with planned contrasts indicated that the OPFC-lesioned group was significantly different from the two control groups in the 1st (un-operated group: $F_{(1,152)} = 26.74$, $p < 0.001$), 2nd (un-operated group: $F_{(1,152)} = 11.82$, $p < 0.001$), 8th (un-operated group: $F_{(1,152)} = 4.22$, $p < 0.05$; sham-lesioned group: $F_{(1,152)} = 7.77$, $p < 0.01$), 9th (un-operated group: $F_{(1,152)} = 20.79$, $p < 0.001$; sham-lesioned group: $F_{(1,152)} = 13.47$, $p < 0.001$), 10th (un-operated group: $F_{(1,152)} = 11.35$,

$p < 0.001$; sham-lesioned group: $F_{(1,152)} = 7.10$, $p < 0.01$), 11th (un-operated group: $F_{(1,152)} = 6.32$, $p < 0.05$; sham-lesioned group: $F_{(1,152)} = 7.44$, $p < 0.01$) and 12th (un-operated group: $F_{(1,152)} = 8.78$, $p < 0.01$; sham-lesioned group: $F_{(1,152)} = 21.94$, $p < 0.001$) reversal blocks. In the first reversal block, RT difference was less negative in sham-lesioned than in OPFC-lesioned rats; contrast test indicated that this effect missed statistical significance ($F_{(1,152)} = 3.39$, $p = 0.06$). Fig. 5 depicts the changes of RT differences during reversal testing.

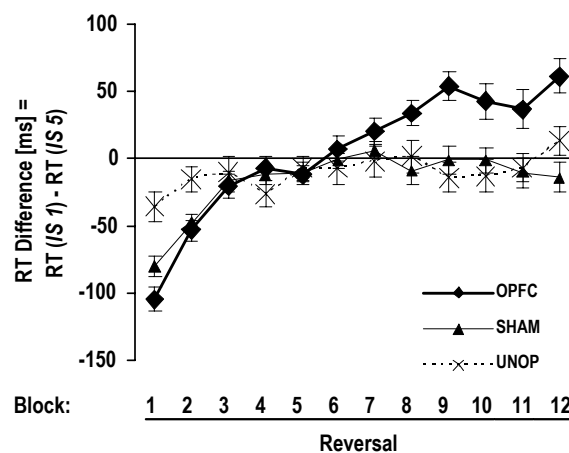


Fig. 5. Effect of OPFC-lesion on reaction time (RT) differences (\pm SEM) during reversal testing. In the first reversal blocks, RT differences were negative because RTs were significantly shorter with the instructive stimulus which originally indicated high but under reversal conditions low reward magnitude. During the following blocks, RT differences became only gradually less negative in un-operated (UNOP) and sham-lesioned (SHAM) groups and positive in OPFC-lesioned (OPFC) group. RT (IS 1): RT of responses with the instructive stimulus indicating 1 pellet; RT (IS 5): RT of responses with the instructive stimulus indicating 5 pellets.

Discussion

The present study reveals that OPFC-lesions did not impair discriminative guidance of instrumental behaviour according to preoperatively acquired stimulus-reward magnitude contingencies. However, OPFC-lesions altered guidance of instrumental behaviour if stimulus-reward magnitude contingencies were reversed.

NMDA- lesions of the OPFC

Lesions were generally large and – on average – encompassed 80 % of OPFC. The extent determined here is in line with the size of OPFC-lesions by NMDA detected in previous studies [9,10,26]. To ensure that the stereotaxic procedure *per se* (4 injections per hemisphere) did not induce unspecific damage causing behavioural impairments, an un-operated group was included additionally. Performance of un-operated and sham-lesioned rats did not differ significantly in any variable measured in postoperative tests. In addition, inspection of

cresyl violet stained slices from sham-lesioned rats depicted no signs of mechanical damage in OPFC. Thus, it is unlikely that the stereotaxic procedure *per se* produced OPFC-injury resulting in behavioural alterations.

Performance in preoperative sessions

Two variables with different sensitivity were used to characterize task performance: correct response rate and RT performance. The correct response rate was defined as the per cent means of correct responses from the total number of responses (including early and late responses) to reach the 50 correct trials demanded per session. Correct response rate was 89 % indicating a high level of instrumental performance which exceeded those in comparable tasks [4,11,12]. Furthermore, preoperative RTs of responses with an expected low reward magnitude were significantly longer than those with an expected high reward magnitude resulting in a “positive” RT difference. Apparently, the predictive information provided by the instructive stimulus produced reward magnitude expectancies accounting for RT difference. Therefore, RT difference is a sensitive measure to characterize discriminative guidance of instrumental responses by stimulus-reward magnitude contingencies. The preoperative “positive” RT difference of $\sim +50$ ms corresponds to that determined in similar tasks [4,11,12].

Effects of OPFC-lesion performance in retrieval sessions

OPFC-lesions did not affect correct response rate postoperatively suggesting intact retrieval of the task without sensorimotor deficits. Likewise, RT performance was not altered by OPFC-lesions. Already in the first retrieval block, all groups, including OPFC-lesioned group, showed RT differences as positive as in the last preoperative block reflecting intact guidance of instrumental behaviour according to the anticipated reward magnitudes. Thus, OPFC does not seem to play a fundamental role in retrieval of preoperatively acquired stimulus-reward magnitude contingencies. These data correspond to recent findings in OPFC-lesioned rats which were unimpaired in acquiring go/no-go odour discrimination problems when cue-outcome relationships remained unchanged [26].

Effects of OPFC-lesion on performance in reversal sessions

During reversal of stimulus-reward magnitude contingencies, correct response rate remained unchanged in all groups compared to preceding retrieval sessions suggesting that instrumental responding is reward-directed in OPFC-lesioned and control rats. However, in the first reversal blocks, RT differences were negative in all groups. Thus, cues continued to be interpreted according to their prior incentive significance. Similarly, control rats

stayed with their previous response strategy in a comparable nine-hole box task in the initial reversal block [4]. Remarkably, in the first reversal block, RT differences of OPFC-lesioned rats were significantly more negative compared to control rats. Thus, during early stages of reversal learning, damage to OPFC produced a stronger perseveration of RT performance according to the originally acquired stimulus-reward magnitude contingencies. Likewise, OPFC-lesions affected the initial reversal of an established response pattern in an odour-guided go/no-go discrimination task [26]. These findings in rats correspond to the general notion that humans and monkeys with OPFC-damage exhibit impairments after changes of stimulus-reward contingencies [7,8,15,19,21]. However, other authors [9] using an odour-guided go/no-go discrimination task detected no impairment after OPFC-lesions in rats during the first, but during a second serial reversal. Furthermore, rats with transient OPFC-inactivation showed intact reversal learning in a two-lever discrimination task [6]. Together, these studies suggest that the contribution of the OPFC in initial reversal learning critically depends on the type of reversal task used. Further support for a role of rat OPFC in reversal learning is provided by recent electrophysiological findings in rats. After reversal of stimulus-reward contingencies, correlated firing increased in OPFC indicating that the original associations were maintained within the OPFC while acquiring new stimulus-reward associations. This type of encoding has been suggested to facilitate comparisons of original and reversed stimulus-reward contingencies permitting faster behavioural adaptation in controls. In contrast, OPFC-lesioned rats show perseverative behaviour as the original encoding is more difficult to alter in the absence of OPFC [24,26].

In later blocks of reversal testing, RT differences became gradually less negative in control groups and positive in OPFC-lesioned group, i.e. control rats did not acquire reversal of stimulus-reward magnitude contingencies within 60 sessions, whereas OPFC-lesioned rats did. It is unlikely that the behaviour of control rats reflects chance effects as both un-operated and sham-lesioned rats performed very similar. Thus, procedural and task-inherent reasons might account for this effect. The fact that rats underwent intensive training for 45 sessions with the original stimulus-reward magnitude contingencies might account for their slow reversal learning. In addition, reversal learning in tasks as used here might be particularly difficult since in a similar RT task control rats did not reach the level of reward magnitude discrimination acquired in 21 preceding retrieval sessions after 20 reversal sessions [4]. By contrast, in a simple visuospatial discrimination task, control rats reached the level of reward magnitude discrimination acquired in 6 sessions already after 6 reversal sessions [2]. Thus, it seems that OPFC-lesioned rats acquired reversal of stimulus-reward magnitude contingencies faster

than controls in the task used here. There might be several explanations for this phenomenon. Similarly to the present study, impaired reversal learning declined in OPFC-lesioned rats and, after serial reversals, they performed significantly better than controls [26]. The improvement of the OPFC-lesioned rats was attributed to the emergence of a non-OPFC dependent strategy for solving reversals less susceptible to interference than processes supporting reversal learning in intact rats. Interference might also account for the faster reversal learning of rats with OPFC-lesions in the present study. However, this notion is limited given the methodological differences in both studies. Nevertheless, together these findings render the idea that an intact OPFC might hamper reversal learning in later stages, perhaps due to interference with original stimulus-reward magnitude contingencies.

The role of the rat OPFC: functional implications

The OPFC plays a key role within the circuitry through which information on the incentive significance of stimuli influences the selection and execution of reward-directed behaviour. In particular, the OPFC has been implicated to play an important role in adapting behavioural responses to altered incentive information in monkeys and humans [1,7,8,15,19,21]. Using a RT task highly sensitive to changes of behavioural guidance by the anticipated value of actions, the present data provide further support to the concept that the OPFC in rats is not involved in retrieval of acquired stimulus-reward magnitude contingencies but in adaptation of instrumental behaviour to changes in the incentive value of environmental stimuli [27].

Acknowledgements

This research was supported by the Deutsche Forschungsgemeinschaft (Ha2340/3-2) and the Landesgraduiertenförderung Baden- Württemberg. This work is part of the Ph.D. thesis of one of the authors (I.B.).

References

- [1] Bechara A, Damasio H, Damasio AR. Emotion, decision making and the orbitofrontal cortex. *Cereb Cortex* 2000;10:295-307.
- [2] Bohn I, Gierler C, Hauber W. Involvement of the orbital prefrontal cortex in guidance of instrumental behavior of rats by stimuli predicting reward magnitude. *Behav Pharmacol* 2001;12:S10.
- [3] Brasted PJ, Humby T, Dunnett SB, Robbins TW. Unilateral lesions of the dorsal striatum in rats disrupt responding in egocentric space. *J Neurosci* 1997;17:8919-26.
- [4] Brown VJ, Bowman EM. Discriminative cues indicating reward magnitude continue to determine reaction time of rats following lesions of the nucleus accumbens. *Eur J Neurosci* 1995;7:2479-85.
- [5] Cardinal RN, Parkinson JA, Hall J, Everitt BJ. Emotion and motivation: the role of the amygdala, ventral striatum, and prefrontal cortex. *Neurosci Biobehav Rev* 2002;26:321-52.
- [6] De Bruin JP, Feenstra MG, Broersen LM, Van Leeuwen M, Arens C, De Vries S, Joosten RN. Role of the prefrontal cortex of the rat in learning and decision making: effects of transient inactivation. *Prog Brain Res* 2000;126:103-13.
- [7] Dias R, Robbins TW, Roberts AC. Dissociable forms of inhibitory control within prefrontal cortex with an analog of the Wisconsin Card Sort Test: restriction to novel situations and independence from "on-line" processing. *J Neurosci* 1997;17:9285-97.
- [8] Elliott R, Dolan RJ, Frith CD. Dissociable functions in the medial and lateral orbitofrontal cortex: evidence from human neuroimaging studies. *Cereb Cortex* 2000;10:308-17.
- [9] Ferry AT, Lu XC, Price JL. Effects of excitotoxic lesions in the ventral striatopallidal- thalamocortical pathway on odor reversal learning: inability to extinguish an incorrect response. *Exp Brain Res* 2000;131:320-35.
- [10] Gallagher M, McMahan RW, Schoenbaum G. Orbitofrontal cortex and representation of incentive value in associative learning. *J Neurosci* 1999;19:6610-4.
- [11] Hauber W, Bohn I, Gierler C. NMDA, but not dopamine D(2), receptors in the rat nucleus accumbens are involved in guidance of instrumental behavior by stimuli predicting reward magnitude. *J Neurosci* 2000;20:6282-8.
- [12] Hauber W, Gierler C, Bohn I. NMDA and dopamine D2 receptors in the caudate-putamen are not involved in control of motor readiness in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 2001;155:43-51.
- [13] Kalivas PW, Nakamura M. Neural systems for behavioral activation and reward. *Curr Opin Neurobiol* 1999;9:223-7.
- [14] Lipton PA, Alvarez P, Eichenbaum H. Crossmodal associative memory representations in rodent orbitofrontal cortex. *Neuron* 1999;22:349-59.
- [15] Meunier M, Bachevalier J, Mishkin M. Effects of orbital frontal and anterior cingulate lesions on object and spatial memory in rhesus monkeys. *Neuropsychologia* 1997;35:999-1015.
- [16] Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates, 2nd ed. San Diego: Academic Press, 1986.

- [17] Robbins TW, Everitt BJ. Neurobehavioural mechanisms of reward and motivation. *Curr Opin Neurobiol* 1996;6:228-36.
- [18] Rogers RD, Owen AM, Middleton HC, Williams EJ, Pickard JD, Sahakian BJ, Robbins TW. Choosing between small, likely rewards and large, unlikely rewards activates inferior and orbital prefrontal cortex. *J Neurosci* 1999;19:9029-38.
- [19] Rolls ET. The orbitofrontal cortex. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 1996;351:1433-44.
- [20] Rolls ET. *The Brain and Emotion*. London: Oxford University Press, 1999.
- [21] Rolls ET, Hornak J, Wade D, McGrath J. Emotion-related learning in patients with social and emotional changes associated with frontal lobe damage. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1994;57:1518-24.
- [22] Schoenbaum G, Chiba AA, Gallagher M. Orbitofrontal cortex and basolateral amygdala encode expected outcomes during learning. *Nat Neurosci* 1998;1:155-9.
- [23] Schoenbaum G, Chiba AA, Gallagher M. Neural encoding in orbitofrontal cortex and basolateral amygdala during olfactory discrimination learning. *J Neurosci* 1999;19:1876-84.
- [24] Schoenbaum G, Chiba AA, Gallagher M. Changes in Functional Connectivity in Orbitofrontal Cortex and Basolateral Amygdala during Learning and Reversal Training. *J Neurosci* 2000;20:5179-5189.
- [25] Schoenbaum G, Eichenbaum H. Information coding in the rodent prefrontal cortex. II. Ensemble activity in orbitofrontal cortex. *J Neurophysiol* 1995;74:751-62.
- [26] Schoenbaum G, Nugent SL, Saddoris MP, Setlow B. Orbitofrontal lesions in rats impair reversal but not acquisition of go, no-go odor discriminations. *Neuroreport* 2002;13:885-90.
- [27] Schoenbaum G, Setlow B. Integrating orbitofrontal cortex into prefrontal theory: common processing themes across species and subdivisions. *Learn Mem* 2001;8:134-47.
- [28] Schroeder BE, Binzack JM, Kelley AE. A common profile of prefrontal cortical activation following exposure to nicotine- or chocolate-associated contextual cues. *Neuroscience* 2001;105:535-45.
- [29] Thorpe SJ, Rolls ET, Maddison S. The orbitofrontal cortex: neuronal activity in the behaving monkey. *Exp Brain Res* 1983;49:93-115.
- [30] Tremblay L, Schultz W. Relative reward preference in primate orbitofrontal cortex. *Nature* 1999;398:704-8.
- [31] Yonemori M, Nishijo H, Uwano T, Tamura R, Furuta I, Kawasaki M, Takashima Y, Ono T. Orbital cortex neuronal responses during an odor-based conditioned associative task in rats. *Neuroscience* 2000;95:691-703.

Orbital Prefrontal Cortex and Guidance of Instrumental Behavior of Rats by Visuospatial Stimuli Predicting Reward Magnitude

Ines Bohn, Christian Gierler and Wolfgang Hauber

Abteilung Tierphysiologie, Biologisches Institut, Universität Stuttgart, Stuttgart, Germany D-70550

Corresponding author: Tel: +49-711-685-5003; Fax: +49-711-685-5090; E-Mail: hauber@po.uni-stuttgart.de

The orbital prefrontal cortex (OPFC) is part of a circuitry mediating the perception of reward and the initiation of adaptive behavioral responses. We investigated whether the OPFC is involved in guidance of the speed of instrumental behavior by visuospatial stimuli predictive of different reward magnitudes. Un-operated rats, sham-lesioned rats and rats with bilateral lesions of the OPFC by NMDA were trained in a visuospatial discrimination task. The task required a lever press on the illuminated of two levers available to obtain food reward. Different reward magnitudes were permanently assigned to lever presses to respective sides of the operant chamber, e.g. responses to one lever (e.g. the left one) were always rewarded with one, responses to the other lever with five pellets. On each trial, the position of the illuminated lever was pseudo-randomly determined in advance. Results revealed that OPFC-lesions did not impair acquisition of the task as the speed of conditioned responses was significantly shorter with expectancy of a high reward magnitude. In addition, during reversal, shift and re-shift of lever position- reward magnitude contingencies and under extinction conditions, performance of the OPFC-lesioned and control groups did not differ. It is concluded that the OPFC in rats might not be critical for adapting behavioral responses to changes of stimulus- reward magnitude contingencies signaled by visuospatial cues.

The orbital prefrontal cortex (OPFC) might be part of a circuitry through which information on the motivational significance of stimuli mediates the selection and execution of reward-directed behavioral responses (Cardinal *et al.*, 2002; Schoenbaum and Setlow, 2001). This hypothesis is based on findings in rats and primates that the acquired motivational value of cues is encoded in OPFC (Lipton *et al.*, 1999; Rogers *et al.*, 1999; Schroeder *et al.*, 2001; Yonemori *et al.*, 2000). Electrophysiological data further indicate that neuronal activity in OPFC represents the conjunction of the acquired incentive value of the cues with the use of that information to guide behavior (Schoenbaum and Eichenbaum, 1995; Schoenbaum *et al.*, 1999). Furthermore, cue-selective firing in OPFC is altered markedly when cues associated with reinforcers are changed (Schoenbaum *et al.*, 1999; 2000; Thorpe *et al.*, 1983). In line with these results, primates including humans with OPFC-lesions exhibit impairments after changes of stimulus-reward contingencies (Elliott *et al.*, 2000; Meunier *et al.*, 1997).

At present, however, there are only few studies investigating the role of the OPFC in rats in control of behavior. OPFC-lesioned rats are mildly impaired at acquiring new reinforcement contingencies in a continuous delayed-nonmatching-to-sample task (Otto and Eichenbaum, 1992), but not in a go, no-go discrimination task (Schoenbaum *et al.*, 2002). Furthermore, OPFC-lesions in rats did not impair

reversal learning in a Y-maze spatial alternation task (Eichenbaum *et al.*, 1983) and a cheeseboard task (Corwin *et al.*, 1994), but partially in olfactory discrimination tasks (Ferry *et al.*, 2000; Schoenbaum *et al.*, 2002). Besides, OPFC-lesions in rats were found to impair conditioned responding after reinforcer devaluation (Gallagher *et al.*, 1999) and performance in a T-maze task under extinction conditions (De Bruin, 1994). Overall, the available data indicate that behavioral deficits after inactivation of the rat OPFC are subtle, strongly task-dependent and in part inconsistent across different studies.

The present study sought to determine behavioral effects of OPFC-lesions in more detail using a visuospatial discrimination task sensitive to subtle impairments in conditioned responses to visuospatial stimuli predictive of different reward magnitudes. The task required a response to the illuminated of the two levers available to obtain reward. Different reward magnitudes were permanently assigned to lever presses to respective sides of the operant chamber, e.g. responses to one lever (for example the left one) were always rewarded with one, responses to the other lever with five pellets. On each trial, the position of the illuminated lever was pseudo-randomly determined in advance. The purpose of this study was (i) to analyze whether OPFC-lesioned rats are able to acquire lever position- reward magnitude associations, and, (ii) whether OPFC-lesioned rats are able to adapt

instrumental behavior to serial changes of lever position- reward magnitude contingencies. Preliminary findings of this work have previously been presented in abstract form (Bohn *et al.*, 2001).

RESULTS

Histological results

Infusion of NMDA resulted in extensive neuronal loss and gliosis in lateral orbital and agranular insular regions. On average, lesions encompassed 80 % of OPFC bilaterally, ranging from 60 to 100 %. Lesion zones were defined by complete cell loss. Only rats were included in the OPFC-lesion group with lesions encompassing at least 60 % of lateral orbital and agranular insular regions. Three rats with OPFC-lesions did not reach this criterion and were excluded from the OPFC-lesion group. The largest lesions included moderate damage to claustrum and ventrolateral orbital, frontal and parietal cortex. No relationship between any behavioral measure and the extent of the encroachment of the lesions on adjacent structures was observed. Therefore, no animal was excluded from analysis because of large lesions including moderate damage to other areas. The approximate extent and placement of OPFC-lesions of all included rats are presented in Fig. 2. No mechanical damage in the OPFC due to the four injections per hemisphere was detected in sham-lesioned rats. Final sample sizes of treatment groups were $n = 9$ (OPFC-lesioned group), $n = 12$ (sham-lesioned group) and $n = 12$ (un-operated group).

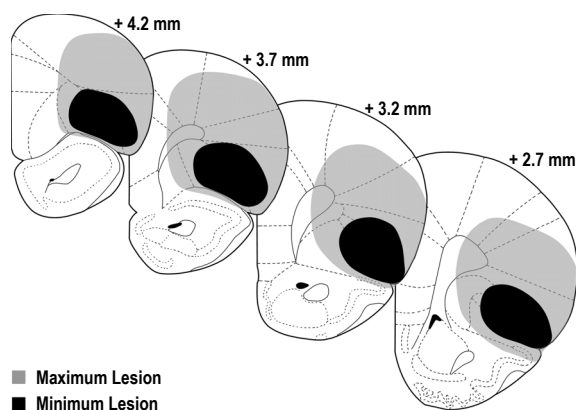


Fig. 2. Schematics showing the area of orbital prefrontal cortex damage. The approximate extent and placement of the orbital prefrontal cortex- lesions for all rats used for data analysis are shown. The black and shaded regions, respectively, represent the minimum and maximum extent of cell loss across rats. Plates are adaptations from the atlas of Paxinos and Watson (1986). Numbers beside each plate correspond to millimeters anterior to bregma.

Performance in acquisition sessions

During acquisition, rats were trained in the standard test procedure of the visuospatial discrimination task

demanding responses to the illuminated of two levers available to obtain reward. Different reward magnitudes were permanently assigned to lever presses to respective sides of the operant chamber, i.e. responses to one lever (e.g. the left one) were rewarded with one, responses to the other lever with five pellets.

Accuracy of performance. The rate of correct responses to the lever associated with high reward magnitude increased mainly due to the decrease of false responses, i.e. responses to the unlit lever, and reached 96.8 ± 1.0 % (OPFC-lesioned group), 97.1 ± 0.9 % (sham-lesioned group), and 97.7 ± 0.7 % (un-operated group) in the last acquisition session (Fig. 3a). The rate of correct responses to the lever associated with low reward magnitude did not increase and reached 54.9 ± 5.3 % (OPFC-lesioned group), 57.1 ± 5.7 % (sham-lesioned group), and 52.7 ± 6.3 % (un-operated group) in the last acquisition session (Fig. 3b) as the rate of false responses remained constant when the lever associated with low reward was illuminated. A three-way ANOVA on correct response rates with treatment groups and reward magnitudes as between factors and sessions as the within (repeated measures) factor indicated no significant differences between treatment groups, but significant differences between reward magnitudes ($F_{(1,60)} = 207.31$; $p = 0.0000$), sessions ($F_{(5,300)} = 22.59$; $p = 0.0000$) and a significant reward magnitude \times session interaction ($F_{(5,300)} = 31.51$; $p = 0.0000$). In addition, three-way ANOVAs on false, slow and omitted response rates revealed no significant differences between OPFC-lesioned and control groups.

LPD performance. As depicted in Fig. 4, lever press durations (LPD) of responses associated with high reward magnitude became significantly shorter than LPD of responses associated with low reward magnitude resulting in a significantly positive mean LPD difference (\pm SEM) of 241 ± 36 ms (OPFC-lesioned group), 182 ± 34 ms (sham-lesioned group), and 191 ± 54 ms (un-operated group) in the last acquisition session (main effect of reward magnitude: $F_{(1,60)} = 16.40$; $p = 0.0001$; main effect of sessions: $F_{(5,300)} = 16.13$; $p = 0.0000$; reward magnitude \times session interaction effect: $F_{(5,300)} = 12.80$; $p = 0.0000$). OPFC-lesioned rats did not differ significantly from sham-lesioned or un-operated rats.

Performance in reversal sessions

During reversal, lever position- reward magnitude contingencies valid during acquisition were reversed.

Accuracy of performance. In the first reversal session, correct response rates to both levers were similar. During the following 5 sessions, the correct response rate to the lever associated with high

reward magnitude increased (Fig. 3b) and, in turn, the false response rate decreased. The correct response rate to the lever associated with low reward magnitude decreased (Fig. 3a) and the false response rate increased in turn. A three-way ANOVA on correct response rates revealed significant differences between reward magnitudes ($F_{(1,60)} = 80.59$; $p = 0.0000$) and a significant reward magnitude \times session interaction ($F_{(5,300)} = 16.80$; $p = 0.0000$), but no significant differences between OPFC-lesioned, sham-lesioned and un-operated rats. Furthermore, three-way ANOVAs on false, slow and omitted response rates revealed no significant differences between OPFC-lesioned, sham-lesioned and un-operated rats either. In general, the accuracy of task performance of all treatment groups did not reach the same level as for the initial acquisition phase.

LPD performance. In the first reversal session, LPD of responses were shorter to the lever associated with low reward magnitude (low reward magnitude:

OPFC-lesioned group: 353 ± 47 ms, sham-lesioned group: 308 ± 25 ms and un-operated group: 271 ± 19 ms; high reward magnitude: OPFC-lesioned group: 277 ± 43 ms, sham-lesioned group: 264 ± 32 ms and un-operated group: 237 ± 42 ms). During the following 5 sessions, LPD of responses associated with low reward magnitude became significantly longer than LPD of responses associated with high reward magnitude resulting in a significantly positive mean LPD difference (\pm SEM) of 130 ± 36 ms (OPFC-lesioned group), 162 ± 58 ms (sham-lesioned group), and 81 ± 23 ms (un-operated group) in the last reversal session (main effect of reward magnitude: $F_{(1,60)} = 9.71$; $p = 0.0028$; main effect of sessions: $F_{(5,300)} = 2.90$; $p = 0.0141$; reward magnitude \times session interaction effect: $F_{(5,300)} = 21.40$; $p = 0.0000$). OPFC-lesioned rats did not differ significantly from sham-lesioned or un-operated rats (Fig. 4).

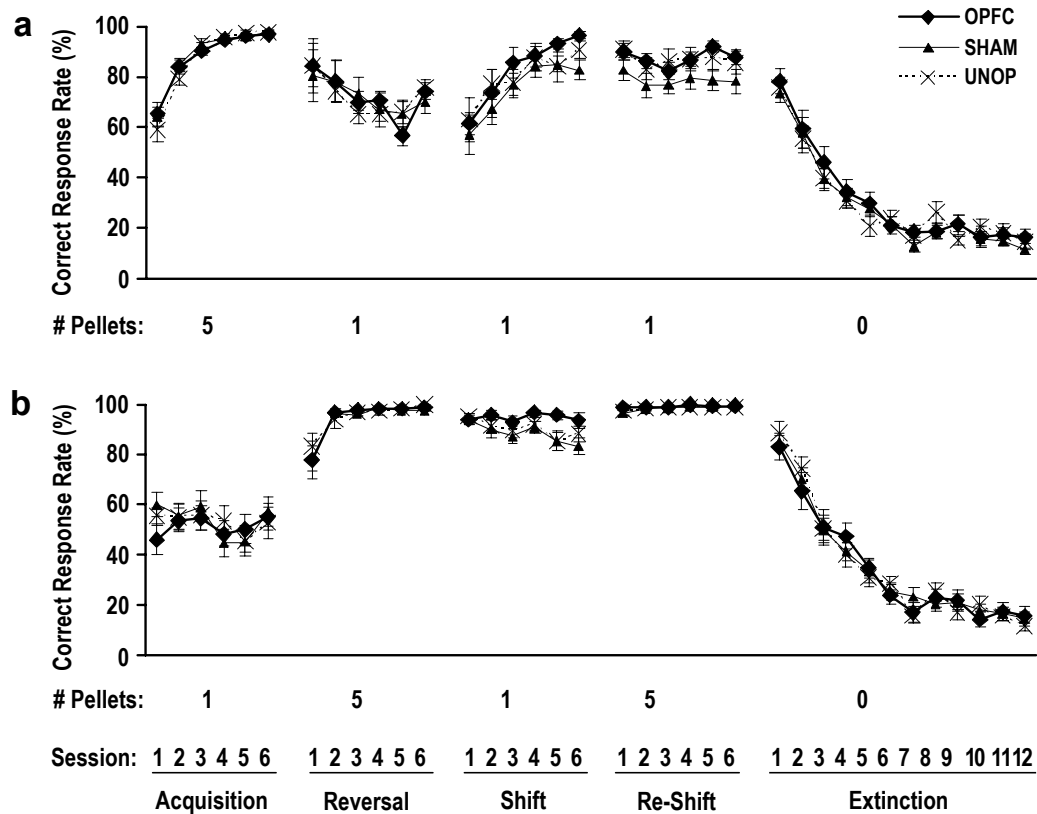


Fig. 3. Correct response rates. (a) depicts the correct response rate for lever 1, (b) for lever 2. The number of pellets obtained after responding to lever 1 and 2 during acquisition, reversal, shift, re-shift and extinction sessions are depicted below. There were no significant differences between the three treatment groups (ANOVAs followed by the LSD *post hoc* test; $p < 0.05$). OPFC: orbital prefrontal cortex-lesion group; SHAM: sham-lesion group; UNOP: un-operated group.

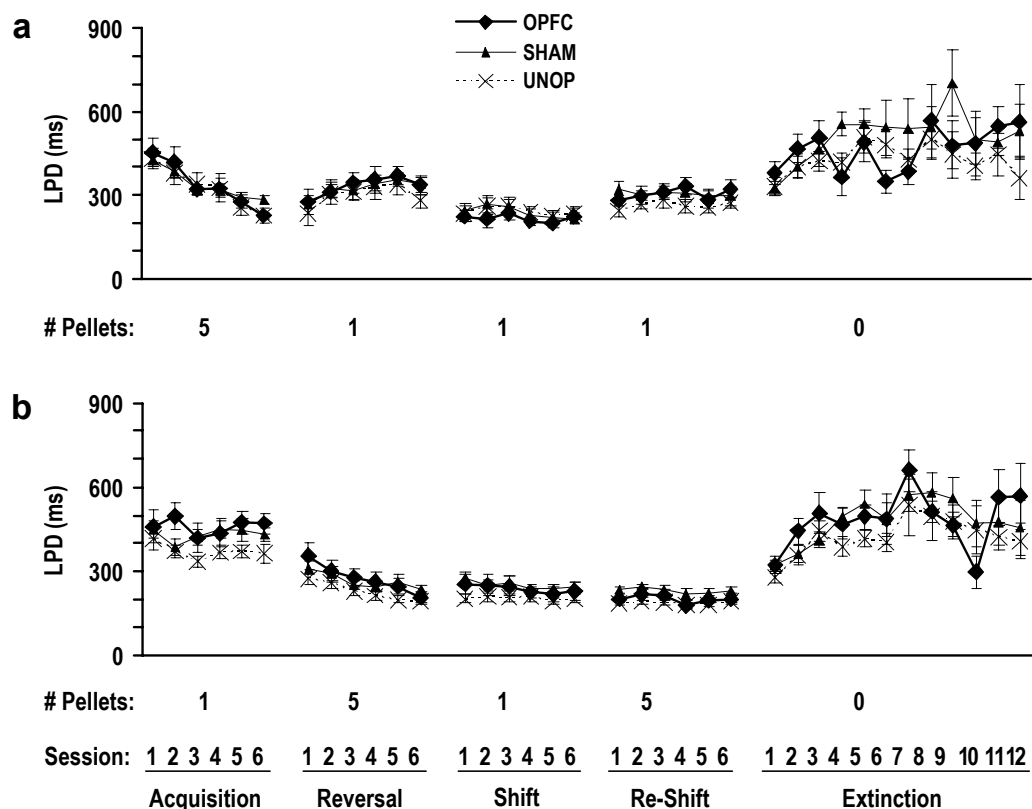


Fig. 4. Lever press durations (LPD) for correct trials. (a) shows LPD for lever 1, (b) for lever 2. The number of pellets obtained after responding to lever 1 and 2 during acquisition, reversal, shift, re-shift and extinction sessions are depicted below each diagram. There were no significant differences between the three treatment groups (ANOVAs followed by the LSD *post hoc* test; $p < 0.05$). OPFC: orbital prefrontal cortex-lesion group; SHAM: sham-lesion group; UNOP: un-operated group.

Performance in shift sessions

In “shift” sessions, lever position-reward magnitude contingencies valid during reversal were changed. Presses on the lever associated high reward during reversal were associated with low reward (termed here as “shift”), i.e. after a correct response the rat received 1 instead of 5 food pellets under preceding reversal conditions. Thus, both levers were associated with low reward magnitude.

Accuracy of performance. The correct response rate to the shifted lever (rewarded with 1 instead of 5 pellets under preceding reversal conditions) decreased slightly (Fig. 3b) and the false response rate increased slightly, while the correct response rate to the other lever (rewarded with 1 pellet as under preceding reversal conditions) increased markedly (Fig. 3a) and the false response rate decreased. A three-way ANOVA on correct response rates revealed significant differences between reward magnitudes ($F_{(1,60)} = 16.82$; $p = 0.0001$), sessions ($F_{(5,300)} = 15.10$; $p = 0.0000$) and a significant reward magnitude \times session interaction ($F_{(5,300)} = 28.35$; $p = 0.0000$), but no significant differences between OPFC-lesioned, sham-lesioned and un-operated rats. Three-way ANOVAs on false, slow and omitted response rates

revealed no significant differences between OPFC-lesioned, sham-lesioned and un-operated rats either.

LPD performance. LPD of responses to both levers did not differ significantly (main effect of sessions: $F_{(5,300)} = 4.53$; $p = 0.0005$). OPFC-lesioned rats did not differ significantly from sham-lesioned or un-operated rats (Fig. 4).

Performance in re-shift sessions

In “re-shift” sessions, lever position-reward magnitude contingencies valid during shift were changed. Presses on the lever associated with a down-shift from high to low reward magnitude during “shift” were associated with high reward again (termed here as “re-shift”), i.e. the test procedure was the same as during reversal with one lever associated with low reward magnitude and the other with high reward magnitude.

Accuracy of performance. The rate of correct responses to the re-shifted lever (rewarded with 5 pellets instead of 1 pellet under preceding shift conditions) reached nearly 100 % (Fig. 3b), whereas the rate of correct responses to the other lever (rewarded with 1 pellet as under preceding shift conditions) became lower and reached nearly 85 % (Fig. 3a) (main effect of reward magnitude: $F_{(1,60)} = 42.66$; $p = 0.0000$; main effect of sessions:

$F_{(5,300)} = 3.08$; $p = 0.0099$; reward magnitude \times session interaction effect: $F_{(5,300)} = 4.93$; $p = 0.0002$). Moreover, three-way ANOVAs on correct, false, slow and omitted response rates revealed no significant differences between OPFC-lesioned, sham-lesioned and un-operated rats.

LPD performance. LPD of responses to the re-shifted lever were significantly shorter than those to the other lever resulting in a significantly positive mean LPD difference (\pm SEM) of 122 ± 35 ms (OPFC-lesioned group), 108 ± 40 ms (sham-lesioned group), and 68 ± 16 ms (un-operated group) in the last re-shift session (main effect of reward magnitude: $F_{(1,60)} = 33.84$; $p = 0.0000$). OPFC-lesioned rats did not differ significantly from sham-lesioned or un-operated rats (Fig. 4).

Performance in extinction sessions

During extinction, lever position- reward magnitude contingencies valid during re-shift were changed, i.e. both levers predicted non-reward. Each rat was tested for 15 min per day as the criterion of 60 correct responses per session were not reached any more under extinction conditions.

Accuracy of performance. Three-way ANOVAs on correct, false, slow and omitted response rates and on the total number of trials per session revealed no significant differences between OPFC-lesioned, sham-lesioned and un-operated rats. Correct response rates (main effect of reward magnitude: $F_{(1,60)} = 5.73$; $p = 0.0199$; main effect of sessions: $F_{(11,660)} = 267.35$; $p = 0.0000$; reward magnitude \times session interaction effect: $F_{(11,660)} = 3.26$; $p = 0.0002$) (Fig. 3) and false response rates (main effect of reward magnitude: $F_{(1,60)} = 9.58$; $p = 0.0029$; main effect of sessions: $F_{(11,660)} = 9.27$; $p = 0.0000$; reward magnitude \times session interaction effect: $F_{(11,660)} = 5.44$; $p = 0.0000$) to both levers became significantly lower. The decrease of correct and false response rates was due to the marked increase in omitted response rates to both levers (main effect of sessions: $F_{(11,660)} = 305.64$; $p = 0.0000$). The mean omitted response rate (\pm SEM) was 5.5 ± 2.2 % (OPFC-lesioned group), 2.2 ± 0.8 % (sham-lesioned group), and 2.3 ± 0.7 % (un-operated group) in the first extinction session, and 75.6 ± 4.0 % (OPFC-lesioned group), 76.3 ± 3.0 % (sham-lesioned group), and 79.6 ± 2.0 % (un-operated group) in the last extinction session. The total number of trials per session decreased during extinction (main effect of sessions: $F_{(11,330)} = 77.40$; $p = 0.0000$). The total number of trials (\pm SEM) was 74 ± 3 (OPFC-lesioned group), 76 ± 2 (sham-lesioned group), and 76 ± 5 (un-operated group) in the first extinction session, and 46 ± 1 (OPFC-lesioned group), 47 ± 1 (sham-lesioned group), and 46 ± 1 (un-operated group) in the last extinction session.

LPD performance. LPD of responses to both levers became longer and did not differ significantly (main

effect of sessions: $F_{(11,660)} = 5.48$; $p < 0.001$). OPFC-lesioned rats did not differ significantly from sham-lesioned or un-operated rats (Fig. 4).

DISCUSSION

The present study demonstrates that lesions of the OPFC did not impair discriminative guidance of instrumental responses by visuospatial stimuli predictive of different reward magnitudes. During reversal, shift and re-shift of lever position- reward magnitude contingencies and under extinction conditions, performance of OPFC-lesioned and control rats did not differ. Thus, the OPFC in the rat might not be involved in adapting behavioral responses to changes of stimulus- reward magnitude contingencies signaled by visuospatial cues.

NMDA- lesions of the OPFC

Lesions were generally large and, on average, encompassed about 80 % of the OPFC bilaterally. The extent and placement of lesions are comparable to NMDA-lesions of OPFC reported by Gallagher *et al.* (1999) and Schoenbaum *et al.* (2002) using the same concentration of NMDA and comparable injection placements. As rats received 4 injections of vehicle or NMDA per hemisphere during stereotaxic surgery, it might be that this multiple injection procedure caused mechanical damage in sham-lesioned animals producing behavioral deficits on its own. Therefore, we included an un-operated group of animals as an additional control group. Results demonstrate that both control groups, i.e. sham-lesioned and un-operated rats, did not differ in any variable measured. In addition, inspection of cresyl violet stained slices from sham-lesioned rats depicted no signs of mechanical damage in OPFC. Thus, behavioral impairments due to multiple injections per hemisphere could be ruled out.

Discrimination task

The visuospatial discrimination task used here demands fast responses to the illuminated of two levers available. All parameters analyzed, namely response latency, lever press duration (LPD) and food approach latency, were found to be guided by the anticipated reward magnitude, i.e. latencies were shorter if high reward was anticipated. In addition, comparable alterations of these parameters were observed in all treatment groups after serial changes of stimulus-reward magnitude contingencies throughout the experiment groups. These findings suggest that these parameters are at least partially redundant. However, response latencies and food approach latencies show higher variability, probably because they are influenced by inevitable inconsistencies of body positions in relation to the lever or food receptacle (see also Robbins *et al.*, 1993). Therefore, we presented only LPD data as this parameter is less influenced by postural factors. After acquisition, LPD of responses associated with

low reward magnitude were significantly longer than those associated with high reward magnitude. Apparently, predictive information provided by the position of the illuminated lever produced a reward magnitude expectancy accounting for the LPD difference. The difference between LPD of responses associated with low and high reward magnitudes was about +200 ms which is 3 - 4 fold higher than those determined in a nine-hole box task (Brown and Bowman, 1995) or lever release task (Hauber *et al.*, 2000; 2001). Furthermore, with the task used here subtle drug-induced changes of performance were detectable, e.g. amphetamine-induced changes of accuracy and LPD performance (Bohn, unpublished observations). Thus, the present task might be sensitive to analyze effects of OPFC-lesions on guidance of instrumental behavior by expectancy of different reward magnitudes.

Effects of OPFC-lesion on performance during acquisition

OPFC-lesioned and control rats displayed similar increases in their correct response rates indicating that OPFC-lesioned rats had no sensorimotor impairment interfering with task acquisition. After acquisition, the rate of correct responses to the lever associated with high reward magnitude reached nearly 100 % in all treatment groups, while the rate of correct responses to the other lever was approximately 50 %. In turn, the rate of false responses was nearly 0 % to the lever associated with high reward magnitude, but about 50 % to the lever associated with low reward magnitude. Thus, rats of all treatment groups developed a response bias to the lever associated with high reward.

LPD performance of OPFC-lesioned rats was comparable to control rats indicating that the rat OPFC seems not to be involved in learning reward magnitude associations between visuospatial cues and reward magnitudes. It is likely that responding of OPFC-lesioned and control rats involves stimulus-reward associations, and not response-reward associations, as responses latencies to the lit lever were a function of the anticipated reward magnitude as indicated by the visuospatial stimulus. The failure to detect effects of OPFC-lesions on acquisition corroborates and extends previous findings showing that OPFC-inactivated rats are able to acquire a two-lever task (De Bruin *et al.*, 2000). Likewise, OPFC-lesions in rats do not impair learning egocentric and allocentric spatial tasks (Corwin *et al.*, 1994), a spatial location task (Ragozzino and Kesner, 1999), and a go, no-go discrimination task (Schoenbaum *et al.*, 2002). Overall, these data suggest that OPFC-lesions do not impair the rats' ability to acquire spatial discrimination tasks.

Effects of OPFC-lesion on performance after serial changes of lever position- reward magnitude contingencies

During reversal, shift and re-shift of contingencies between visuospatial stimuli and associated reward magnitudes, OPFC-lesioned and control rats displayed similar changes in their correct response rates. Likewise, during extinction, rates of correct responses to both levers as well as the number of trials per session decreased and rates of omitted responses to both levers increased in OPFC-lesioned and control rats to the same extent. Furthermore, after changes of contingencies between visuospatial stimuli and reward magnitudes, LPD of OPFC-lesioned and control rats showed corresponding changes. Together, data indicate that instrumental behavior of all treatment groups during reversal, shift, re-shift was strongly directed to the respective outcome and not habitual: LPD became faster to the lever associated with high reward magnitude during reversal, became indifferent if both levers were associated with the same reward magnitude during shift, and became faster again to the lever associated with high reward magnitude during re-shift. Interestingly, after re-shift, LPD for responses associated with 1 pellet became longer indicating that the reinstatement of different stimulus-reward magnitudes contingencies reduces LPD of responses associated with one pellet. As already observed during acquisition, responding of OPFC-lesioned and control rats during shift, re-shift and extinction is likely to involve stimulus-reward associations, and not response-reward associations, as response latencies to the lit lever were a function of the anticipated reward magnitude. Thus, the present data provide strong evidence that the OPFC in rats is not involved in adapting instrumental responding to changes of contingencies between visuospatial stimuli and reward magnitudes.

This finding seems to be at variance with previous studies showing that OPFC-lesions impair the adaptation of behavior to changes of stimulus-reinforcement contingencies (Elliott *et al.*, 2000; Ferry *et al.*, 2000; Gallagher *et al.*, 1999; Rolls *et al.*, 1994; Rolls, 1996; Schoenbaum *et al.*, 2002). However, as discussed by Eichenbaum *et al.* (1983), and Ragozzino and Kesner (1999), it is likely that task differences might account for these deviating results as some tasks are spatial whereas other ones are non-spatial. For instance, lesions of medial prefrontal cortex cause performance deficits in spatial discrimination tasks (e.g. Eichenbaum *et al.*, 1983; Kolb *et al.*, 1974; Ragozzino and Kesner, 1999), while lesions of OPFC do not impair learning of spatial reversals in a Grice box (Kolb *et al.*, 1974), a cheeseboard (Corwin *et al.*, 1994), and a Y-maze (Eichenbaum *et al.*, 1983) task. On the other hand, there is consistent evidence that OPFC-lesions impair performance in non-spatial tasks (Elliott *et al.*, 2000; Ferry *et al.*, 2000; Gallagher *et al.*, 1999; Rolls *et al.*, 1994; Rolls, 1996; Schoenbaum *et al.*,

2002). Furthermore, we found changes in reversal learning in rats with OPFC-lesions in a non-spatial version of the task used here (Bohn *et al.*, submitted). Taken together, the failure to detect behavioral effects of OPFC-lesions might be related to the fact that the task used here is visuospatial in nature with a visual stimulus signaling the rewarded one of two levers and the position of the lever signaling the upcoming reward magnitude. In general, the OPFC is thought to be critically involved in guiding instrumental behavior based on the anticipated incentive value of the discriminative stimulus (see Schoenbaum *et al.*, 2002 for review). However, the present study demonstrate that OPFC-lesioned rats are able to adapt instrumental behavior to serial changes in stimulus- reward magnitude contingencies with visuospatial stimuli predicting the reward magnitude. Thus, it seems to depend on the nature of the stimulus in terms of spatial vs. non-spatial whether OPFC-lesions do or do not impair the ability of rats to adjust their instrumental behavior appropriately.

The extinction data presented here further indicate that instrumental behavior of control and OPFC-lesioned rats was guided by the outcome, as the accuracy of task performance decreased and LPD of responses became significantly slower. In non-spatial tasks, however, OPFC-inactivation lead to a diminished response inhibition during extinction (De Bruin *et al.*, 2000; Kolb *et al.*, 1974). The failure to detect response disinhibition during extinction in the task used here might be related to the fact that guidance of instrumental behavior in visuospatial tasks does not rely on an intact OPFC.

OPFC and a visuospatial discrimination task

The OPFC is thought to be part of a circuitry through which information on the incentive value of stimuli mediates the selection and execution of reward-directed behavioral responses. In rats, the OPFC has been shown to be critically involved in adapting behavior to changing relationships between cues and outcomes (see Schoenbaum *et al.*, 2002 for review). To the best of our knowledge, the present data using a visuospatial discrimination task demonstrates for the first time that rats with OPFC-lesions showed behavioral flexibility to serial changes of stimulus-outcome contingencies, i.e. during reversal, shift, re-shift as well as during extinction. In all tests, discriminative guidance of the speed of instrumental behavior by visuospatial stimuli predictive of different reward magnitudes was unimpaired in OPFC-lesioned rats. Thus, the OPFC in rats might not be critical for adapting instrumental responses to changes of stimulus-reward magnitude contingencies signaled by visuospatial cues.

MATERIAL AND METHODS

Experiments were performed according to the current German Law on Animal Protection and were approved by the proper authorities in Stuttgart, Germany.

Subjects

Thirty-six male Sprague-Dawley rats (Charles-River, Sulzfeld, Germany) were maintained in a temperature- and humidity-controlled room on a reversed 12 h light – 12 h dark schedule (lights on 19.00 – 07.00 h) with testing in the dark phase. All rats were given *ad libitum* access to water. Standard laboratory maintenance chow (Altromin, Lage, Germany) was restricted to 12 g per animal and day. On days with behavioral tests, rats received in the testing apparatus 6 – 10 g food reward (45 mg pellets, Bioserv, Frenchtown, USA). On these days, the amount of standard laboratory chow was adapted in order to keep body weights constant. Rats weighed 220 – 240 g on arrival and 230 – 260 g at the time of surgery.

Surgery

For stereotaxic surgery, rats were anaesthetized with sodium pentobarbital (50 mg/kg, i.p.) (Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany) following pre-treatment with atropine sulphate (0.05 mg/kg, i.p.) (Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany) and secured in a Kopf stereotaxic apparatus (Kopf Instruments, Tujunga, USA). Standard stereotaxic methods were used for bilateral microinjections of N-methyl-D-aspartate (NMDA) (Tocris Cookson Ltd., Bristol, UK) at the following coordinates: 4.0 mm anterior to bregma, 2.2 mm lateral to midline and 4.6 mm ventral from skull surface, and 3.7 mm lateral to midline and 5.0 mm ventral from the skull surface. A second set of bilateral injections was made at 3.0 mm anterior to bregma, 3.2 and 4.2 mm lateral to midline and 5.8 mm ventral from skull surface (Paxinos and Watson, 1986). At each of the four sites per hemisphere, NMDA (20 mg/ml) (OPFC-lesion group, $n = 12$) or the Krebs'-Ringer's solution phosphate vehicle (sham-lesion group, $n = 12$) was delivered in a volume of 0.1 μ l over a 2 min interval. The injector was left *in situ* for a further 6 min to allow for diffusion. During immediate postoperative recovery, rats of the lesion-group were fed with a paste of water and pulverized standard laboratory maintenance chow. Each rat was given at least 2 weeks to recover from surgery before postoperative training was started. One group of rats (un-operated group, $n = 12$) did not undergo surgery. The lesion protocol was similar to the one described by Gallagher *et al.* (1999).

Apparatus

Six operant test chambers (24 x 21 x 30 cm) (Med Associates, St. Albans, USA) were placed in separate sound attenuating cubicles with fans

providing a constant low level of background noise. Each chamber was supplied with two retractable levers, one on the left and the other on the right hand side of one wall with an instructive stimulus light above each lever, and, in the middle of the opposite wall of the chamber, a food dispenser with

receptacle and an infrared photocell beam inside the receptacle. Experiments were controlled online (SmartControl®-Interfaces; Med Associates, St. Albans, USA) by a computer system (MedPC-Software; Med Associates, St. Albans, USA).

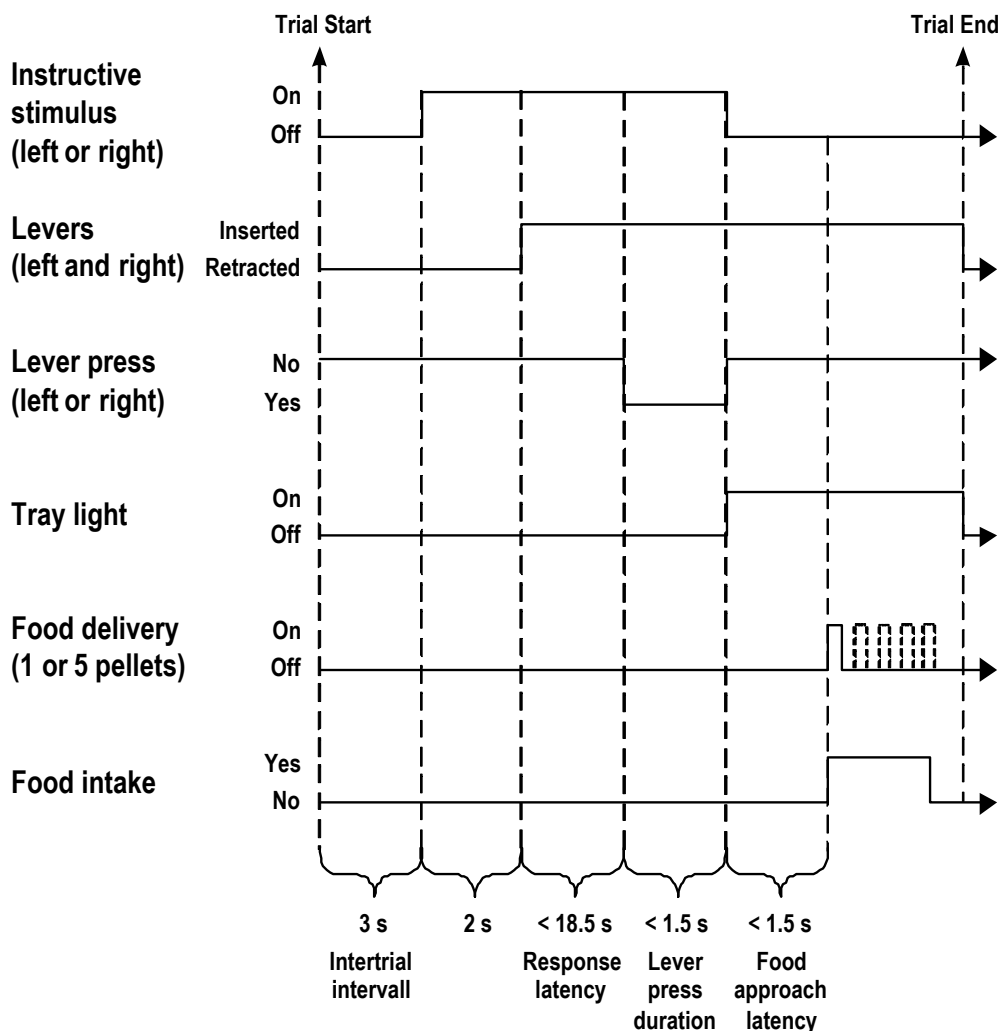


Fig. 1. Schematic representation of the order of trial events. The task demands responding to the illuminated of two levers (left or right) to obtain reward. In the standard test procedure, one lever was associated with a high reward magnitude (5 pellets, delivered at 0.2 s-intervals), and the other lever with a low reward magnitude (1 pellet). On each trial, the position of the illuminated lever was randomly determined in advance. Accordingly, the instructive stimulus light was turned on at the beginning of each trial 2 s before lever insertion and remained present until reward delivery. The rat had to respond to the illuminated lever within 18.5 s with lever press durations shorter than 1.5 s, and to approach the food receptacle within 1.5 s to obtain reward. Responses on the illuminated lever which did not fulfill these criteria and responses on the not illuminated lever were not rewarded.

Visuospatial discrimination task

A visuospatial discrimination task similar to that described by Robbins *et al.* (1993) was used. Rats were trained in operant boxes requiring a response to the illuminated of two levers to obtain reward. In the standard test procedure, responses to one of the levers (e.g. the left one) were permanently rewarded with 5 pellets (45 mg pellets, Bioserv, Frenchtown, USA), responses to the other lever (e.g. the right one) were permanently rewarded with 1 pellet. Rats always consumed all of the pellets immediately prior

to the beginning of the following trial. On each trial, the position of the illuminated lever was pseudo-randomly determined in advance. Accordingly, the instructive stimulus light was turned on at the beginning of each trial 2 s before lever insertion and remained present until reward delivery. To exclude side bias, for 50 % of the rats, the left lever was associated with the high reward magnitude and the right lever was associated with the low reward magnitude. For the other 50 % of the rats, the opposite pattern was used.

The following parameters were analyzed: response latency (RL) defined as latency from lever insertion until lever press, lever press duration (LPD) defined as latency from lever press until lever release, and food approach latency (FAL) defined as latency from lever release until photocell beam disruption in the food receptacle (indicating onset of food intake) were recorded with an accuracy of 10 ms. For a correct trial, rats had to press the illuminated lever within 18.5 s, to release the illuminated lever within 1.5 s, and to approach the food receptacle within 1.5 s. Responses with RL > 18.5 s were defined as “omitted” responses, responses with LPD > 1.5 s as “slow” responses, and responses on the not illuminated lever as “false” responses. Responses on the illuminated lever which did not fulfill these criteria and responses on the not illuminated lever were not rewarded. A daily individual session demanded 60 correct trials and lasted approximately 10 min. During the complete experimental period, all rats were trained in one daily session on 5 d per week. A schematic representation of the order of trial events is given in Fig. 1.

Experimental procedure

Habituation. On the first day, subjects were habituated to the operant chamber. During this period, rats had access to food pellets being placed in the food receptacle. The following days, a habituation program commenced with the levers inserted alternately. Pressing the inserted lever caused delivery of 1 pellet in the food receptacle. Rats continued this habituation program until a criterion of 20 responses on each lever was attained. Thereafter, rats were subjected to surgery.

Acquisition sessions. After 2 weeks of recovery, rats were trained for 6 sessions in the visuospatial discrimination task. Thereafter, correct response rate was at least 60 %, i.e. rats needed at maximum 100 trials to attain the 60 necessary correct responses, and LPD of responses associated with low reward magnitude were significantly longer than those associated with high reward magnitude.

Reversal sessions. After acquisition, reversal learning was tested for 6 sessions, i.e. lever position-reward magnitude contingencies were reversed in the visuospatial discrimination task. After reversal sessions, correct response rate was at least 60 %, and LPD of responses associated with low reward magnitude were significantly longer than those associated with high reward magnitude.

Shift sessions. After reversal, “shift” learning was tested for 6 sessions. The lever associated with a high reward magnitude during preceding reversal sessions was “shifted”, i.e. after a correct response the rat received 1 instead of 5 food pellets under preceding reversal conditions. Thus, both levers were associated with low reward magnitude.

Re-shift sessions. After shift, “re-shift” learning was tested for 6 sessions. The lever which had been shifted during preceding shift sessions was “re-

shifted”, i.e. after a correct response the rat received 5 instead of 1 pellet under preceding shift conditions. After re-shift sessions, correct response rate was at least 60 %, and LPD of responses associated with low reward magnitude were significantly longer than those associated with high reward magnitude.

Extinction sessions. After re-shift, extinction learning was tested for 12 sessions. Both levers predicted non-reward. Each rat was tested for 15 min per day as the number of omitted trials increased, and the number of correct trials per session decreased during extinction, and the 60 correct trials needed for a complete session were not reached any more.

Data analysis

Results revealed that rats had no side bias. They discriminated the lever positions associated with high or low reward regardless whether the left or right lever in the operant test chamber was associated with high reward. Therefore, accuracy and RT data obtained with both lever position-reward magnitude patterns were pooled for each treatment group.

Accuracy of task performance in a session was characterized by 1. the mean total number of trials (\pm standard error of the mean, SEM), 2. the per cent means of correct responses to each lever (\pm SEM), 3. the per cent means of omitted responses to each lever (\pm SEM), 4. the per cent means of false responses to each lever (\pm SEM), and 5. the per cent means of slow responses to each lever (\pm SEM). The last four parameters apply to the total number of responses to each lever. Three-way ANOVAs of each experimental period (acquisition, reversal, shift, re-shift, extinction) were conducted with treatment groups and reward magnitudes as the between-subjects factors and sessions as the within-subjects (repeated measures) factor followed by LSD *post hoc* tests.

Discriminative guidance of instrumental behavior by the different reward magnitudes were analyzed using RL, LPD and FAL data from correct responses, i.e. responses to the illuminated lever within the time limits as described above. When averaging RL, LPD and FAL data, a geometric mean was calculated for each rat for each session, because the geometric mean is less influenced by outlying data points than is the arithmetic mean. Overall means of RL, LPD and FAL data represent the arithmetic average of the geometric means of individual rats (see Brasted *et al.*, 1997).

Analysis of RL, LPD and FAL data revealed corresponding changes in all treatment groups throughout the experiment, i.e. when LPD increased RL and FAL increased in a comparable manner, when LPD remained constant RL and FAL remained constant as well and when LPD decreased RL and FAL decreased, too. Therefore, all three parameters measured in the present task seem to reflect the same

neural processing underlying behavior. Thus, presentation of one parameter provide all essential information in the most clear and succinct way whereas presentation of all three parameters would supply redundant information. LPD data was chosen for presentation as RL and FAL data are generally less sensitive than LPD data: RL and FAL data display a greater variability because of the inevitable inconsistencies in body positioning (Robbins *et al.*, 1993).

After acquisition, LPD of responses associated with low reward magnitude were significantly longer than those associated with high reward magnitude. A calculated "positive" difference between LPD of responses associated with low vs. high reward magnitude reflects intact guidance of responding by reward magnitude expectancy as indicated by instructive stimuli (Hauber *et al.*, 2000; 2001). LPD data of each experimental period (acquisition, reversal, shift, re-shift, extinction) were analyzed by three-way ANOVAs with treatment groups and reward magnitudes as the between-subjects factors and sessions as the within-subjects (repeated measures) factor followed by LSD *post hoc* tests.

Statistical computations were carried out with the STATISTICA ('99, StatSoft, Inc., Hamburg, Germany) statistical package. The level of statistical significance (α -level) was set at $p < 0.05$.

Histology

On completion of behavioral testing, rats were euthanized with Ethrane[®] (Abbott, Wiesbaden, Germany) and transcardially perfused with 350 ml 0.02 % heparin sodium salt solution (Gibco BRL, Grand Island, N.Y., USA), followed by 400 ml 4 % formalin (Schuchardt, Hohenbrunn, Germany). Brains were removed, post-fixed in 4 % formalin for 20 hr, and stored in 30 % glucose. Brain sections (30 μ m) were cut with a cryostat (Reichert and Jung, Heidelberg, Germany), mounted on coated slides and stained with cresyl violet. Sham-lesions and OPFC-lesions were analyzed with reference to the atlas of Paxinos and Watson (1986).

ACKNOWLEDGMENTS

This research was supported by the Deutsche Forschungsgemeinschaft (Ha2340/3-2) and by the Landesgraduiertenförderung Baden- Württemberg. This work is part of the Ph.D. thesis of one of the authors (I.B.).

REFERENCES

Bohn, I. Giertler, C. and Hauber, W. (submitted). Orbital Prefrontal Cortex and Guidance of Instrumental Behaviour in Rats under Reversal Conditions.
 Brasted, P. J., Humby, T., Dunnett, S. B. and Robbins, T. W. 1997. Unilateral lesions of the

dorsal striatum in rats disrupt responding in egocentric space. *J. Neurosci.* **17**: 8919-26.
 Brown, V.J. and Bowman, E.M. 1995. Discriminative cues indicating reward magnitude continue to determine reaction time of rats following lesions of the nucleus accumbens. *Eur. J. Neurosci.* **7**: 2479-85.
 Cardinal, R.N., Parkinson, J.A., Hall, J. and Everitt, B.J. 2002. Emotion and motivation: the role of the amygdala, ventral striatum, and prefrontal cortex. *Neurosci Biobehav Rev* **26**, 321-52.
 Corwin, J.V., Fussinger, M., Meyer, R.C., King, V.R. and Reep, R.L. 1994. Bilateral destruction of the ventrolateral orbital cortex produces allocentric but not egocentric spatial deficits in rats. *Behav. Brain Res.* **61**: 79-86.
 De Bruin, J.P.C. 1994. Evolution of prefrontal cortex: comparative aspects of its behavioral functions. In: *Flexibility and constraint in behavioral systems* (eds. R.J. Greenspan and C.P. Kyriacou), pp. 185-192. John Wiley and Sons Ltd.
 De Bruin, J.P., Feenstra, M.G., Broersen, L.M., Van Leeuwen, M., Arens, C., De Vries, S. and Joosten, R.N. 2000. Role of the prefrontal cortex of the rat in learning and decision making: effects of transient inactivation. *Prog. Brain Res.* **126**: 103-13.
 Eichenbaum, H., Clegg, R.A. and Feeley, A. 1983. Reexamination of functional subdivisions of the rodent prefrontal cortex. *Exp. Neurol.* **79**: 434-51.
 Elliott, R., Dolan, R.J. and Frith, C.D. 2000. Dissociable functions in the medial and lateral orbitofrontal cortex: evidence from human neuroimaging studies. *Cereb. Cortex* **10**: 308-17.
 Ferry, A.T., Lu, X.C. and Price, J.L. 2000. Effects of excitotoxic lesions in the ventral striatopallidum-thalamocortical pathway on odor reversal learning: inability to extinguish an incorrect response. *Exp. Brain Res.* **131**: 320-35.
 Gallagher, M., McMahan, R.W. and Schoenbaum, G. 1999. Orbitofrontal cortex and representation of incentive value in associative learning. *J. Neurosci.* **19**: 6610-4.
 Hauber, W., Bohn, I. and Giertler, C. 2000. NMDA, but not dopamine D(2), receptors in the rat nucleus accumbens are involved in guidance of instrumental behavior by stimuli predicting reward magnitude. *J. Neurosci.* **20**: 6282-8.
 Hauber, W., Giertler, C. and Bohn, I. 2001. NMDA and dopamine D2 receptors in the caudate-putamen are not involved in control of motor readiness in rats. *Psychopharmacology (Berl)* **155**, 43-51.
 Kolb, B., Nonneman, A.J. and Singh, R.K. 1974. Double dissociation of spatial impairments and perseveration following selective prefrontal lesions in rats. *J. Comp. Physiol. Psychol.* **87**: 772-80.

- Lipton, P.A., Alvarez, P. and Eichenbaum, H. 1999. Crossmodal associative memory representations in rodent orbitofrontal cortex. *Neuron* **22**: 349-59.
- Meunier, M., Bachevalier, J. and Mishkin, M. 1997. Effects of orbital frontal and anterior cingulate lesions on object and spatial memory in rhesus monkeys. *Neuropsychologia* **35**: 999-1015.
- Otto, T. and Eichenbaum, H. 1992. Complementary roles of the orbital prefrontal cortex and the perirhinal- entorhinal cortices in an odor-guided delayed-nonmatching-to-sample task. *Behav. Neurosci.* **106**: 762-75.
- Paxinos, G. and Watson C. 1986. *The rat brain in stereotaxic coordinates* (2nd ed.). San Diego, CA: Academic Press.
- Ragozzino, M.E. and Kesner, R.P. 1999. The role of the agranular insular cortex in working memory for food reward value and allocentric space in rats. *Behav. Brain Res.* **98**: 103-12.
- Robbins, T.W., Muir, J.L., Killcross, A.S. and Pretsell, D. 1993. Methods for assessing attention and stimulus control in the rat. In: *Behavioural Neuroscience, A Practical Approach Vol. 1* (ed. A. Sahgal). Oxford University Press.
- Rogers, R.D., Owen, A.M., Middleton, H.C., Williams, E.J., Pickard, J.D., Sahakian, B.J. and Robbins, T.W. 1999. Choosing between small, likely rewards and large, unlikely rewards activates inferior and orbital prefrontal cortex. *J. Neurosci.* **19**: 9029-38.
- Rolls, E.T., Hornak, J., Wade, D. and McGrath, J. 1994. Emotion-related learning in patients with social and emotional changes associated with frontal lobe damage. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* **57**, 1518-24.
- Rolls, E.T. 1996. The orbitofrontal cortex. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* **351**, 1433-44.
- Schoenbaum, G., Chiba, A.A. and Gallagher, M. 1999. Neural encoding in orbitofrontal cortex and basolateral amygdala during olfactory discrimination learning. *J. Neurosci.* **19**: 1876-84.
- Schoenbaum, G., Chiba, A.A. and Gallagher, M. 2000. Changes in Functional Connectivity in Orbitofrontal Cortex and Basolateral Amygdala during Learning and Reversal Training. *J. Neurosci.* **20**: 5179-5189.
- Schoenbaum, G. and Eichenbaum, H. 1995. Information coding in the rodent prefrontal cortex. II. Ensemble activity in orbitofrontal cortex. *J. Neurophysiol.* **74**: 751-62.
- Schoenbaum, G., Nugent, S.L., Saddoris, M.P. and Setlow, B. 2002. Orbitofrontal lesions in rats impair reversal but not acquisition of go, no-go odor discriminations. *Neuroreport* **13**: 885-90.
- Schoenbaum, G. and Setlow, B. 2001. Integrating orbitofrontal cortex into prefrontal theory: common processing themes across species and subdivisions. *Learn Mem* **8**, 134-47.
- Schroeder, B.E., Binzack, J.M. and Kelley, A.E. 2001. A common profile of prefrontal cortical activation following exposure to nicotine- or chocolate-associated contextual cues. *Neuroscience* **105**: 535-45.
- Thorpe, S.J., Rolls, E.T. and Maddison, S. 1983. The orbitofrontal cortex: neuronal activity in the behaving monkey. *Exp. Brain Res.* **49**: 93-115.
- Yonemori, M., Nishijo, H., Uwano, T., Tamura, R., Furuta, I., Kawasaki, M., Takashima, Y. and Ono, T. 2000. Orbital cortex neuronal responses during an odor-based conditioned associative task in rats. *Neuroscience* **95**: 691-703.

NMDA Receptors in the Rat Orbital Prefrontal Cortex are Involved in Guidance of Instrumental Behavior under Reversal Conditions

Ines Bohn, Christian Gierler and Wolfgang Hauber

Abteilung Tierphysiologie, Biologisches Institut,
Universität Stuttgart, Stuttgart, Germany, D-70550

The orbital prefrontal cortex (OPFC) might be particularly involved in adapting instrumental responses to changes of stimulus-reward contingencies. We investigated whether signals in the OPFC transmitted via N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptors are critical for learning a reversal of stimulus-reward contingencies. Rats were trained in a reaction time (RT) task demanding conditioned lever release with discriminative stimuli signaling in advance the upcoming reward magnitude (5 or 1 pellet). After acquisition, RT of responses with expectancy of high reward magnitude were significantly shorter indicating that instrumental responding was guided by the stimulus associated reward magnitudes. Thereafter, stimulus-reward contingencies were reversed and rats received intra-OPFC infusions of saline or of the NMDA receptor antagonist AP5. Reversal learning was tested for six days, microinfusions were given on Days 1, 3 and 5. Intra-OPFC blockade of NMDA receptors impaired learning a reversal of previously acquired stimulus-reward magnitude contingencies: (i) latencies of correct responses were generally shortened regardless of the response-associated reward magnitude, (ii) the proportion of premature responses was increased, (iii) responses were not guided by the current, but predominantly by the prior significance of the reward predicting stimuli. These findings provide novel evidence for NMDA receptor-dependent plasticity in the OPFC in reversal learning.

The orbital prefrontal cortex (OPFC) has been suggested to be part of a circuitry through which information on the incentive value of stimuli influences the selection and execution of reward-directed behavioral responses (Rolls, 1999; Schoenbaum and Setlow, 2001; Cardinal *et al.*, 2002). This view is based on findings in rats and primates that the acquired motivational value of stimuli is encoded in OPFC (Lipton *et al.*, 1999; Rogers *et al.*, 1999; Yonemori *et al.*, 2000; Schroeder *et al.*, 2001). Electrophysiological data further indicate that neuronal activity in the OPFC reflects the conjunction of the acquired incentive value of stimuli with the use of that information to guide behavior (Schoenbaum and Eichenbaum, 1995; Schoenbaum *et al.*, 1999). Furthermore, cue-selective firing in OPFC was altered markedly when stimulus-reinforcement contingencies were reversed (Thorpe *et al.*, 1983; Kubota and Komatsu, 1985;

Rolls *et al.*, 1996; Schoenbaum *et al.*, 1999; 2000). Behavioral studies in rats are consistent with these findings as OPFC lesions impaired reversal learning in go, no-go olfactory discrimination tasks (Ferry *et al.*, 2000; Schoenbaum *et al.*, 2002) and a reaction time (RT) task (Bohn *et al.*, submitted). In line with these results, primates including humans with OPFC lesions exhibit impairments in a number of tasks after changes of stimulus-reward contingencies (Rolls *et al.*, 1994; Dias *et al.*, 1996; Meunier *et al.*, 1997; Bechara *et al.*, 2000; Elliott *et al.*, 2000). These data clearly suggest an involvement of the OPFC in learning of reversed stimulus-reward contingencies, however, no information is yet available on underlying neurochemical processes. NMDA receptor dependent mechanisms in the OPFC might be one possible neuronal substrate involved in reversal learning. The OPFC receives glutamatergic input from numerous regions involved in processing of the motivational significance of stimuli such as the basolateral amygdala (Reep *et al.*, 1996; Kalivas and Nakamura, 1999; Groenewegen and Uylings, 2000). In addition, NMDA receptor clustering in the rat OPFC was revealed by in vitro calcium macroimaging (Takita *et al.*, 1997). Furthermore, NMDA receptor dependent plasticity within a distributed corticostriatal network comprising e.g. the medial prefrontal cortex and the amygdala plays a major role in appetitive instrumental learning (Baldwin *et al.*, 2000; 2002). Therefore, we investigated in the present study whether signals in the OPFC transmitted via the NMDA subtype of glutamate receptors are critical for learning a reversal of previously acquired stimulus-reward magnitude contingencies. To this end, rats were trained in a reaction time (RT) task demanding conditioned lever release with instructive stimuli signalling in advance the upcoming reward magnitude (5 or 1 pellet) (Hauber *et al.*, 2000; 2001; Bohn *et al.*, submitted). After acquisition, RTs of responses with expectancy of high reward magnitude were significantly shorter indicating that instrumental responding was guided by the stimulus associated reward magnitudes. Thereafter, stimulus-reward contingencies were reversed and rats received intra-OPFC infusion of saline or of the competitive NMDA receptor antagonist DL-2-amino-5-phosphonopentanoic acid (AP5).

Material and Methods

Experiments were performed according to the German Law on Animal Protection and approved by the proper authorities in Stuttgart, Germany.

Subjects

Forty-four male Sprague-Dawley rats (Charles-River, Sulzfeld, Germany) were maintained in a temperature- and humidity-controlled room on a 12 h light : 12 h dark schedule (lights on 20.00 – 08.00 h) with testing in the dark phase. All rats were given ad libitum access to water. Standard laboratory maintenance chow (Altromin, Lage, Germany) was restricted to 12 g per animal and day. On days with behavioral tests, rats received 6–7 g food reward (45 mg pellets, Bioserv, Frenchtown, USA) in the testing apparatus. On these days, the amount of standard laboratory chow was adapted in order to keep body weights constant. Rats weighed 230–260 g on arrival and 240–270 g at the time of surgery.

Surgery

For stereotaxic surgery, rats were anaesthetized with sodium pentobarbital (50 mg/kg, *i.p.*) (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen, Germany) following pretreatment with atropine sulphate (0.05 mg/kg, *i.p.*) (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen, Germany) and secured in a Kopf stereotaxic apparatus (Kopf Instruments, Tujunga, USA). Bilateral 14-mm stainless steel guide cannulae with an outer diameter of 0.8 mm were aimed at the OPFC and implanted using standard stereotaxic methods. Coordinates for the cannulae placement were as follows: 3.5 mm anterior bregma, 2.6 mm lateral to midline, and 3.4 mm ventral from skull surface (Paxinos and Watson, 1986). Stainless steel stylets (14 mm long) prevented occlusion of the guide cannulae. Each rat was given at least 3 d to recover from surgery before the postoperative habituation session was started.

Drug microinfusion

On injection days, stainless steel stylets were removed and bilateral injection cannulae with an outer diameter of 0.45 mm and protruding 2 mm beyond guide cannulae were lowered at the final site of infusion and attached via polyethylene tubing to microliter syringes controlled by a syringe pump (Med Associates, St. Albans, USA). The competitive N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor antagonist DL-2-amino-5-phosphonovaleric acid (AP5) (Research Biochemicals International, Koeln, Germany) (7 µg in 0.7 µl saline) ($n = 22$), and 0.7 µl saline as vehicle ($n = 22$) were delivered bilaterally over a 70 s-interval. Injection cannulae were left in position for a further 1 min after infusion to allow for diffusion. Each rat remained in its home cage for an additional 6 min before being placed in the test chamber.

Apparatus

Six operant test chambers (24 x 21 x 30 cm) (Med Associates, St. Albans, USA) were placed in separate sound attenuating cubicles with fans providing a constant low level of background noise. Each chamber was supplied with a retractable lever, a food dispenser with receptacle on the right hand side of the retractable lever and two stimulus lights, one above the retractable lever (providing the imperative stimulus) and one above the food receptacle (providing the instructive stimulus). The experiments were controlled online (SmartControl[®]-

Interfaces; Med Associates, St. Albans, USA) by a computer system (MedPC-Software; Med Associates, St. Albans, USA).

CORRECT RESPONSE

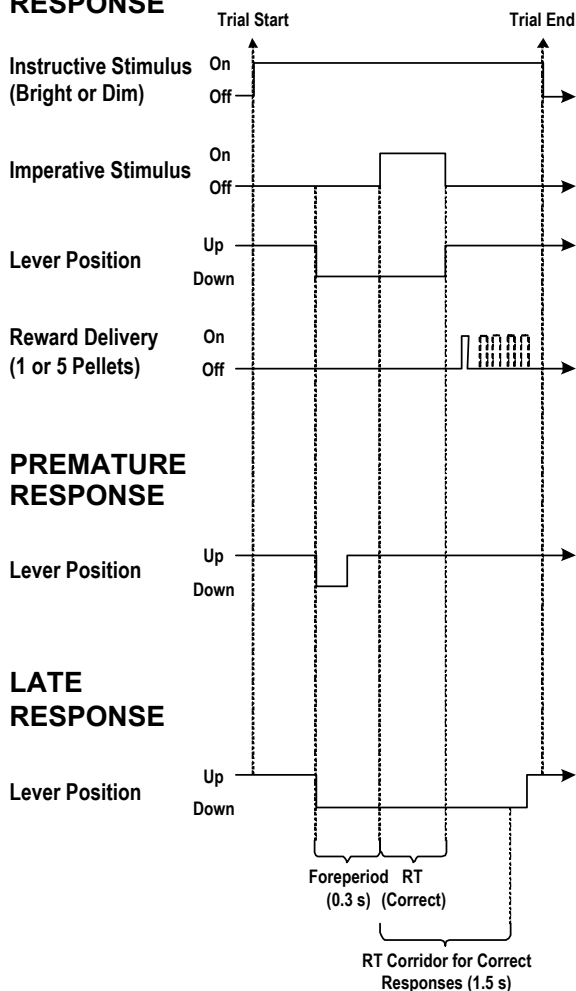


Figure 1. Schematic representation of the order of trial events. At the beginning of a trial, the instructive stimulus light was turned on at one of two brightness levels which were associated with different reward magnitudes (1 or 5 pellets). Thereafter, the rat pressed the lever spontaneously. After the foreperiod of 0.3 s, the imperative stimulus light signaled the rat to release the lever in order to get the food reward. Responses with reaction times (RTs) < 1.5 s were considered as being correct and were rewarded as indicated by the instructive stimulus (top). Premature responses (before onset of the imperative stimulus) (middle) or late responses (RT > 1.5 s) (bottom) caused the trial to be repeated with the identical foreperiod and reward magnitude.

Reaction time task

A simple reaction time (RT) task (Hauber *et al.*, 2000; 2001) was used which demands conditioned lever release with instructive stimuli indicating the reward magnitude to be obtained after a subsequent imperative stimulus. A trial was initiated by a spontaneous lever press. After a foreperiod of 0.3 s, the presentation of the imperative stimulus signaled to the rats to release the lever quickly and to respond to the food receptacle in which the food

pellets were delivered (45 mg pellets, Bioserv, Frenchtown, USA). On each correct trial, rats received one or five food pellets. The reward magnitude for each trial was randomly determined in advance and signaled to the rats by two distinct brightness levels of the instructive stimulus light. The instructive stimulus light was turned on at the beginning of each trial before lever press and remained present until delivery of food reward. To check for equal perception of the two different brightness levels of the instructive stimulus light, for 50 % of the rats, the bright stimulus was associated with delivery of 5 pellets and the dim stimulus was associated with delivery of 1 pellet. For the other 50 % of the rats, the opposite design was used.

RTs defined as latencies from the onset of the imperative stimulus to lever release were recorded with an accuracy of 10 ms. For a correct trial, rats had to release the lever within 1.5 s after presentation of the imperative stimulus. Responses before onset of the imperative stimulus were defined as “premature responses”, responses with RTs longer than 1.5 s were defined as “late responses”. A daily individual session lasted approximately 15 min and demanded 50 correct trials, i.e. 25 correct trials for each reward magnitude (1 and 5 pellets). All rats were trained in one daily session on 7 d per week during the complete experimental period. A schematic representation of the order of trial events is given in Fig. 1.

Experimental procedure

Preoperative habituation. In the first two sessions, subjects were habituated to the operant chamber with access to food pellets placed into the food receptacle. In the following five sessions, a habituation program with a FR-1 schedule commenced until a criterion of 20 consecutive lever responses was attained. Afterwards, rats were subjected to surgery.

Postoperative habituation. The habituation program with a FR-1 schedule was given for one session.

Acquisition. Subsequently, rats were trained in the RT task for 15 sessions. After the last acquisition session, the correct response rate was at least 70 %, i.e. rats needed at maximum 71 trials to attain the 50 correct responses per session, and responding was guided by the stimulus-associated reward magnitude, i.e. mean RTs of all responses of a session associated with the low reward magnitude were significantly longer than those associated with the high reward magnitude. To adapt animals to microinfusions, all animals received an intra-OPFC microinfusion of saline (0.7 µl) on Day 13 of acquisition.

Reversal. Subsequently, learning of reversed stimulus-reward magnitude contingencies was tested for 6 sessions, i.e. rats had to learn that the stimulus formerly predicting high reward magnitude was associated with low reward magnitude under reversal conditions (and *vice versa*). On Days 1, 3 and 5 of reversal testing, each rat received a drug or vehicle microinfusion (AP5-treated group: $n = 22$; vehicle-treated group: $n = 22$) before the onset of behavioral testing. To exclude an impact of the handling procedure used for microinfusions, all animals were exposed to the handling procedure before each session during acquisition and reversal.

Data analysis

Results showed equal perception of the two different brightness levels of the instructive stimulus light indicating that all rats discriminated stimulus-reward magnitude contingencies irrespective of the brightness-reward magnitude relationship. Therefore, accuracy and

RT data obtained with both stimulus-reward magnitude contingencies were pooled.

Accuracy of performance was determined by using (1) the mean number of trials necessary to reach the criterion of 25 correct responses for each stimulus-reward magnitude relationship (\pm standard error of the mean, SEM), (2) the per cent means of correct responses from the number of trials per session (\pm SEM), (3) the per cent means of premature responses from the number of trials per session (\pm SEM), and (4) the per cent means of late responses from the number of trials per session (\pm SEM). Two-way analyses of variance (ANOVAs) for acquisition and reversal, respectively, were conducted with treatment groups as between factor and days as within (repeated measures) factor followed by planned contrasts.

The calculations of RT performance were conducted with RT data from correct responses ($RT < 1.5$ s). When averaging RT data, a geometric mean was calculated for each rat for each session as the geometric mean is less influenced by outlying data points than is the arithmetic mean (Brasted *et al.*, 1997; Lane, 2002). Overall RT means of responses associated with the high and low reward magnitude, respectively, represent the arithmetic average of the geometric means of individual rats (Brasted *et al.*, 1997). After acquisition sessions, RTs of responses associated with the low reward magnitude were significantly longer than those associated with the high reward magnitude. Calculated RT differences (\pm SEM) reflecting RT guidance by reward magnitude expectancy based on instructive stimuli (Hauber *et al.*, 2000) were further analyzed by ANOVAs for acquisition and reversal sessions, respectively, followed by planned contrasts. A calculated “positive” difference between RTs associated with low versus high reward magnitude indicates intact determination of instrumental responses by the reward magnitudes.

Statistical computations were carried out with the STATISTICA ('99, StatSoft Inc., Hamburg, Germany) statistical package. The level of statistical significance (α -level) was set at $p < 0.05$.

Histology

After completion of behavioral testing, animals were euthanized by an overdose of sodium pentobarbital (150 mg/kg, *i.p.*) (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen, Germany) to control for correct placement of cannulae. Brains were rapidly removed, fixed in 10 % formalin for 2.5 h and stored in 30 % glucose. Brain sections (40 µm) were cut with a cryostat (Reichert and Jung, Heidelberg, Germany), mounted on coated slides and stained with cresyl violet. Placements were verified with reference to the atlas of Paxinos and Watson (1986).

Results

Histology

As shown in Fig. 2, injection cannulae tips were located in the lateral and ventrolateral orbital cortex. Two rats treated with AP5 and vehicle, respectively, were excluded from data analysis because of cannulae misplacement (cannulae tips > 0.5 mm from target coordinates). Thus, final sample sizes were $n = 20$ for each treatment group.

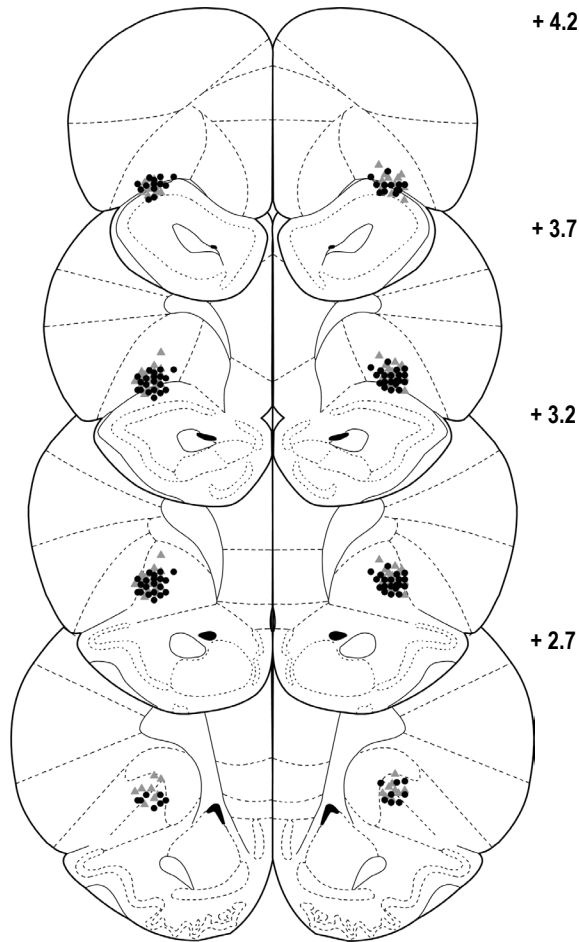


Figure 2. Location of injection sites in the orbital prefrontal cortex (OPFC). The schematics depict the location of injection cannulae tips in the OPFC for all AP5-treated rats (black circles) and vehicle-treated rats (grey triangles) used for data analysis. Plates are adaptations from the atlas of Paxinos and Watson (1986). Numbers beside each plate correspond to millimeters anterior to bregma.

Acquisition

Accuracy of task performance

Overall number of trials. Two-way ANOVAs on the number of trials per session with treatment groups as between factor and days as within (repeated measures) factor revealed no significant differences between groups to be treated with AP5 or vehicle during reversal learning. As shown in Fig. 3, in both treatment groups the number of trials associated with low ($F_{(14, 532)} = 14.15; p = 0.0000$) and high reward magnitude ($F_{(14, 532)} = 13.27; p = 0.0000$) decreased significantly as a function of days. To achieve the criterion of 25 correct responses rewarded with 1 / 5 pellets, respectively, rats to be treated with vehicle needed $28 \pm 1 / 30 \pm 1$ trials, rats to be treated with AP5 $30 \pm 1 / 30 \pm 1$ trials.

Correct response rate. Two-way ANOVAs on correct response rates with treatment groups as between factor and days as within (repeated measures) factor revealed no significant differences between rats to be treated with AP5 or vehicle. In

both treatment groups, rates of correct responses associated with low ($F_{(14, 532)} = 13.96; p = 0.0000$) and high reward magnitude ($F_{(14, 532)} = 15.37; p = 0.0000$) increased significantly. In the last acquisition session, the rate of correct responses associated with low reward magnitude was $(88.7 \pm 1.4) \%$ in rats to be treated with vehicle and $(85.3 \pm 2.1) \%$ in rats to be treated with AP5. The rate of correct responses associated with high reward magnitude was $(85.0 \pm 2.4) \%$ in rats to be treated with vehicle and $(85.3 \pm 1.9) \%$ in rats to be treated with AP5 (data not shown).

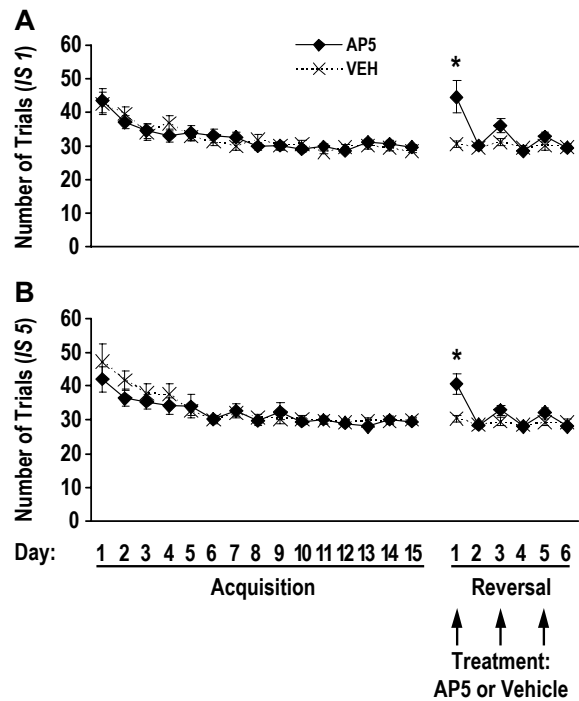


Figure 3. Number of trials per session (\pm SEM) to reach criterion (25 correct trials) during acquisition and reversal. During acquisition, the number of trials per session with the instructive stimulus predictive of 1 pellet (IS 1) (A) or 5 pellets (IS 5) (B) decreased, respectively, in animals to be treated with saline or AP5. During reversal learning, treatment groups received intra-OPFC microinfusion either of saline (0.7 μ l per side) or AP5 (7 μ g in 0.7 μ l saline per side) on Days 1, 3, 5. On days with microinfusion of AP5, the number of trials with IS 1 as well IS 5 were increased. Two-way ANOVAs on the number of trials with IS 1 and IS 5, respectively, revealed significant differences between treatment groups and a significant treatment \times day interaction ($p < 0.05$). * $p < 0.05$, planned contrasts between treatment groups on single days.

Premature response rate. In addition, rates of premature responses associated with low ($F_{(14, 532)} = 15.85; p = 0.0000$) and high reward magnitude ($F_{(14, 532)} = 15.41; p = 0.0000$) decreased significantly as depicted in Fig. 4. In the last acquisition session, the rate of premature responses associated with low reward magnitude was $(7.9 \pm 1.3) \%$ in rats to be treated with vehicle and $(10.4 \pm 1.7) \%$ in rats to be treated with AP5; the rate

of premature responses associated with high reward magnitude was $(12.1 \pm 2.4) \%$ in rats to be treated with vehicle and $(13.4 \pm 1.9) \%$ in rats to be treated with AP5. Differences between both treatment groups were not significant.

Late response rate. Rates of late responses associated with low reward magnitude increased significantly ($F_{(14, 532)} = 2.29$; $p = 0.0048$), while those associated with high reward magnitude remained nearly constant. Differences between both treatment groups were not significant (data not shown).

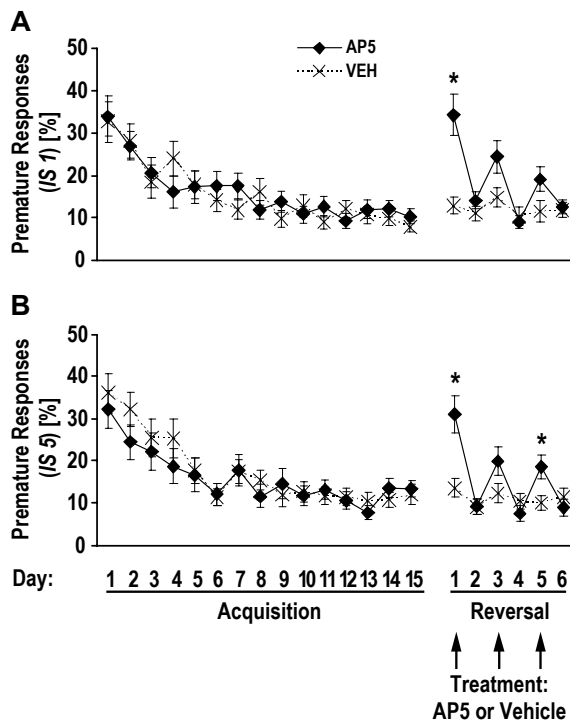


Figure 4. Premature response rates (\pm SEM) during acquisition and reversal. During acquisition, premature responses with the instructive stimulus predictive of 1 pellet (IS 1) (A) or 5 pellets (IS 5) (B) decreased, respectively, in animals to be treated with saline or AP5. During reversal learning, treatment groups received intra-OPFC microinfusion of saline (0.7 μ l per side) or AP5 (7 μ g in 0.7 μ l saline per side) on Days 1, 3, 5. On days with microinfusion of AP5, premature response rates with IS 1 and IS 5, respectively, were increased. Two-way ANOVAs on premature response rates with IS 1 and IS 5, respectively, revealed significant differences between treatment groups and a significant treatment \times day interaction ($p < 0.05$). * $p < 0.05$, planned contrasts between treatment groups on single days.

RT performance

RTs associated with low reward magnitude increased significantly ($F_{(14, 532)} = 5.75$; $p = 0.0000$), while those associated with high reward magnitude increased only slightly. There were no significant differences between rats to be treated with AP5 or vehicle (Fig. 5).

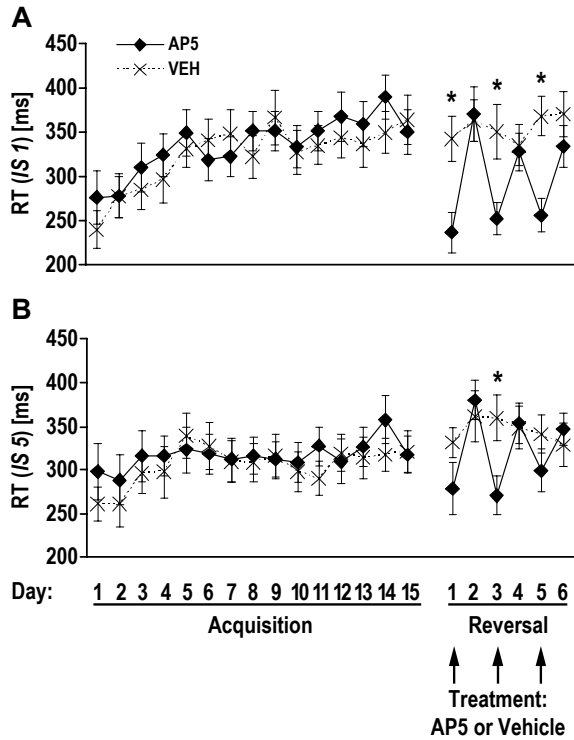


Figure 5. Reaction times (RTs) (\pm SEM) during acquisition and reversal. During acquisition, RTs with the instructive stimulus predictive of 1 pellet (IS 1) increased significantly (A) and RTs with the instructive stimulus predictive of 5 pellets (IS 5) increased only slightly (B) in animals to be treated with saline or AP5. During reversal learning, treatment groups received intra-OPFC microinfusion of saline (0.7 μ l per side) or AP5 (7 μ g in 0.7 μ l saline per side) on Days 1, 3, 5. On days with microinfusion of AP5, RTs with IS 1 and IS 5, respectively, were shortened. A two-way ANOVA on premature response rates with IS 1 revealed significant differences between treatment groups and a significant treatment \times day interaction, the two-way ANOVA on premature response rates with IS 5 revealed a significant treatment \times day interaction ($p < 0.05$). * $p < 0.05$, planned contrasts between treatment groups on single days.

A two-way ANOVA on RT differences with treatment groups as between factor and days as within (repeated measures) factor revealed no significant differences between both treatment groups, but a significant increase of RT differences during acquisition ($F_{(14, 532)} = 3.50$; $p = 0.0000$) as shown in Fig. 6. In the last acquisition session, mean RTs were significantly longer associated with low reward magnitude resulting in positive RT differences (\pm SEM) of $+(33 \pm 17)$ ms in rats to be treated with AP5 ($F_{(1, 38)} = 4.85$; $p = 0.0338$), and of $+(43 \pm 13)$ ms in rats to be treated with vehicle ($F_{(1, 38)} = 8.27$; $p = 0.0066$).

Reversal

Reversal was tested on six subsequent days, treatment groups received microinfusion of saline or AP5 on Days 1, 3 and 5.

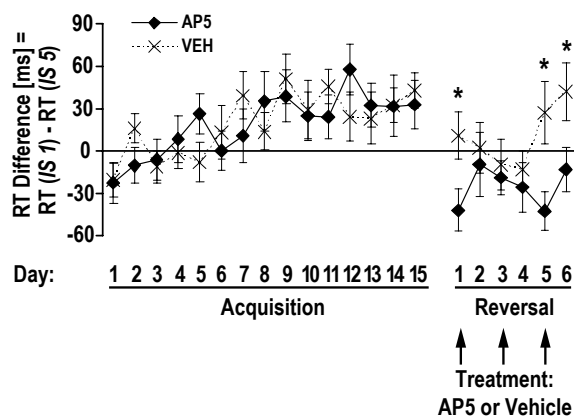


Figure 6. Reaction time (RT) differences (\pm SEM) during acquisition and reversal. After acquisition, RT differences are positive in animals to be treated with saline or AP5 indicating intact stimulus- reward magnitude discrimination. During reversal learning, treatment groups received intra-OPFC microinfusion of saline (0.7 μ l per side) or AP5 (7 μ g in 0.7 μ l saline per side) on Days 1, 3, 5. In vehicle-treated rats (VEH), RT differences were about 0 ms in the first reversal session and positive in the last reversal session. In AP5-treated rats (AP5), RT differences were negative in reversal sessions indicating that responses were predominantly guided by the prior significance of the reward predicting stimuli. Two-way ANOVAs on RT differences revealed significant differences between treatment groups ($p < 0.05$). * $p < 0.05$, planned contrasts between treatment groups on single days. RT (S 1): RTs of responses with the instructive stimulus predictive of 1 pellet; RT (S 5): RTs of responses with the instructive stimulus predictive of 5 pellets.

Accuracy of task performance

Overall number of trials. A two-way ANOVA on the number of trials per session associated with low reward magnitude with treatment groups as between factor and days as within (repeated measures) factor revealed significant differences between treatment groups ($F_{(1,38)} = 8.88$; $p = 0.0050$), days ($F_{(5,190)} = 8.07$; $p = 0.0000$) and a significant treatment \times day interaction ($F_{(5,190)} = 5.81$; $p = 0.0001$). Planned contrasts indicated a significant difference between AP5- and vehicle-treated rats on Day 1 ($F_{(1,38)} = 8.45$; $p = 0.0061$).

A two-way ANOVA on the number of trials per session associated with high reward magnitude revealed significant differences between treatment groups ($F_{(1,38)} = 6.08$; $p = 0.0183$), days ($F_{(5,190)} = 10.53$; $p = 0.0000$) and a significant treatment \times day interaction ($F_{(5,190)} = 5.91$; $p = 0.0001$). Planned contrasts indicated a significant difference between AP5- and vehicle-treated rats on Day 1 ($F_{(1,38)} = 8.98$; $p = 0.0048$) (Fig. 3).

Correct response rate. A two-way ANOVA on rates of correct responses associated with low reward magnitude with treatment groups as between factor and days as within (repeated measures) factor revealed significant differences between treatment groups ($F_{(1,38)} = 6.65$; $p = 0.0139$), days ($F_{(5,190)} = 8.93$; $p = 0.0000$) and a significant treatment \times day interaction ($F_{(5,190)} = 4.74$; $p = 0.0004$). Planned contrasts indicated a significant

difference between AP5- and vehicle-treated rats on Day 1 ($F_{(1,38)} = 12.22$; $p = 0.0012$).

Likewise, a two-way ANOVA on rates of correct responses associated with high reward magnitude revealed significant differences between treatment groups ($F_{(1,38)} = 4.11$; $p = 0.0497$), days ($F_{(5,190)} = 11.77$; $p = 0.0000$) and a significant treatment \times day interaction ($F_{(5,190)} = 5.28$; $p = 0.0001$). Planned contrasts indicated a significant difference between AP5- and vehicle-treated rats on Day 1 ($F_{(1,38)} = 11.86$; $p = 0.0014$) (data not shown). The decrease of correct response rates was primarily due to the increase of premature response rates on injection days.

Premature response rate. A two-way ANOVA on rates of premature responses associated with low reward magnitude with treatment groups as between factor and days as within (repeated measures) factor revealed significant differences between treatment groups ($F_{(1,38)} = 11.01$; $p = 0.0020$), days ($F_{(5,190)} = 9.33$; $p = 0.0000$) and a significant treatment \times day interaction ($F_{(5,190)} = 5.84$; $p = 0.0000$). Planned contrasts indicated significant differences between AP5- and vehicle-treated rats on Day 1 ($F_{(1,38)} = 16.60$; $p = 0.0002$) and Day 3 ($F_{(1,38)} = 4.05$; $p = 0.0404$).

A two-way ANOVA on rates of premature responses associated with high reward magnitude revealed significant differences between treatment groups ($F_{(1,38)} = 5.61$; $p = 0.0231$), days ($F_{(5,190)} = 10.89$; $p = 0.0000$) and a significant treatment \times day interaction ($F_{(5,190)} = 6.33$; $p = 0.0000$). Planned contrasts indicated significant differences between AP5- and vehicle-treated rats on Day 1 ($F_{(1,38)} = 12.91$; $p = 0.0009$) and Day 5 ($F_{(1,38)} = 6.24$; $p = 0.0169$) (Fig. 4).

Late response rate. Two-way ANOVAs on late response rates with treatment groups as between factor and days as within (repeated measures) factor revealed significant differences neither between treatment groups nor between days (data not shown).

RT performance

A two-way ANOVA on RTs associated with low reward magnitude with treatment groups as between factor and days as within (repeated measures) factor revealed significant differences between treatment groups ($F_{(1,38)} = 6.51$; $p = 0.0148$), between days ($F_{(5,190)} = 4.88$; $p = 0.0003$) and a significant treatment \times day interaction ($F_{(5,190)} = 3.78$; $p = 0.0028$). Planned contrasts indicated significant differences between AP5- and vehicle-treated rats on Day 1 ($F_{(1,38)} = 9.74$; $p = 0.0034$), Day 3 ($F_{(1,38)} = 7.67$; $p = 0.0087$), and Day 5 ($F_{(1,38)} = 14.61$; $p = 0.0005$).

A two-way ANOVA on RTs associated with high reward magnitude revealed significant differences between days ($F_{(5,190)} = 3.26$; $p = 0.0076$) and a significant treatment \times day interaction ($F_{(5,190)} = 2.65$; $p = 0.0234$). Planned contrasts indicated a significant difference between AP5- and

vehicle-treated rats on Day 3 ($F_{(1,38)} = 6.62$; $p = 0.0141$) (Fig. 5).

A two-way ANOVA on RT differences with treatment groups as between factor and days as within (repeated measures) factor revealed significant differences between treatment groups ($F_{(1,38)} = 6.94$; $p = 0.0121$). Planned contrasts indicated a significant difference between AP5- and vehicle-treated rats on Day 1 ($F_{(1,38)} = 5.62$; $p = 0.0230$), Day 5 ($F_{(1,38)} = 7.12$; $p = 0.0111$), and Day 6 ($F_{(1,38)} = 4.54$; $p = 0.0397$).

In the last reversal session, RTs were significantly longer associated with low reward magnitude resulting in a positive RT difference (\pm SEM) of $+ (42 \pm 20)$ ms in vehicle-treated rats ($F_{(1,38)} = 5.30$; $p = 0.0268$). RTs were significantly shorter associated with low reward magnitude resulting in a negative RT difference (\pm SEM) of $- (42 \pm 15)$ ms on Day 1 ($F_{(1,38)} = 7.10$; $p = 0.0112$), and of $- (43 \pm 14)$ ms on Day 5 ($F_{(1,38)} = 5.36$; $p = 0.0261$) in AP5-treated rats (Fig. 6).

Discussion

The present study demonstrates that the blockade of NMDA receptors in the OPFC impaired learning a reversal of previously acquired stimulus- reward magnitude contingencies. In AP5-treated rats (i) RTs of correct responses were generally shortened regardless of the response-associated reward magnitude, (ii) the proportion of premature responses was increased, and (iii) responses were predominantly guided by the prior significance of the reward predicting stimuli. These findings provide evidence for an involvement of NMDA receptors in the rat OPFC in reversal learning.

Acquisition of the RT task

After acquisition, accuracy of task performance was very similar in both treatment groups subjected to vehicle or AP5 infusion during subsequent reversal learning. Correct response rates (83 – 88 %), the proportion of premature (9 – 12 %) and late (3 – 5 %) responses were comparable in both treatment groups and indicate a high level of instrumental performance which exceeded those in comparable tasks (Brown and Bowman, 1995; Hauber *et al.*, 2000; 2001). Likewise, RTs associated with low reward magnitude were significantly longer than those associated with high reward magnitude in both treatment groups. The calculated “positive” RT difference of responses associated with low vs. high reward was about $+ 40$ ms and corresponds to those determined in similar tasks (Brown and Bowman, 1995; Hauber *et al.*, 2000, 2001). Apparently, the predictive information provided by the instructive stimuli produced specific reward magnitude expectancies accounting for the RT difference. Hence, RT difference was used as a sensitive measure to characterize discriminative guidance of

instrumental responses by the current stimulus-reward magnitude contingencies.

Reversal learning after NMDA receptor blockade in the OPFC

In vehicle-treated rats, the number of correct, premature and late responses per session remained unchanged on days with and without vehicle infusion indicating that the infusion procedure *per se* did not affect accuracy of task performance during reversal. In addition, the level of RTs was similar in vehicle-treated rats on days with and without vehicle infusion demonstrating that the infusion procedure *per se* did not affect RT performance. However, RT differences were around 0 ms or negative on Days 1 – 4 of reversal learning. This finding suggests that in the initial phase of reversal learning stimuli were not interpreted according to their current incentive significance. Eventually, RT differences increased on Day 5 of reversal learning and reached a significantly positive value on Day 6 indicating that vehicle-treated rats were able to adapt instrumental responding to reversed stimulus- reward magnitude contingencies within this period.

By contrast, in AP5-treated rats, accuracy of task performance was significantly impaired on infusion days. The total number of trials necessary to achieve the criterion of 50 correct responses per session was increased, largely due to an increased number of premature responses. Notably, the effects of AP5 on accuracy of task performance were independent of the response-associated reward magnitude. Furthermore, in AP5-treated animals, RTs with the expected low and high reward both were markedly shorter on infusion days compared to days without infusion demonstrating that AP5 produced a general speeding of instrumental responding. Also, RT differences were negative during reversal, i.e. AP5-treated animals responded significantly faster to the stimulus originally associated with high reward on Days 1 and 5. Though less pronounced, this was also observed on the other reversal days. Thus, during reversal, AP-5 treated animals did not respond to the stimuli according to their current significance, but mainly according to their original significance during acquisition. Taken together, intra-OPFC blockade of NMDA receptors impaired several aspects of instrumental responding under reversal conditions: (i) RTs of correct responses were generally shortened regardless of the response-associated reward magnitude, (ii) the proportion of premature responses was increased, and (iii) responses were primarily guided by the prior significance of the reward predicting stimuli.

The general reduction of RTs and the increased proportion of premature responses can not easily be explained in terms of a nonspecific performance deficit as rats were still able to reach the criterion number of correct responses. Moreover, the number of late responses was unchanged and responses were guided by the instructive stimuli even if according to

their prior significance. In addition, no indications for nonspecific motor symptoms have been reported in studies with rats investigating the effects of transient inactivation or lesion of the OPFC in go/no-go discrimination (Eichenbaum *et al.*, 1983; Ferry *et al.*, 2000; Schoenbaum *et al.*, 2002), delayed-nonmatching-to-sample (Otto and Eichenbaum, 1992), T-maze (De Bruin *et al.*, 1994) and lever pressing (De Bruin *et al.*, 2000, Mobini *et al.*, 2002) tasks as well as in the RT task used here (Bohn *et al.*, submitted). Thus, we can not rule out an AP5-induced motor impairment to account for the increase of premature responses and the decrease of RTs, but the available data give no evidence in favour of this possibility. Rather, the reduced accuracy of task performance might be related to an impairment of inhibitory control mechanisms which have been postulated to account for behavioural deficits induced by prefrontal lesions in various paradigms (Fuster, 1997; Jentsch and Taylor, 1999). The increased number of premature responses and the shortened RTs regardless of the stimuli-associated reward magnitude might be tentatively interpreted as a reduced inhibition of reward directed responses or an increased impulsivity. Our results further indicate that after intra-OPFC blockade of NMDA receptors, responses were not only initiated generally faster, but were mainly guided by the prior significance of the stimuli. Such an impairment of reversal learning has been also observed in rats with OPFC lesions in odor-guided go/no-go discrimination tasks (Ferry *et al.*, 2000, Schoenbaum *et al.*, 2002), an attentional set-shifting task (Brown and Bowman, 2002) and a RT task as used here (Bohn *et al.*, submitted). Likewise, in primates with excitotoxic lesions it has been shown that the OPFC is a critical brain region in reversing stimulus-reward associations within a particular perceptual dimension (Dias *et al.*, 1996; 1997). Problems in reversal learning caused by OPFC lesions have been attributed to impairments in inhibitory response control. It has been suggested that processes for modulating stimulus-reward-response associations, allowing animals to shift between old and new contingencies and to inhibit inappropriate responses to conditioned stimuli are impaired after OPFC dysfunction (Jentsch and Taylor, 1999). Accordingly, damage to the OPFC in monkeys affected inhibitory control in a visual discrimination task probably reflecting a failure to suppress the influence of previously acquired stimulus-reward associations, rather than an impairment in learning new stimulus-reward associations (Dias *et al.*, 1996). Recent data further suggest that the rat OPFC might not subserve response inhibition unless responses have to be adapted to changed stimulus-reward contingencies as only reversal learning, but not acquisition of go/no-go discriminations was impaired (Schoenbaum *et al.*, 2002). Together, the data support the general notion that the OPFC is an important neural substrate for reversal learning (Rolls, 1996; 2000; Schoenbaum and Setlow, 2001;

Brown and Bowman, 2002). Our data extend these findings and reveal that reversal learning mediated by the OPFC relies on NMDA receptor stimulation. The OPFC receives glutamatergic inputs from a number of cortical and limbic regions (Kalivas and Nakamura, 1999; Groenewegen and Uylings, 2000; Öngür and Price, 2000) involved in processing of reward related stimuli such as the amygdala (Baxter and Murray, 2002). Furthermore, NMDA-receptor dependent plasticity in related corticostriatal structures such as the amygdala, medial prefrontal cortex and nucleus accumbens has been shown to mediate appetitive instrumental learning (Kelley *et al.*, 1997; Baldwin *et al.*, 2000; 2002). A role for glutamate transmitted signals in the rat OPFC in reversal learning is also suggested by recent electrophysiological findings. After reversal of stimulus-reward contingencies, changes in the functional connectivity in OPFC and basolateral amygdala have been detected. In particular, correlated firing increased in the OPFC possibly indicating that the original associations were maintained within the OPFC while acquiring new stimulus-reward associations (Schoenbaum *et al.*, 2000). This type of encoding has been suggested to facilitate comparisons of original and reversed stimulus-reward contingencies permitting fast behavioral adaptation during reversal learning observed in intact, but not in OPFC lesioned animals (Schoenbaum *et al.*, 2002; Bohn *et al.*, submitted). The present finding that intra-OPFC infusion of AP5 induced an impairment of reversal learning suggests that some of the functional changes in the OPFC observed during reversal in these electrophysiological experiments might rely on NMDA receptor dependent signalling.

Conclusions

The OPFC plays an important role in adapting behavioral responses to altered incentive information in several species (Rolls, 1996; 2000; Schoenbaum and Setlow, 2001; Brown and Bowman, 2002). Using a RT task highly sensitive to changes of behavioral guidance by the anticipated value of actions, the present data confirm a role of the OPFC in reversal learning. In addition, this study provides novel evidence for NMDA receptor mediated neural plasticity in the OPFC underlying learning a reversal of stimulus- reward magnitude contingencies.

Acknowledgements

This research was supported by the Deutsche Forschungsgemeinschaft (Ha2340/3-2) and the Landesgraduiertenförderung Baden- Württemberg.

References

- Baldwin AE, Holahan MR, Sadeghian K, Kelley AE (2000) N-methyl-D-aspartate receptor-dependent plasticity within a distributed corticostriatal network mediates appetitive instrumental learning. *Behav Neurosci* 114: 84-98.
- Baldwin AE, Sadeghian K, Kelley AE (2002) Appetitive Instrumental Learning Requires Coincident Activation of NMDA and Dopamine D1 Receptors within the Medial Prefrontal Cortex. *J Neurosci* 22: 1063-1071.
- Baxter MG, Murray EA (2002) The amygdala and reward. *Nat Rev Neurosci* 3: 563-573.
- Bechara A, Damasio H, Damasio AR (2000) Emotion, decision making and the orbitofrontal cortex. *Cereb Cortex* 10: 295-307.
- Bohn I, Gierler C, Hauber W (submitted) Orbital Prefrontal Cortex and Guidance of Instrumental Behaviour in Rats under Reversal Conditions.
- Brasted PJ, Humby T, Dunnett SB, Robbins TW (1997) Unilateral lesions of the dorsal striatum in rats disrupt responding in egocentric space. *J Neurosci* 17: 8919-8926.
- Brown VJ, Bowman EM (1995) Discriminative cues indicating reward magnitude continue to determine reaction time of rats following lesions of the nucleus accumbens. *Eur J Neurosci* 7: 2479-2485.
- Brown VJ, Bowman EM (2002) Rodent models of prefrontal cortical function. *Trends Neurosci* 25: 340-343.
- Cardinal RN, Parkinson JA, Hall J, Everitt BJ (2002) Emotion and motivation: the role of the amygdala, ventral striatum, and prefrontal cortex. *Neurosci Biobehav Rev* 26: 321-352.
- De Bruin JPC (1994) Evolution of prefrontal cortex: comparative aspects of its behavioral functions. In: *Flexibility and constraint in behavioral systems* (Greenspan RJ, Kyriacou CP, eds), pp. 185-192. John Wiley & Sons Ltd.
- De Bruin JPC, Feenstra MG, Broersen LM, Van Leeuwen M, Arens C, De Vries S, Joosten RN (2000) Role of the prefrontal cortex of the rat in learning and decision making: effects of transient inactivation. *Prog Brain Res* 126: 103-113.
- Dias R, Robbins TW, Roberts AC (1996) Dissociation in prefrontal cortex of affective and attentional shifts. *Nature* 380: 69-72.
- Dias R, Robbins TW, Roberts AC (1997) Dissociable forms of inhibitory control within prefrontal cortex with an analog of the Wisconsin Card Sort Test: restriction to novel situations and independence from "on-line" processing. *J Neurosci* 17: 9285-9297.
- Eichenbaum H, Clegg RA, Feeley A (1983) Reexamination of functional subdivisions of the rodent prefrontal cortex. *Exp Neurol* 79: 434-451.
- Elliott R, Dolan RJ, Frith CD (2000) Dissociable functions in the medial and lateral orbitofrontal cortex: evidence from human neuroimaging studies. *Cereb Cortex* 10: 308-317.
- Ferry AT, Lu XC, Price JL (2000) Effects of excitotoxic lesions in the ventral striatopallidum-thalamocortical pathway on odor reversal learning: inability to extinguish an incorrect response. *Exp Brain Res* 131: 320-335.
- Fuster JM (1997) *The prefrontal cortex: anatomy, physiology, and neuropsychology of the frontal lobe*. New York : Raven Press.
- Groenewegen HJ, Uylings HB (2000) The prefrontal cortex and the integration of sensory, limbic and autonomic information. *Prog Brain Res* 126: 3-28.
- Hauber W, Bohn I, Gierler C (2000) NMDA, but not dopamine D(2), receptors in the rat nucleus accumbens are involved in guidance of instrumental behavior by stimuli predicting reward magnitude. *J Neurosci* 20: 6282-6288.
- Hauber W, Gierler C, Bohn I (2001) NMDA and dopamine D2 receptors in the caudate-putamen are not involved in control of motor readiness in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 155: 43-51.
- Jentsch JD, Taylor JR (1999) Impulsivity resulting from frontostriatal dysfunction in drug abuse: implications for the control of behavior by reward-related stimuli. *Psychopharmacology (Berl)* 146: 373-390.
- Kalivas PW, Nakamura M (1999) Neural systems for behavioral activation and reward. *Curr Opin Neurobiol* 9: 223-227.
- Kelley AE, Smith-Roe SL, Holahan MR (1997) Response-reinforcement learning is dependent on N-methyl-D-aspartate receptor activation in the nucleus accumbens core. *Proc Natl Acad Sci USA* 94: 12174-12179.
- Kubota K, Komatsu H (1985) Neuron activities of monkey prefrontal cortex during the learning of visual discrimination tasks with GO/NO-GO performances. *Neurosci Res* 3: 106-129.
- Lane D (2002) *Hyperstat*. pp. 10-16. Cincinnati: Atomic Dog Publishing.
- Lipton PA, Alvarez P, Eichenbaum H (1999) Crossmodal associative memory representations in rodent orbitofrontal cortex. *Neuron* 22: 349-359.
- Meunier M, Bachevalier J, Mishkin M (1997) Effects of orbital frontal and anterior cingulate lesions on object and spatial memory in rhesus monkeys. *Neuropsychologia* 35: 999-1015.
- Mobini S, Body S, Ho MY, Bradshaw CM, Szabadi E, Deakin JF, Anderson IM (2002) Effects of lesions of the orbitofrontal cortex on sensitivity to delayed and probabilistic reinforcement. *Psychopharmacology (Berl)* 160: 290-298.
- Ongur D, Price JL (2000) The organization of networks within the orbital and medial prefrontal cortex of rats, monkeys and humans. *Cereb Cortex* 10: 206-219.

- Otto T, Eichenbaum H (1992) Complementary roles of the orbital prefrontal cortex and the perirhinal- entorhinal cortices in an odor-guided delayed-nonmatching-to-sample task. *Behav Neurosci* 106: 762-775.
- Paxinos G, Watson C (1986) *The rat brain in stereotaxic coordinates*. San Diego: Academic Press.
- Reep RL, Corwin JV, King V (1996) Neuronal connections of orbital cortex in rats: topography of cortical and thalamic afferents. *Exp Brain Res* 111: 215-232.
- Rogers RD, Owen AM, Middleton HC, Williams EJ, Pickard JD, Sahakian BJ, Robbins TW (1999) Choosing between small, likely rewards and large, unlikely rewards activates inferior and orbital prefrontal cortex. *J Neurosci* 19: 9029-9038.
- Rolls ET (1996) The orbitofrontal cortex. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 351: 1433-1444.
- Rolls ET (1999) *The Brain and Emotion*. London: Oxford University Press.
- Rolls ET (2000) The orbitofrontal cortex and reward. *Cereb Cortex* 10: 284-294.
- Rolls ET, Critchley HD, Mason R, Wakeman EA (1996) Orbitofrontal cortex neurons: role in olfactory and visual association learning. *J Neurophysiol* 75: 1970-1981.
- Rolls ET, Hornak J, Wade D, McGrath J (1994) Emotion-related learning in patients with social and emotional changes associated with frontal lobe damage. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 57: 1518-1524.
- Schoenbaum G, Chiba AA, Gallagher M (1999) Neural encoding in orbitofrontal cortex and basolateral amygdala during olfactory discrimination learning. *J Neurosci* 19: 1876-1884.
- Schoenbaum G, Chiba AA, Gallagher M (2000) Changes in Functional Connectivity in Orbitofrontal Cortex and Basolateral Amygdala during Learning and Reversal Training. *J Neurosci* 20: 5179-5189.
- Schoenbaum G, Eichenbaum H (1995) Information coding in the rodent prefrontal cortex. II. Ensemble activity in orbitofrontal cortex. *J Neurophysiol* 74: 751-762.
- Schoenbaum G, Nugent SL, Saddoris MP, Setlow B (2002) Orbitofrontal lesions in rats impair reversal but not acquisition of go, no-go odor discriminations. *Neuroreport* 13: 885-890.
- Schoenbaum G, Setlow B (2001) Integrating orbitofrontal cortex into prefrontal theory: common processing themes across species and subdivisions. *Learn Mem* 8: 134-147.
- Schroeder BE, Binzak JM, Kelley AE (2001) A common profile of prefrontal cortical activation following exposure to nicotine- or chocolate-associated contextual cues. *Neuroscience* 105: 535-545.
- Takita M, Yokoi H, Mizuno T (1997) NMDA receptor clustering in rat prefrontal cortex revealed by in vitro calcium macroimaging. *Neuroreport* 8: 551-553.
- Thorpe SJ, Rolls ET, Maddison S (1983) The orbitofrontal cortex: neuronal activity in the behaving monkey. *Exp Brain Res* 49: 93-115.
- Yonemori M, Nishijo H, Uwano T, Tamura R, Furuta I, Kawasaki M, Takashima Y, Ono T (2000) Orbital cortex neuronal responses during an odor-based conditioned associative task in rats. *Neuroscience* 95: 691-703.

6 Zusammenfassende Diskussion

6.1 Diskussion

6.1.1 Beurteilung der verwendeten Aufgabenstellungen

Ziel der vorliegenden Arbeit war die Untersuchung der Rolle des OPFC beim Lernen verschiedener Stimulus-Belohnungs-Beziehungen. Zur Charakterisierung der Funktion des OPFC wurden Ratten in Skinnerboxen in zwei unterschiedlichen Aufgabenstellungen trainiert. In der nicht-räumlichen Diskriminationsaufgabe in den Experimenten 1 und 3 zeigten zwei verschiedene Helligkeitsstufen des instruktiven Stimulus die zu erwartende Belohnungsstärke an, während in der räumlichen Diskriminationsaufgabe in Experiment 2 die zwei verschiedenen Positionen der beiden Lampen, die als räumlich-visuelle Stimuli dienten, die zu erwartende Belohnungsstärke anzeigten. D. h. in der nicht-räumlichen Diskriminationsaufgabe wurden nicht-räumliche visuelle Stimuli und in der räumlichen Diskriminationsaufgabe räumliche visuelle Stimuli verwendet.

In anderen Aufgabenstellungen, wie z. B. in Labyrinth-Aufgaben (Corwin *et al.*, 1994; De Bruin, 1994; Eichenbaum *et al.*, 1983; Kolb *et al.*, 1983; Ragozzino und Kesner, 1999), in olfaktorischen Diskriminations- und verzögerten Nichtübereinstimmungsaufgaben (Eichenbaum *et al.*, 1980; 1983; Ferry *et al.*, 2000; Otto und Eichenbaum, 1992; Ramus und Eichenbaum, 2000; Schoenbaum *et al.*, 1998; 1999; 2002) oder in Tastendruckaufgaben (Kolb *et al.*, 1974; Nonneman *et al.*, 1974; Wilcott, 1981; Yonemori *et al.*, 2000) wurden zur Untersuchung der Funktion des OPFC lediglich die Anzahl der korrekten oder fehlerhaften Antworten herangezogen. Im Unterschied zu diesen Aufgabenstellungen ermöglichten die in der vorliegenden Arbeit verwendeten Aufgabenstellungen eine sehr differenzierte Analyse von subtilen Veränderungen des instrumentellen Lernverhaltens bei Ratten, da zahlreiche verschiedene Parameter aufgenommen wurden, wie korrekte und diverse Arten fehlerhafter Antworten und zusätzlich verschiedene Latenzzeiten. Die verwendeten Aufgabenstellungen waren v. a. deswegen sensitiv, weil Latenzzeiten gemessen wurden. Mit diesen Aufgabenstellungen war es daher möglich, komplexe sensomotorische Integrationsleistungen an Ratten zu untersuchen, wie sie in vergleichbaren Aufgabenstellungen auch bei Menschen (Frith und Done, 1986) und bei infrahumanen Primaten (Hollerman *et al.*, 1998; Kubota und Komatsu, 1985; Rolls *et al.*, 1996; Schultz *et al.*, 1998; 2000; Tremblay und Schultz, 1999) verwendet werden.

Beurteilung der nicht-räumlichen Diskriminationsaufgabe

Zwei Kenngrößen mit unterschiedlicher Sensitivität wurden zur Charakterisierung des instrumentellen Lernverhaltens verwendet: 1. die prozentuale Verteilung der korrekten und fehlerhaften Antworten und 2. die Reaktionszeiten (RT) und daraus abgeleitete Größen. Zur Berechnung der Verteilung der korrekten und fehlerhaften Antworten wurden die Gesamtanzahl an Versuchsdurchgängen pro Versuchseinheit (\pm SEM) und die korrekten, verfrühten und verspäteten Antworten für jede Stimulus-Belohnungs-Beziehung herangezogen. Nach der Akquisition lagen bei beiden Experimenten die korrekten Antworten bei 83 – 90 %. Dies übertrifft die Werte, die in vergleichbaren Aufgabenstellungen gemessen wurden (Brown und Bowman, 1995; Hauber *et al.*, 2000; 2001). Diese Werte sind auf die verbesserte anfängliche Habituations-Prozedur zurück zu führen, die dazu beitrug, dass alle Tiere außerordentlich rasch und gut die Aufgabe erlernten.

Außerdem waren die RT bei dem Stimulus, der die geringere Belohnungsstärke anzeigte, signifikant länger als bei dem Stimulus, der die höhere Belohnungsstärke anzeigte. Die Subtraktion beider Werte resultierte in einer „positiven“ RT-Differenz. Die RT-Differenz war ein sensibler Parameter zur Charakterisierung der diskriminativen Steuerung instrumentellen Verhaltens durch verschiedene Stimulus-Belohnungs-Beziehungen. Die „positiven“ RT-Differenzen von $\sim +45$ ms nach der Akquisition entsprachen denen in vergleichbaren Aufgabenstellungen (Brown und Bowman, 1995; Hauber *et al.*, 2000; 2001).

Beurteilung der räumlichen Diskriminationsaufgabe

Auch in dieser Aufgabenstellung wurden zwei Kenngrößen mit unterschiedlicher Sensitivität zur Charakterisierung des instrumentellen Lernverhaltens herangezogen: 1. die prozentuale Verteilung der korrekten und fehlerhaften Antworten und 2. die verschiedenen Latenzzeiten und daraus abgeleitete Größen. Zur Berechnung der Verteilung der korrekten und fehlerhaften Antworten wurden die Gesamtanzahl an Versuchsdurchgängen pro Versuchseinheit (\pm SEM) und die korrekten, falschen, ausgelassenen und verspäteten Antworten für jede Stimulus-Belohnungs-Beziehung herangezogen.

In der räumlichen Diskriminationsaufgabe wurden drei verschiedene Latenzzeiten gemessen: die Antwortzeit (RL) vom Beginn des Versuchsdurchgangs bis zum Drücken der Taste, die Tasten-Druckzeit (LPD) vom Drücken bis zum Loslassen der Taste und die Futter-Annäherungszeit (FAL) vom Loslassen der Taste bis zum Beginn des Fressens. Die Analyse der RL, LPD und FAL Daten zeigte korrespondierende Änderungen dieser drei Latenzzeiten bei allen Behandlungsgruppen während des gesamten Experiments. Dies deutet darauf hin,

dass alle drei Latenzzeiten die gleichen neuronalen Prozesse reflektieren, die dem Verhalten zugrunde liegen. Da die Präsentation aller drei Latenzzeiten somit redundante Informationen liefern würde, wird im Folgenden lediglich detaillierter auf eine Latenzzeit eingegangen, der Verlauf der anderen beiden Latenzzeiten ist im Anhang dargestellt (Abb. 7.2 und 7.3). Es wurden die Daten der LPD für die Ergebnisdarstellung ausgewählt, da die RL und FAL Daten im Allgemeinen weniger sensitiv sind als die LPD Daten: die RL und FAL Daten zeigen eine größere Variabilität aufgrund der nicht vermeidbaren größeren Unterschiede der Körperposition zur jeweiligen Taste bzw. zur Futteröffnung (Robbins *et al.*, 1993).

Die LPD bei dem Stimulus, der die geringere Belohnungsstärke anzeigte, waren signifikant länger als bei dem Stimulus, der die höhere Belohnungsstärke anzeigte. Die Subtraktion beider Werte resultierte in einer „positiven“ LPD-Differenz. Die LPD-Differenz war ein sensitiver Parameter zur Charakterisierung der diskriminativen Steuerung instrumentellen Verhaltens durch verschiedene Beziehungen zwischen den Positionen der Tasten bzw. Stimuli und den Belohnungsstärken. Somit ist die räumliche Diskriminationsaufgabe eine sensitive Aufgabenstellung zur Untersuchung der Rolle des OPFC bei der Steuerung instrumentellen Verhaltens durch die Erwartung verschiedener Belohnungsstärken. Die LPD-Differenzen von $\sim +200$ ms nach der Akquisition waren drei- bis vierfach höher als die in vergleichbaren Aufgabenstellungen (Brown und Bowman, 1995; Hauber *et al.*, 2000; 2001) und die in der nicht-räumlichen Diskriminationsaufgabe der Experimente 1 und 3.

Beurteilung der Habituations-Prozedur

Eine methodische Errungenschaft der vorliegenden Arbeit war die Standardisierung und Verbesserung der Habituations-Prozedur. Die Habituations-Prozedur diente dazu, allen Ratten die Futteröffnung und Tasten zu präsentieren und das Tasten-Drücken an sich so schnell und gut wie möglich beizubringen. Die Standardisierung und Verbesserung der Habituations-Prozedur hatte u. a. eine Verringerung der Anzahl an Habituations-Schritten und damit eine Verkürzung der Habituations- und anschließenden Erlern-Phase zur Folge: in früheren Arbeiten mit einer ähnlichen Aufgabenstellung wurde die Habituation in zehn Einzelschritte unterteilt und es benötigte insgesamt zwei Monate, bis die Tiere die endgültige Aufgabenstellung beherrschten (Bohn, 1999; Giertler, 2000). In Experiment 1 der vorliegenden Arbeit wurden die Ratten bereits in nur fünf Einzelschritten innerhalb von neun Tagen habituiert und nach weiteren zwanzig Tagen Erlern-Phase führten die Ratten die endgültige Aufgabenstellung mit bereits durchschnittlich 85 % korrekten Antworten durch. In den Experimenten 2 und 3 bestand die Habituation nur noch aus vier Einzelschritten und die Anzahl der dafür benötigten Tage konnte weiter reduziert werden. Weitere wesentliche Vorteile der

Verbesserung und Standardisierung der Habituations-Prozedur waren, dass allen Tieren das Tasten-Drücken beigebracht und die starken inter-individuellen Schwankungen im Verhalten während der anschließenden Erlern-Phase ausgeräumt werden konnten. Dies ermöglichte Untersuchungen des Verhaltens auch in der Erlern-Phase.

Mit der verbesserten und standardisierten Habituations-Prozedur konnte ab Experiment 2 gearbeitet werden. Dadurch war die Untersuchung der Rolle des OPFC beim Erlernen von Stimulus-Belohnungs-Beziehungen in der räumlichen Diskriminationsaufgabe möglich.

6.1.2 Beurteilung von Läsionen und Mikroinfusionen

Sehr viele bisherige Erkenntnisse zur Funktion des OPFC bei instrumentellen Lernvorgängen wurden durch elektrophysiologische Studien (Alvarez und Eichenbaum, 2002; Aou *et al.*, 1983; Hikosaka und Watanabe, 2000; Kubota und Komatsu, 1985; Lipton *et al.*, 1999; Ramus und Eichenbaum, 2000; Rolls *et al.*, 1999; Schoenbaum *et al.*, 1998; 1999; 2000; Schultz *et al.*, 1998; 2000; Thorpe *et al.*, 1983; Tremblay und Schultz, 1999, 2000a; b; Yonemori *et al.*, 2000) oder durch bildgebende Verfahren (Elliott *et al.*, 1999; 2000; Frey und Petrides, 2000; O'Doherty *et al.*, 2000a; b; 2001; 2002; Rogers *et al.*, 1999) gewonnen. Daten aus elektrophysiologischen Studien oder bildgebenden Verfahren sind jedoch korrelativ und geben keine Hinweise, ob die betreffende Struktur für die Verhaltensanpassung essentiell ist. Mit Läsions-Studien wie in den Experimenten 1 und 2 der vorliegenden Arbeit kann dies hingegen beispielsweise ermittelt werden.

Allerdings lassen auch Läsions-Studien keine Aussage hinsichtlich der beteiligten Neurotransmitter zu. Die lokale Applikation von Rezeptor-Liganden und anschließende Messung des Verhaltens hingegen ist eine sehr spezifische Methode zum Nachweis der Funktion eines bestimmten Rezeptortyps oder Neurotransmitters in einer eng umschriebenen Gehirnregion. Daher wurden im abschließenden Experiment 3 der vorliegenden Arbeit erstmals Mikroinfusionen mit NMDA-Rezeptor-Antagonisten in den OPFC von Ratten zur Untersuchung ihrer Funktion bei instrumentellen Lernvorgängen durchgeführt.

Beurteilung der NMDA-Läsionen des OPFC

Die NMDA-Läsionen im OPFC der Ratten in den Experimenten 1 und 2 waren im Allgemeinen groß und umfassten im Durchschnitt ca. 80 % des OPFC in beiden Hemisphären. Das Ausmaß und die Lokalisierung der Läsionen waren vergleichbar mit NMDA-Läsionen des OPFC, die Ferry und Kollegen (2000), Gallagher und Kollegen (1999) und Schoenbaum und Kollegen (2002) mit ähnlichen NMDA-Konzentrationen und Injektionsstellen bei Ratten durchführten. Um auszuschließen, dass mechanische

Schädigungen durch die stereotaktischen Operationen bzw. die vier Injektionen pro Hemisphäre für mögliche Verhaltensdefizite verantwortlich waren, wurde je eine nicht operierte Gruppe zusätzlich in den Experimenten 1 und 2 untersucht. Die Ergebnisse zeigten, dass die scheinläsionierten und nicht operierten Ratten sich in keinem Parameter während der gesamten Experimente unterschieden. Außerdem wiesen die mit Cresylechtviolett gefärbten Gehirnschnitte der scheinläsionierten Ratten keine mechanischen Schädigungen im OPFC auf. Somit konnten Beeinträchtigungen im Verhalten der Tiere aufgrund der Operationen und der vier Injektionen pro Hemisphäre ausgeschlossen werden.

Beurteilung der Mikroinfusionen in den OPFC

Da der OPFC ein relativ lang gestreckter Gehirnbereich ist, wurden die Substanzen in der vorliegenden Arbeit in einem Volumen von 0,7 µl pro Seite appliziert. Dieses Volumen orientierte sich an den Angaben von Studien mit vergleichbaren Strukturen (Baldwin *et al.*, 2000; Swerdlow *et al.*, 1992; Zhang *et al.*, 1997). Außerdem wurden Vorversuche zu Experiment 3 durchgeführt, um eine präzisere Aussage über die Substanzdiffusion nach den Mikroinfusionen machen zu können. Bei diesen Methylenblau-Injektionen wurde beobachtet, dass die Farbtropfen sich in einem Großteil des OPFC ausbreiteten, dass die Farbtropfen sich auf den OPFC beschränkten und dass die Farbtropfen ungefähr konzentrisch um die Kanülenspitzen lokalisiert waren, mit einer leichten Tendenz in dorsaler Richtung. Somit konnte also davon ausgegangen werden, dass die injizierte Substanz in einem Großteil des OPFC ihre Wirkung entfalten konnte. Allerdings sollte beachtet werden, dass sich für jede Substanz ein etwas anderes Diffusionsverhalten aufgrund unterschiedlicher lipophiler Eigenschaften ergibt (Ahlenius *et al.*, 1990), und daher mit diesen Vorversuchen keine Aussage über die exakte Substanzdiffusion möglich ist.

Insgesamt erhielten die Tiere vier Mikroinjektionen, d. h. eine Schein-Mikroinfusion und drei Vehikel- bzw. Substanz-Mikroinfusionen. Erfahrungsgemäß tolerieren Tiere fünf bis sechs Mikroinfusionen ohne Verhaltensauffälligkeiten. In der vorliegenden Arbeit wurden bei keinem der Tiere Auffälligkeiten im Spontanverhalten, Körpergewichts-Veränderungen oder starke Abweichungen im konditionierten Verhalten zu irgendeinem Zeitpunkt des Experiments beobachtet. Somit sind die erhaltenen Ergebnisse verlässlich.

Die lokale Applikation von Substanzen hat den Nachteil der sehr aufwändigen Handhabung. In früheren Arbeiten mit einer ähnlichen Aufgabenstellung zeigte sich, dass die Mikroinfusionen für die Tiere offensichtlich nicht stressfrei waren, da sich die RT bereits nach Kontroll-Mikroinfusionen bei allen Tieren verlängerten (Bohn, 1999; Giertler, 2000). Daher wurde in der vorliegenden Arbeit eine verbesserte Prozedur eingeführt, mit dem Erfolg, dass

die durch die Mikroinfusions-Prozedur ausgelöste Stressreaktion vermindert werden konnte und somit keinen Einfluss mehr auf das messbare Verhalten ausübte.

6.1.3 Übersicht über die Verhaltensergebnisse

Im Folgenden (Tab. 6.1) sind die Verhaltensergebnisse der Experimente 1 – 3 zusammengefasst. Diese Daten werden in den folgenden Unterkapiteln genauer beschrieben und diskutiert. Dabei wird in erster Linie nach den verschiedenen Lernphasen und erst in zweiter Linie nach den verschiedenen Aufgabenstellungen vorgegangen. Dadurch ergeben sich an einigen Stellen teilweise Überschneidungen.

Tab. 6.1. Zusammenfassung der Verhaltensergebnisse aus den Experimenten 1 - 3.

Exp.	Aufgabe	Behandlung	Akquisition	Lernphasen			
				Retrieval	Reversal	Shift / Re-shift	Extinktion
1	Nicht-räumliche Diskriminationsaufgabe	Läsion	n.u.	–	+	n.u.	(+)
2	Räumliche Diskriminationsaufgabe	Läsion	–	n.u.	–	–	–
3	Nicht-räumliche Diskriminationsaufgabe	Mikroinfusion	n.u.	n.u.	+	n.u.	n.u.

n.u.: diese Lernphase wurde nicht untersucht

–: kein Behandlungseffekt

+: Behandlungseffekt

(+): Behandlungseffekt (vorläufige Ergebnisse)

6.1.4 Der orbitale präfrontale Kortex und Erlernen neuer Stimulus-Belohnungs-Beziehungen

Die Rolle von OPFC-Läsionen beim Erlernen von Stimulus-Belohnungs-Beziehungen wurde in der räumlichen Diskriminationsaufgabe in Experiment 2 untersucht. Hierbei ließen sich keine Defizite der OPFC-läsionierten Ratten feststellen.

OPFC-läsionierte Ratten und Kontrolltiere zeigten eine vergleichbare Zunahme an korrekten Antworten während der Akquisitionsphase. Dies deutet darauf hin, dass OPFC-läsionierte Ratten offensichtlich keine sensomotorischen Defizite aufwiesen, die diese Tiere bei der Ausführung der Aufgabe hätten beeinträchtigen können. Nach der Akquisition betrug die korrekten Antworten bei der Position des Stimulus, die die hohe Belohnungsstärke anzeigte,

annähernd 100 %, und bei der anderen Position ungefähr 50 %. Somit entwickelten die Tiere offensichtlich eine Seitenpräferenz zu der Position der Taste bzw. des Stimulus, die die hohe Belohnungsstärke anzeigte.

Die LPD und LPD-Differenzen der OPFC-läsionierten Ratten unterschieden sich nicht von denen der Kontrolltiere. Dies weist darauf hin, dass das instrumentelle Verhalten der Tiere mit und ohne Läsion des OPFC in gleicher Weise durch die beiden unterschiedlichen Stimulus-Belohnungs-Beziehungen gesteuert wurde. Daraus geht hervor, dass der OPFC bei Ratten scheinbar nicht am Erlernen von Beziehungen zwischen verschiedenen räumlich-visuellen Stimuli und Belohnungsstärken beteiligt ist.

Diese Ergebnisse erhärten und erweitern Daten aus anderen Studien: OPFC-läsionierte Ratten sind in der Lage, verschiedene räumliche Aufgabenstellungen zu erlernen, z. B. eine egozentrische 8-Arm-Labyrinth-Aufgabe, d. h. eine Aufgabe, bei der die räumliche Orientierung anhand einer inneren „Landkarte“ erfolgt, und auch allozentrische „cheeseboard“-Aufgaben, d. h. Aufgaben, bei der eine räumliche Orientierung anhand von äußeren Landmarken erfolgt, z. B. anhand von Gegenständen im Raum (Corwin *et al.*, 1994; Ragozzino und Kesner, 1999). Ebenso erlernen Ratten nach Inaktivierung des OPFC mit einem Lokalanästhetikum eine räumliche Tastendruck-Aufgabe vergleichbar schnell wie Kontrolltiere (De Bruin *et al.*, 2000).

Zusammen deuten diese Daten darauf hin, dass OPFC-Läsionen nicht die Fähigkeit von Ratten beeinträchtigen, Diskriminationsaufgaben mit räumlich-visuellen Stimuli zu erlernen.

6.1.5 Der orbitale präfrontale Kortex und Abruf erlernter Stimulus-Belohnungs-Beziehungen

Die Rolle von Läsionen des OPFC beim Abruf von bereits erlernten Stimulus-Belohnungs-Beziehungen wurde in der nicht-räumlichen Diskriminationsaufgabe in Experiment 1 untersucht. Dabei waren die OPFC-läsionierten Tiere nicht beeinträchtigt.

Die Ergebnisse zeigen, dass sich die Anzahl der korrekten Antworten nach der Läsion des OPFC nicht veränderte. Daraus geht hervor, dass die Läsionen keine unspezifischen Beeinträchtigungen, z. B. sensomotorischer Art, hervorriefen, die zu Störungen des instrumentellen Verhaltens hätten führen können.

Darüber hinaus war die Abhängigkeit der RT von der Stimulus-assoziierten Belohnungsstärke postoperativ unverändert. Bereits an den ersten postoperativen Versuchstagen waren die RT-Differenzen vergleichbar positiv wie an den letzten präoperativen Versuchstagen, sodass von einer intakten diskriminativen Steuerung des instrumentellen Verhaltens entsprechend der erwarteten Belohnungsstärken ausgegangen werden konnte. Diese Ergebnisse entsprechen

auch einer neueren Studie von Schoenbaum und Kollegen (2002), die keinen Unterschied beim Abruf bereits erlernter Stimulus-Belohnungs-Beziehungen bei Ratten mit OPFC-Läsionen in einer olfaktorischen Go-/no-go-Diskriminationsaufgabe feststellen konnten. Insgesamt sprechen die Daten somit gegen eine Beteiligung des OPFC beim Abruf von präoperativ erlernten Stimulus-Belohnungs-Beziehungen.

6.1.6 Der orbitale präfrontale Kortex und Lernen umgekehrter Stimulus-Belohnungs-Beziehungen

Untersuchungen zur Rolle des OPFC beim Lernen von umgekehrten Stimulus-Belohnungs-Beziehungen wurden in allen drei Experimenten der vorliegenden Arbeit durchgeführt (in Experiment 1 mit Läsionen des OPFC und der nicht-räumlichen Diskriminationsaufgabe, in Experiment 2 mit Läsionen des OPFC und der räumlichen Diskriminationsaufgabe und in Experiment 3 mit Mikroinfusionen in den OPFC und der nicht-räumlichen Diskriminationsaufgabe).

Der OPFC beim *reversal* in der nicht-räumlichen Diskriminationsaufgabe

Erste Hinweise für eine Beteiligung des OPFC beim Lernen von umgekehrten Stimulus-Belohnungs-Beziehungen (*reversal*) lieferte Experiment 1, in dem die nicht-räumliche Diskriminationsaufgabe zum Einsatz kam und der OPFC läsiert wurde.

Nach Umkehr der Stimulus-Belohnungs-Beziehungen behielten alle Behandlungsgruppen zunächst ihr ursprüngliches instrumentelles Verhalten bei, denn die Antworten waren weiterhin bei dem Stimulus signifikant schneller, der in der vorherigen Erlernphase die höhere Belohnungsstärke angezeigt hatte. Deshalb waren in der frühen Phase des *reversals* die RT-Differenzen in allen Behandlungsgruppen negativ. Ebenso behielten die Kontrolltiere ihre ursprüngliche Antwortstrategie in einer vergleichbaren Aufgabenstellung in 9-Loch-Boxen in der frühen Phase des *reversals* bei (Brown und Bowman, 1995). Interessanterweise war dieses Verhalten bei den OPFC-läsierten Ratten zu Beginn des *reversals* signifikant stärker ausgeprägt. Dies deutet darauf hin, dass die Flexibilität des Verhaltens bei Tieren mit OPFC-Läsionen im Vergleich zu Kontrolltieren eingeschränkt war. Diese Daten entsprechen der Studie von Schoenbaum und Kollegen (2002), in der Ratten mit OPFC-Läsionen deutlich mehr Versuchsdurchgänge beim ersten Umlernen von erlernten Stimulus-Belohnungs-Beziehungen in einer olfaktorischen Go-/no-go-Diskriminationsaufgabe benötigten als Kontrolltiere. Weiterhin stimmt dies mit Messergebnissen an Affen und Menschen mit Schädigungen des OPFC überein, wonach diese in der frühen Phase des Umlernens von Stimulus-Belohnungs-Beziehungen beeinträchtigt sind. D. h. die Anpassung des ziel-

gerichteten Verhaltens an diese geänderten Stimulus-Belohnungs-Beziehungen ist in der frühen Phase des Umlernens gestört (Dias *et al.*, 1997; Elliott *et al.*, 2000; Kubota und Komatsu, 1985; Rolls, 1996; 1997; Rolls *et al.*, 1996). Allerdings waren Ratten mit OPFC-Läsionen in einer olfaktorischen Go-/no-go-Diskriminationsaufgabe beim ersten Umlernen nicht beeinträchtigt. Erst beim zweiten Umlernen machten OPFC-läsionierte Ratten mehr Fehler als Kontrolltiere (Ferry *et al.*, 2000). Darüber hinaus zeigten Ratten mit einer reversiblen Inaktivierung des OPFC durch ein Lokalanästhetikum ein intaktes Lernverhalten während des *reversals* in einer räumlichen Tastendruckaufgabe (De Bruin *et al.*, 2000). Insgesamt lassen diese Studien vermuten, dass der OPFC am Lernverhalten in frühen Phasen des *reversals* beteiligt ist, die Beteiligung des OPFC jedoch von der Art der Aufgabenstellung abhängig ist. Weitere Unterstützung für eine Rolle des OPFC bei Ratten beim Umlernen von Stimulus-Belohnungs-Beziehungen liefern neuere elektrophysiologische Studien: nach Umkehrung der Stimulus-Belohnungs-Beziehungen nahm die korrelierte Feuerrate von Neuronen im OPFC bei Ratten zu. Die korrelierte Feuerrate ist ein Maß für die Intensität neuronaler Interaktionen. Daher interpretierten die Autoren der Studie die Ergebnisse folgendermaßen: während des *reversals* wurden neue Stimulus-Belohnungs-Assoziationen im OPFC, also neue neuronale Interaktionen, gebildet. Da die korrelierte Feuerrate zunahm, mussten außerdem die bisherigen neuronalen Interaktionen, also ursprünglichen Assoziationen im OPFC, erhalten bleiben, andernfalls wäre es zu einer Abnahme der korrelierten Feuerrate gekommen. Ihrer Interpretation zufolge könnte durch die parallele Repräsentation beider Stimulus-Belohnungs-Beziehungen der Vergleich zwischen den ursprünglichen und den neuen umgekehrten Stimulus-Belohnungs-Beziehungen erleichtert und somit eine schnellere Verhaltensadaptation ermöglicht werden (Schoenbaum *et al.*, 2000; 2002). Mit dieser Interpretation lässt sich folgende Studie erklären: Ratten mit Läsionen des OPFC wiesen nach dem ersten *reversal* eine erhöhte Fehlerrate auf. Nach der oben genannten Hypothese wurde dieses Ergebnis damit erklärt, dass die OPFC-läsionierten Tiere aufgrund des fehlenden OPFC nicht in der Lage waren, ursprüngliche und umgekehrte Stimulus-Belohnungs-Beziehungen zu vergleichen, und somit keine schnelle Verhaltensadaptation vornehmen konnten (Schoenbaum *et al.*, 2002). Diese Begründung könnte ebenso für das Verhalten der OPFC-läsionierten Tiere in der vorliegenden Arbeit angeführt werden.

In der späteren Phase des *reversals* wurden die RT-Differenzen bei den Kontrolltieren zunehmend weniger negativ und wieder positiv bei den OPFC-läsionierten Ratten. Die Kontrolltiere lernten also überraschenderweise die umgekehrten Stimulus-Belohnungs-Beziehungen nicht innerhalb der sechzig Versuchseinheiten des *reversals*, während die

OPFC-läsionierten Ratten dazu in der Lage waren. Es war unwahrscheinlich, dass dieses langsame Lernverhalten der Kontrolltiere auf zufälligen Effekten beruhte, da die Lernkurven der nicht operierten und der scheinläsionierten Ratten sehr ähnlich waren. Prozedurale oder aufgabenspezifische Gründe könnten für dieses Ergebnis verantwortlich sein. Die Tatsache, dass die Ratten einem intensiven Training von 45 Versuchseinheiten mit den ursprünglichen Stimulus-Belohnungs-Beziehungen unterzogen wurden, könnte das langsame Umlernen erklären. Für ein langsames Umlernen von intensiv gelernten Aufgaben spricht auch folgender Befund: Kontrolltiere, die in einer vergleichbaren Aufgabenstellung getestet wurden, erreichten das Niveau der Diskrimination von verschiedenen Belohnungsstärken aus den vorhergehenden 21 Versuchseinheiten des *retrievals* auch nach zwanzig Versuchseinheiten des *reversals* nicht (Brown und Bowman, 1995). Ist die Phase des Erlernens kurz, kann offenbar wesentlich rascher umgelernt werden: in der räumlichen Diskriminationsaufgabe aus Experiment 2 zeigten die Kontrolltiere die LPD-Differenzen aus den sechs Versuchseinheiten der Akquisition bereits wieder nach nur sechs Versuchseinheiten des *reversals*. Wie aus obiger Darstellung hervorgeht, lernten die OPFC-läsionierten Ratten die umgekehrten Stimulus-Belohnungs-Beziehungen in der späten Phase des *reversals* schneller als die Kontrolltiere. Dieser Befund war überraschend. Im Einklang mit diesen Ergebnissen steht eine neue Arbeit von Schoenbaum von Kollegen (2002), aus der hervorgeht, dass OPFC-läsionierte Tiere mehrere aufeinander folgende *reversals* in einer olfaktorischen Go-/no-go-Diskriminationsaufgabe zunehmend schneller lernten als Kontrolltiere. Als Begründung wurde angeführt, dass Tiere mit OPFC-Läsionen weniger Interferenz anfällig sind, d. h. bei diesen Tieren interferieren die bereits gelernten nicht mit den neu zu lernenden umgekehrten Stimulus-Belohnungs-Beziehungen. Somit kann sich das Umlernen bei OPFC-läsionierten Tieren schneller vollziehen. Diese Erklärung könnte auch für die hier erzielten Ergebnisse zutreffen. Allerdings ist die Übertragbarkeit dieser Interpretation aufgrund methodischer Unterschiede der beiden Experimente nur eingeschränkt möglich.

Generell sprechen die Daten der vorliegenden Arbeit dafür, dass nach Läsionen des OPFC das Umlernen von ursprünglichen Stimulus-Belohnungs-Beziehungen verändert zu sein scheint, wobei Abweichungen sowohl in frühen als auch in späten Phasen des Umlernens auftreten.

NMDA-Rezeptoren im OPFC beim *reversal* in der nicht-räumlichen Diskriminationsaufgabe

In Experiment 3 wurde mit Hilfe der nicht-räumlichen Diskriminationsaufgabe der Frage nachgegangen, inwieweit NMDA-Rezeptoren im OPFC von Ratten am Lernen von

umgekehrten Stimulus-Belohnungs-Beziehungen beteiligt sind. Nach Blockade der NMDA-Rezeptoren des OPFC wurden Beeinträchtigungen im Lernverhalten festgestellt.

Bei den mit Vehikel behandelten Ratten blieben die Verteilung der korrekten und fehlerhaften Antworten und die RT bei beiden Stimulus-Belohnungs-Beziehungen unbeeinflusst von der Mikroinfusion, d. h. die Mikroinfusions-Prozedur veränderte die Verteilung der korrekten und fehlerhaften Antworten und die RT nicht. Allerdings waren die RT-Differenzen in der frühen Phase des *reversals* um 0 ms oder negativ, d. h. die Stimuli wurden weiterhin entsprechend ihrer ursprünglichen motivationalen Bedeutung interpretiert. In der späten Phase des *reversals* nahmen die RT-Differenzen zu und erreichten am Schluss wieder signifikant positive RT-Differenzen, was zeigt, dass die mit Vehikel behandelten Ratten lernten, ihr Verhalten an die umgekehrten Stimulus-Belohnungs-Beziehungen anzupassen.

Bei den mit AP5 behandelten Ratten blieb die Anzahl an korrekten Antworten und verspäteten Fehlern an den Mikroinfusionstagen im Vergleich zu den jeweiligen Tagen davor unverändert. Allerdings nahm die Anzahl an verfrühten Fehlern, d. h. an Antworten vor Präsentation des imperativen Stimulus, signifikant zu. Die Anzahl der gesamten Versuchsdurchgänge pro Versuchseinheit stieg in Folge ebenfalls an. Der Anstieg an verfrühten Fehlern trat unabhängig von der Stimulus-assoziierten Belohnungsstärke auf. Außerdem wurden die Antworten bei den mit AP5 behandelten Ratten unabhängig von der Stimulus-assoziierten Belohnungsstärke an den Mikroinfusionstagen schneller im Vergleich zu den entsprechenden Tagen davor. Trotzdem war das instrumentelle Verhalten hierbei weiterhin auf die jeweiligen belohnungsanzeigenden Stimuli gerichtet, denn die RT bei den beiden Stimulus-Belohnungs-Beziehungen waren weiterhin unterschiedlich, d. h. die RT-Differenzen lagen nicht bei ~ 0 ms. Auffallend war, dass die RT-Differenzen am Anfang des *reversals* von den mit AP5 behandelten Ratten signifikant negativer waren als die der Kontrolltiere. Dies deutet darauf hin, dass die Flexibilität des Verhaltens bei den mit AP5 behandelten Tieren im Vergleich zu den mit Vehikel behandelten Tieren eingeschränkt war. Diese Daten weisen Übereinstimmungen mit Ergebnissen aus diversen Studien auf, in denen es zunehmende Hinweise gibt, dass der OPFC in der frühen Phase des *reversals* am Umlernen von Stimulus-Belohnungs-Beziehungen beteiligt ist und zielgerichtetes Verhalten an geänderte Stimulus-Belohnungs-Beziehungen anpasst (Dias *et al.*, 1997; Elliott *et al.*, 2000; Kubota und Komatsu, 1985; Rolls, 1996; 1997; Rolls *et al.*, 1996; Schoenbaum *et al.*, 2002).

Auffallend war, dass die Anpassung des instrumentellen Verhaltens an die umgekehrten Stimulus-Belohnungs-Beziehungen bei den mit AP5 behandelten Tiere während des gesamten *reversals* beeinträchtigt war, also sowohl in der frühen als auch in der späten Phase des

reversals. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass die mit AP5 behandelten Ratten nicht in der Lage waren, die umgekehrten Stimulus-Belohnungs-Beziehungen zu lernen. Dies könnte mit den Daten aus folgenden Studien erklärt werden: nach Umkehrung der Stimulus-Belohnungs-Beziehungen in einer olfaktorischen Go-/no-go-Diskriminationsaufgabe nimmt die korrelierte Feuerrate von Neuronen im OPFC bei Ratten zu. Als Erklärung wurden neuronale Plastizitätsvorgänge angeführt, d. h. Änderungen der funktionalen Interaktionen von Neuronen, die mit Lernen einhergehen. Besonders dem Glutamat-Rezeptor-Subtyp der NMDA-Rezeptoren wird eine Rolle bei neuronaler Plastizität, LTD und LTP, Lernen und Gedächtnis zugeschrieben (Cain, 1997; Collingridge und Watkins, 1994; Nakanishi, 1992). Auch konnte gezeigt werden, dass LTP durch AP5 *in vivo* (Morris, 1989) und *in vitro* (Gean *et al.*, 1993; Hrabetova und Sacktor, 1997) blockiert werden kann. Da Mikroinfusionen von AP5 in den OPFC während des *reversals* das Lernen der umgekehrten Stimulus-Belohnungs-Beziehungen behinderten, könnte die Blockade von NMDA-Rezeptoren im OPFC durch AP5 die NMDA-Rezeptor-vermittelte neuronale Plastizität, die verschiedenen Lernprozessen zugrunde liegt, beeinträchtigen. Außerdem könnte die Integration von afferenten Informationen im OPFC hinsichtlich des Wertes einer Belohnung, was zur Steuerung des zielgerichteten Verhaltens benötigt wird, beeinflusst werden (Schoenbaum *et al.*, 2000). Insbesondere die glutamaterge Projektion von der basolateralen Amygdala zum OPFC wird als bedeutend angesehen, da die Interaktion dieser beiden Strukturen für die Steuerung von Verhalten basierend auf dem motivationalen Wert von belohnungsanzeigenden Stimuli essentiell zu sein scheint (Baxter *et al.*, 2000; Schoenbaum *et al.*, 1999; 2000).

Insgesamt liefern diese Daten einen Hinweis darauf, dass die Stimulation von NMDA-Rezeptoren im OPFC neuronale Plastizitätsvorgänge vermitteln könnte, die den Lernvorgängen von Stimulus-Belohnungs-Beziehungen während des *reversals* zugrunde liegt.

Der OPFC beim *reversal* in der räumlichen Diskriminationsaufgabe

Nicht nur beim Erlernen, sondern auch beim Umlernen bereits erlernter Stimulus-Belohnungs-Beziehungen waren bei Verwendung der räumlichen Diskriminationsaufgabe keinerlei Unterschiede zwischen den OPFC-läsionierten und Kontrolltieren feststellbar:

Während der Umkehr der Beziehungen zwischen den beiden räumlich-visuellen Stimuli und Belohnungsstärken änderten sich die korrekten Antworten und LPD bei den Kontroll- und OPFC-läsionierten Ratten in gleichem Ausmaß. Zusammen deuten diese Daten darauf hin, dass das instrumentelle Verhalten aller Behandlungsgruppen nicht gewohnheitsmäßig (habituell) war, sondern auf die Stimulus-assoziierten Belohnungen gerichtet war: die Resultate zeigen, dass die Antworten schneller wurden auf die Position des Stimulus, die mit

der hohen Belohnungsstärke während des *reversals* belohnt wurde. Daher weisen die Daten darauf hin, dass der OPFC bei Ratten nicht an der Anpassung instrumentellen Verhaltens an Veränderungen der Beziehungen zwischen verschiedenen räumlich-visuellen Stimuli und Belohnungsstärken beteiligt ist.

Diese Messungen scheinen im Gegensatz zu früheren Studien zu stehen, da OPFC-Läsionen die Adaptation des Verhaltens auf Veränderungen von Stimulus-Belohnungs-Beziehungen beeinträchtigen (Elliott *et al.*, 2000; Ferry *et al.*, 2000; Rolls *et al.*, 1994; Rolls, 1996; Schoenbaum *et al.*, 2002). Allerdings diskutieren Eichenbaum und Kollegen (1983) und Ragozzino und Kesner (1999), dass Aufgabenunterschiede im Sinne von räumlich versus nicht-räumlich für diese Unterschiede verantwortlich sein könnten. Beispielsweise verursachen Läsionen des medialen PFC Verhaltensdefizite in räumlichen Diskriminationsaufgaben (z. B. Eichenbaum *et al.*, 1983; Kolb *et al.*, 1974; Ragozzino and Kesner, 1999), während Läsionen des OPFC Lernen von räumlichen *reversals* in einer so genannten „grice box“ (Kolb *et al.*, 1974; 1983; Nonneman *et al.*, 1974), einem so genannten „cheeseboard“ (Corwin *et al.*, 1994), einer Tastendruckaufgabe mit zwei Tasten (De Bruin *et al.*, 2000) und einem Y-Labyrinth (Eichenbaum *et al.*, 1983) nicht beeinträchtigen. Auf der anderen Seite gibt es konsistente Beweise, dass OPFC-Läsionen Beeinträchtigungen des Verhaltens in nicht-räumlichen Aufgabenstellungen hervorrufen (Elliott *et al.*, 2000; Ferry *et al.*, 2000; Meunier *et al.*, 1997; Rolls *et al.*, 1994; Rolls, 1996; Schoenbaum *et al.*, 2002). Darüber hinaus wurden Verhaltensänderungen beim *reversal* bei den OPFC-läsionierten Ratten in der nicht-räumlichen Diskriminationsaufgabe aus Experiment 1 gefunden.

Insgesamt wird zwar vermutet, dass der OPFC an der Steuerung instrumentellen Verhaltens basierend auf dem motivationalen Wert des Stimulus beteiligt ist (Übersicht in Schoenbaum und Setlow, 2001). In der vorliegenden Arbeit waren OPFC-läsionierte Ratten jedoch in der räumlichen Diskriminationsaufgabe in der Lage, das instrumentelle Verhalten nach einer Umkehr der Stimulus-Belohnungs-Beziehungen anzupassen. Dies könnte damit zusammen hängen, dass bei der räumlichen Diskriminationsaufgabe räumlich-visuelle Stimuli verwendet wurden, d. h. dass der visuelle Stimulus die belohnte der beiden Tasten anzeigte und die Position des Stimulus die damit verbundene Belohnungsstärke.

Somit scheint es von der Natur des Stimulus abzuhängen, ob der OPFC an der Anpassung von instrumentellem Verhalten an umgekehrte Stimulus-Belohnungs-Beziehungen beteiligt ist (nicht-räumlicher Stimulus) oder nicht (räumlicher Stimulus).

6.1.7 Der orbitale präfrontale Kortex und Lernen weiterer Änderungen von Stimulus-Belohnungs-Beziehungen

Der OPFC und Extinktion in der nicht-räumlichen Diskriminationsaufgabe

Ergänzend wurden einige Tests durchgeführt, um die Rolle des OPFC bei weiteren instrumentellen Lernprozessen zu untersuchen. Zunächst wurde in der nicht-räumlichen Diskriminationsaufgabe ermittelt, ob OPFC-Läsionen einen Effekt auf das instrumentelle Lernverhalten während der Extinktion haben, d. h. wenn das konditionierte Verhalten der Tiere nicht mehr belohnt wird, die Stimuli also keine Belohnungen mehr ankündigen. Die vorläufigen Daten sprechen für eine mögliche Beteiligung des OPFC an diesen Lernvorgängen.

Die Ergebnisse (siehe Abb. 7.1) zeigen, dass die Anzahl an Versuchsdurchgängen und korrekten Antworten bei den Kontroll- und OPFC-läsionierten Ratten gleichermaßen abnahm. Dies konnte bereits in anderen Studien gezeigt werden (De Bruin *et al.*, 2000; Kolb *et al.*, 1974). Somit beruhte das Verhalten aller Behandlungsgruppen nicht auf Gewohnheit, d. h. war nicht habituell, sondern war von dem Ergebnis, d. h. der (nicht) erhaltenen Belohnung, abhängig.

Während der Extinktion wurde außerdem gemessen, dass sich die RT-Differenzen der OPFC-läsionierten und Kontrolltiere in der späten Phase der Extinktion signifikant unterschieden. Die Verhaltenseffekte der OPFC-Läsionen traten also erst verzögert auf. Dementsprechend waren Ratten mit inaktiviertem OPFC erst in späteren Phasen der Extinktion in einer Tastendruckaufgabe beeinträchtigt (De Bruin *et al.*, 2000). Bei den OPFC-läsionierten Ratten waren die Antworten bei dem Stimulus signifikant schneller, der vorher die höhere Belohnungsstärke anzeigte. D. h. die OPFC-läsionierten Ratten kehrten zu ihrem Verhalten entsprechend der früheren Stimulus-Belohnungs-Beziehungen zurück. Bei den beiden Kontrollgruppen wurde hingegen das entgegengesetzte Verhalten gemessen. Dieses Ergebnis könnte vermuten lassen, dass OPFC-Läsionen bei Ratten eine mangelnde Inhibition nicht mehr passender Antworten verursachen und somit ein perseverierendes Verhalten in späteren Phasen der Extinktion erleichtern. D. h. die OPFC-läsionierten Ratten können die einmal gelernten Stimulus-Belohnungs-Beziehungen nur erschwert ändern, ihre Verhaltensflexibilität ist also herabgesetzt.

Insgesamt weisen diese Ergebnisse auf eine Beteiligung des OPFC in einer späteren Phase der Extinktion hin. Allerdings sind diese Daten nur vorläufig aufgrund methodischer Schwierigkeiten und benötigen weitere experimentelle Bestätigung.

Shift, Re-shift, Extinktion in der räumlichen Diskriminationsaufgabe

In ergänzenden Untersuchungen wurde ermittelt, inwieweit Ratten mit OPFC-Läsionen ihr Verhalten an weitere Veränderungen von Stimulus-Belohnungs-Beziehungen in der räumlichen Diskriminationsaufgabe anpassen können. In diesen Lernphasen sind die OPFC-läsionierten Ratten nicht beeinträchtigt.

Während des *shifts*, *re-shifts* und der Extinktion änderten sich in gleichem Ausmaß bei den Kontroll- und OPFC-läsionierten Ratten die korrekten Antworten und LPD. Diese Daten deuten darauf hin, dass das instrumentelle Verhalten aller Behandlungsgruppen nicht gewohnheitsmäßig (habituell) war, sondern auf die entsprechenden Belohnungen gerichtet war. Allerdings konnte in diesem Experiment im Vergleich zu der nicht-räumlichen Diskriminationsaufgabe aus Experiment 1 oder den Arbeiten von De Bruin und Kollegen (2000) und Kolb und Kollegen (1974) während der Extinktion kein Unterschied der LPD zwischen OPFC-läsionierten und Kontrolltieren gemessen werden. Somit liefern diese Daten einen weiteren Hinweis darauf, dass der OPFC bei Ratten nicht an der Anpassung des instrumentellen Verhaltens an veränderte Beziehungen zwischen verschiedenen räumlich-visuellen Stimuli und Belohnungsstärken beteiligt ist. D. h. Läsionen des OPFC führen nicht generell zu einer Inflexibilität des Verhaltens, sondern die Beteiligung des OPFC bei der Anpassung des instrumentellen Verhaltens an veränderte Stimulus-Belohnungs-Beziehungen ist abhängig von der Art der verwendeten Stimuli: eine Beteiligung des OPFC konnte in der vorliegenden Arbeit lediglich bei nicht-räumlichen Stimuli, aber nicht bei räumlichen Stimuli gemessen werden (siehe auch Unterkapitel 6.1.6).

6.2 Ausblick

Die vorliegende Arbeit ergab, dass der OPFC an der Flexibilität von Verhalten nach der Umkehr von Stimulus-Belohnungs-Beziehungen beteiligt ist, vorausgesetzt es werden nicht-räumliche Stimuli verwendet. Für die Zukunft wäre es wichtig, die Frage der Generalisierbarkeit zu klären. Dies könnte z. B. mit Hilfe von diversen weiteren Aufgabenstellungen erreicht werden, in denen die Rolle des OPFC nach der Umkehr von Stimulus-Belohnungs-Beziehungen untersucht wird.

In den hier durchgeführten Experimenten wurde die Rolle des OPFC bei verschiedenen instrumentellen Lernvorgängen analysiert. Allerdings wurde bisher nur mit zwei unterschiedlichen Stimulus-Belohnungs-Beziehungen gearbeitet. Es gibt jedoch Hinweise, dass der OPFC an der Prozessierung multipler Stimulus-Belohnungs-Beziehungen beteiligt ist. Da der OPFC also v. a. an komplexen Lernprozessen beteiligt zu sein scheint, wäre in weiter-

führenden Experimenten der Einsatz anspruchsvollerer Aufgabenstellungen, z. B. mit vielen verschiedenen Stimuli und Belohnungen, angesagt. Erste Schritte wurden dafür bereits unternommen, d. h. es wurden ein Mustergenerator mit neun einzeln anzusteuern Lampen entwickelt und unterschiedliche Flüssigkeiten als verschiedene Belohnungsarten gegeneinander getestet. Diese Ansätze müssten allerdings noch weiter verfeinert werden.

Alle oben vorgeschlagenen Versuche sollten außerdem bei einer NMDA-Rezeptor-Blockade im OPFC durchgeführt werden, um die Frage nach der Allgemeingültigkeit der NMDA-Rezeptor-vermittelten Plastizität im OPFC klären zu können. Da nicht nur NMDA-Rezeptoren an Lernprozessen im Gehirn beteiligt sind, sondern auch ein anderer wichtiger Subtyp der Glutamat-Rezeptoren, die AMPA-Rezeptoren, dabei eine wesentliche Rolle spielt, wären zusätzliche Untersuchungen durch Mikroinfusionen von AMPA-Rezeptor-Antagonisten zum besseren Verständnis der Lernvorgänge im OPFC im Zusammenhang mit Stimulus-Belohnungs-Beziehungen hilfreich.

Da Dopamin bei der Vorhersage belohnter Ereignisse in anderen Strukturen des Motivations-systems wichtig ist (Schultz *et al.*, 1998; 2000), sollte weiterhin überprüft werden, ob Dopamin an den Lernvorgängen im OPFC im Zusammenhang mit Stimulus-Belohnungs-Beziehungen beteiligt ist. Die dopaminerge Signalübermittlung im OPFC könnte durch Mikroinfusion von Dopamin-Rezeptor-Antagonisten gehemmt werden. Glutamat und Dopamin interagieren in einigen Strukturen des Motivations-schaltkreises (Burns *et al.*, 1994; Robbins und Everitt, 1996) und auch in anderen Strukturen des PFC (Baldwin *et al.*, 2002). Daher wäre es nach Untersuchung der einzelnen Funktionen von Glutamat und Dopamin im OPFC wichtig, die Interaktion von Glutamat und Dopamin im OPFC bei der Steuerung instrumentellen Verhaltens basierend auf dem motivationalen Wert von Stimuli zu messen.

In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass sich durch eine NMDA-Rezeptor-Blockade das Verhalten der Tiere veränderte. Interessant zu erfahren wäre daher, von welcher Struktur der OPFC diese glutamatergen Signale erhält. Als potentieller Kandidat käme dafür die basolaterale Amygdala in Frage, da diese Struktur und der OPFC nach Schoenbaum und Kollegen (1998; 1999; 2000) und Baxter und Kollegen (2000) bei der Ermittlung der belohnenden Qualitäten von Stimuli zusammenwirken. Diese Fragestellung könnte bei Ratten mit gekreuzten unilateralen Läsionen der basolateralen Amygdala und des OPFC und einer Durchtrennung der Verbindungen dieser beiden Strukturen, wodurch die Kommunikation dieser beiden Gehirnbereiche verhindert wird, untersucht werden.

6.3 Schlussfolgerungen

Der OPFC wird als Teil des Motivationsschaltkreises angesehen. Dieser neurale Schaltkreis ermittelt die belohnenden oder bedrohlichen Qualitäten von sensorischen Stimuli und nimmt die Selektion bzw. Adaptation des zielgerichteten Verhaltens entsprechend dem motivationalen Wert des Stimulus vor. Elektrophysiologische Daten aus verschiedenen Studien deuten darauf hin, dass im OPFC Stimulus-Belohnungs-Beziehungen repräsentiert sind, OPFC-Neurone zwischen verschiedenen belohnungsanzeigenden Stimuli diskriminieren und der relative motivationale Wert belohnungsanzeigender Stimuli im OPFC kodiert wird. Auf der Grundlage dieser Befunde wurde angenommen, dass der OPFC eine Rolle bei der Steuerung von zielgerichtetem Verhalten basierend auf den Stimulus-Belohnungs-Beziehungen spielen könnte (zur Übersicht: Schoenbaum und Setlow, 2001). Außerdem wird im Allgemeinen vermutet, dass der OPFC in verschiedenen Spezies eine bedeutende Rolle bei der Anpassung instrumentellen Verhaltens an Veränderungen von Stimulus-Belohnungs-Beziehungen spielt (z. B. Rolls, 1996; 2000; Schoenbaum und Setlow, 2001).

Bisher gibt es allerdings nur wenige Arbeiten, die die Rolle des OPFC von Ratten bei instrumentellen Lernvorgängen erforschen. Daher wurde in der vorliegenden Arbeit die Rolle des OPFC bei der Anpassung instrumentellen Verhaltens an verschiedene Veränderungen von Stimulus-Belohnungs-Beziehungen untersucht, ebenso wie neurochemische Mechanismen im OPFC, die diesen Lernvorgängen zugrunde liegen. Mit sensitiven Aufgabenstellungen zur Messung von instrumentellem, zielgerichtetem Verhalten wurde folgendes herausgefunden:

Die Ergebnisse zeigen, dass der OPFC nicht am Abruf von präoperativ erlernten Stimulus-Belohnungs-Beziehungen, aber an der Anpassung des instrumentellen Verhaltens nach Änderungen des motivationalen Wertes von Stimuli beteiligt ist. Insbesondere deuten die vorliegenden Ergebnisse darauf hin, dass NMDA-Rezeptoren im OPFC für die Lernprozesse nach einer Umkehr der Stimulus-Belohnungs-Beziehungen benötigt werden.

Entscheidend für eine Beteiligung des OPFC bei instrumentellen Lernvorgängen scheint ferner die Art des belohnungsanzeigenden Stimulus zu sein. Denn OPFC-läsionierte Ratten waren in der Lage, das instrumentelle Verhalten an verschiedene Änderungen von Stimulus-Belohnungs-Beziehungen anzupassen, wenn räumlich-visuelle Stimuli die Belohnungsstärke anzeigten. Somit scheint es von der Natur des Stimulus, d. h. räumlich oder nicht-räumlich, abzuhängen, ob OPFC-Läsionen die Fähigkeit von Ratten beeinträchtigen, ihr instrumentelles Verhalten entsprechend anzupassen.

Insgesamt deuten die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit daher auf eine differenzierte Rolle des OPFC bei instrumentellen Lernvorgängen hin: die Beteiligung des OPFC ist sowohl von

der Phase des instrumentellen Lernens als auch von der Art der verwendeten Aufgabenstellung abhängig. Darüber hinaus konnte erstmals eine Beteiligung von NMDA-Rezeptoren beim Umlernen von Stimulus-Belohnungs-Beziehungen nachgewiesen werden.

7 Anhang

7.1 Weitere Ergebnisse

Experiment 1:

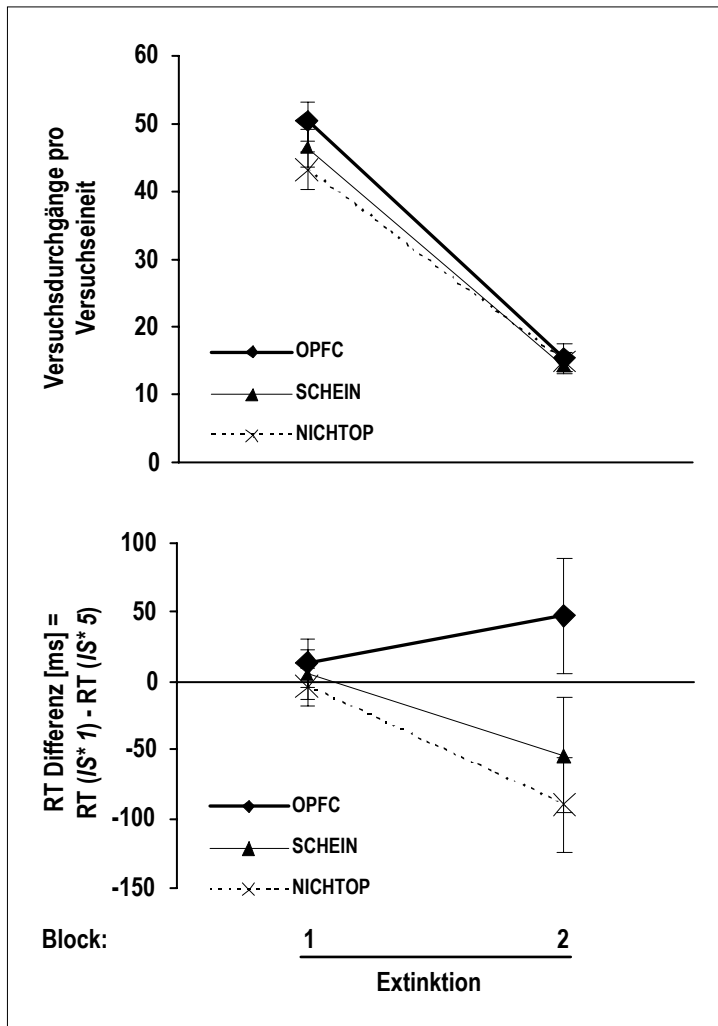


Abb. 7.1. Einfluss von OPFC-Läsionen auf die Anzahl der Versuchsdurchgänge pro Versuchseinheit und die RT-Differenzen während der Extinktion. Die Anzahl der Versuchsdurchgänge pro Versuchseinheit (\pm SEM) nahm in allen drei Behandlungsgruppen signifikant ab (*oben*). Die positiven RT-Differenzen (\pm SEM) des vorhergehenden erneuten Trainings nahmen in der frühen Phase der Extinktion bis auf ~ 0 ms in allen Behandlungsgruppen ab. In der späten Phase der Extinktion wurden die RT-Differenzen der nicht operierten (NICHTOP) und scheinläsionierten (SCHEIN) Ratten negativ, die der OPFC-läsionierten Tiere (OPFC) jedoch wieder positiv (*unten*). Während der Extinktion zeigten beide instruktiven Stimuli keine Belohnung an. RT (IS* 1): RT beim instruktiven Stimulus, der während des vorhergehenden erneuten Trainings 1 Futterstück anzeigte. RT (IS* 5): RT beim instruktiven Stimulus, der während des vorhergehenden erneuten Trainings 5 Futterstücke anzeigte.

Experiment 2:

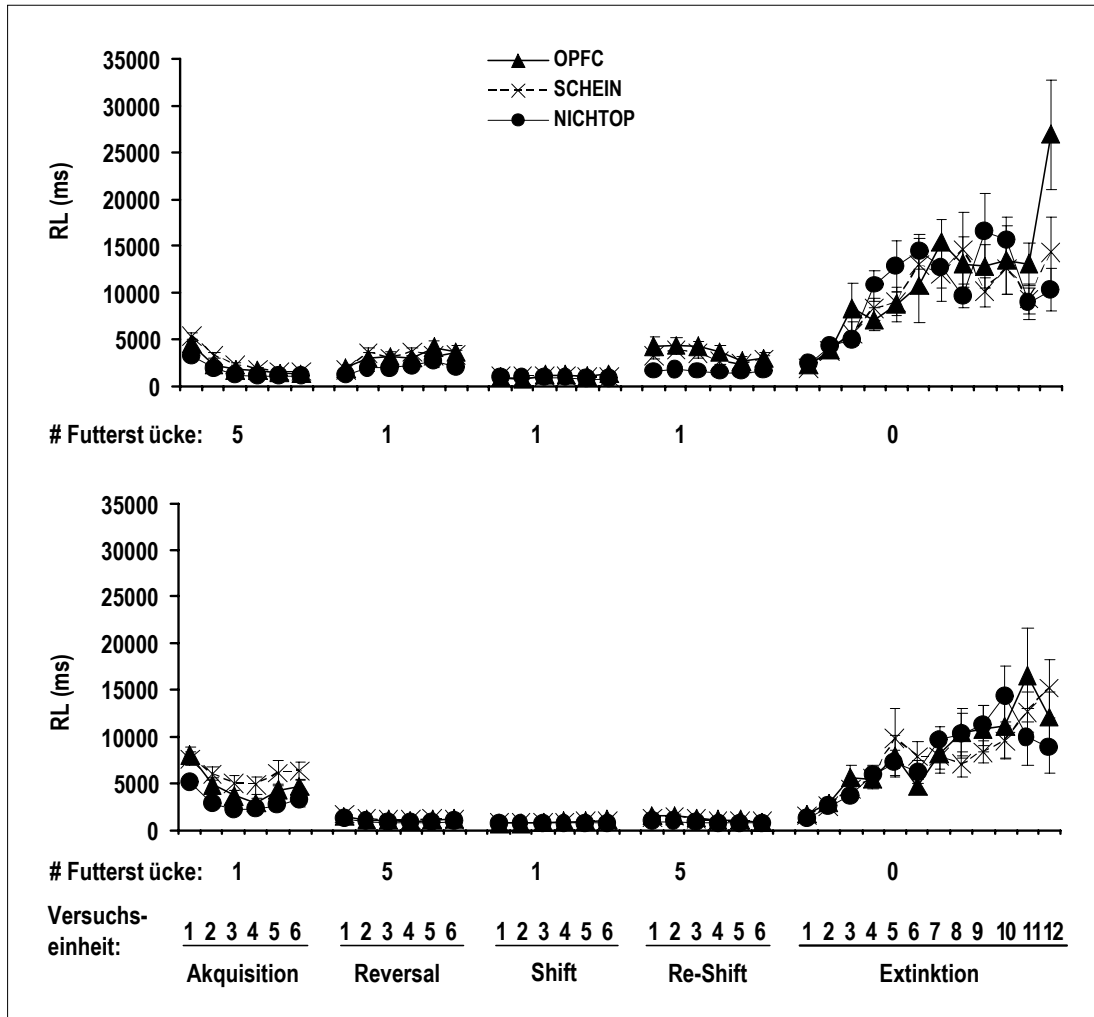


Abb. 7.2. Antwortzeiten (RL, *response latencies*) bei korrekten Versuchsdurchgängen. Die obere Abbildung zeigt die RL für Taste 1, die untere die für Taste 2. Die Anzahl der erhaltenen Futterstücke nach einer korrekten Antwort auf Taste 1 bzw. 2 während der Akquisition, des *reversals*, des *shifts*, des *re-shifts* und der Extinktion steht unter den jeweiligen Abbildungen. OPFC: OPFC-läsionierte Ratten, SCHEIN: scheinläsionierte Ratten, NICHTOP: nicht operierte Ratten.

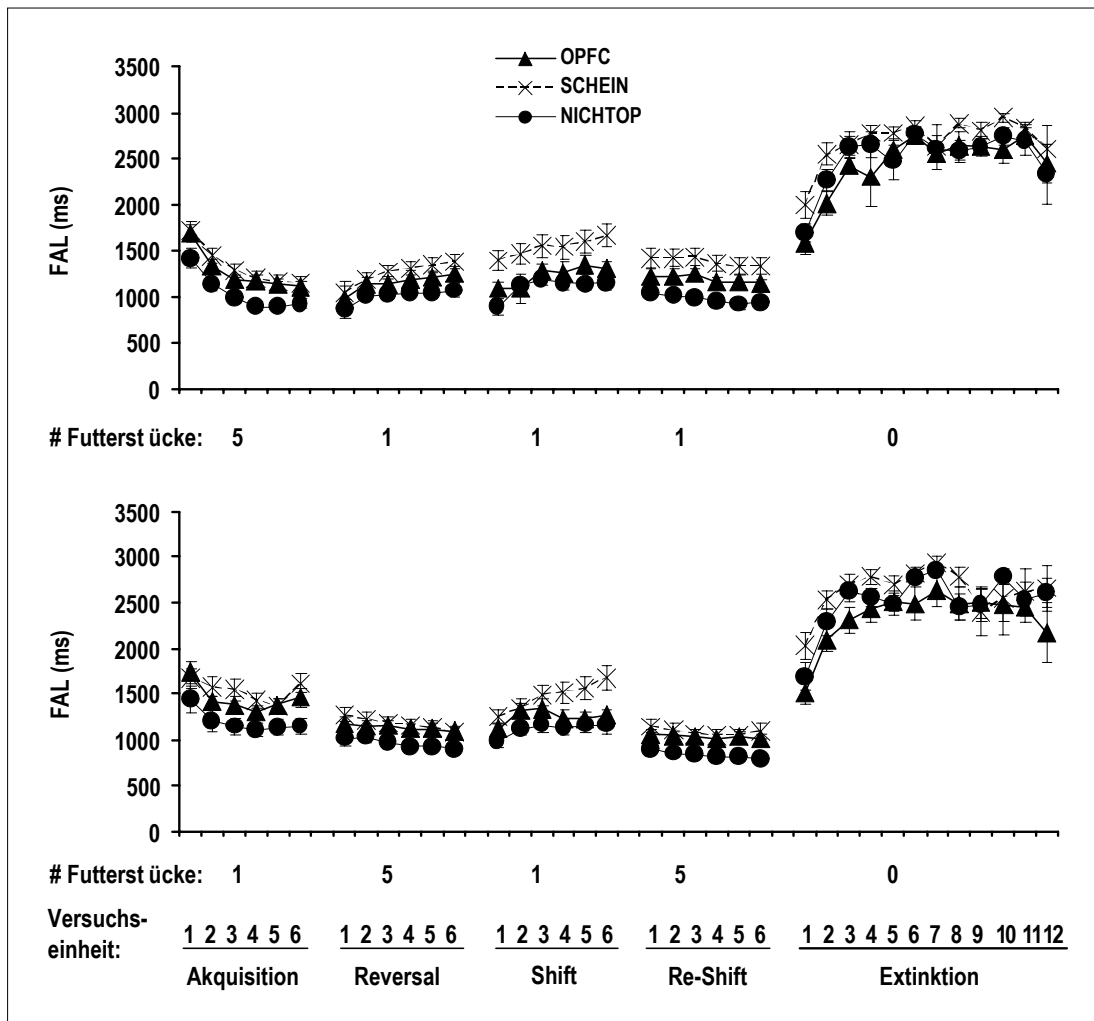


Abb. 7.3. Futter-Annäherungszeiten (FAL, *food approach latencies*) bei korrekten Versuchsdurchgängen. Die obere Abbildung zeigt die FAL für Taste 1, die untere die für Taste 2. Die Anzahl der erhaltenen Futterstücke nach einer korrekten Antwort auf Taste 1 bzw. 2 während der Akquisition, des *reversals*, des *shifts*, des *re-shifts* und der Extinktion steht unter den jeweiligen Abbildungen. OPFC: OPFC-läsionierte Ratten, SCHEIN: scheinläsionierte Ratten, NICHTOP: nicht operierte Ratten.

7.2 Ergänzungen zur Methodik

Im Folgenden werden ergänzende Angaben zur Methodik gemacht, auf die in den eingereichten Manuskripten nicht näher eingegangen wurde. Da die zeitliche Abfolge der einzelnen experimentellen Schritte im Großen und Ganzen bei allen drei Experimenten vergleichbar war, werden diese in chronologischer Reihenfolge beschrieben; auf die Unterschiede zwischen den drei Experimenten wird innerhalb der Unterkapitel hingewiesen.

7.2.1 Versuchsaufbauten und Aufgabenstellungen

Experimente 1 und 3

Den Ratten wurde in den Experimenten 1 und 3 eine nicht-räumliche Diskriminationsaufgabe in Skinnerboxen (Med Associates Inc, Georgia, USA) gestellt. Die Aufgabenstellung wurde mit Hilfe der MedPC eigenen Programmiersprache programmiert. Die wesentlichen Bestandteile der Skinnerbox sind im Folgenden (Abb. 7.4) dargestellt. Die Skinnerboxen wurden von einem Rechner angesteuert. Die Daten wurden ebenfalls mit diesem Rechner aufgenommen.

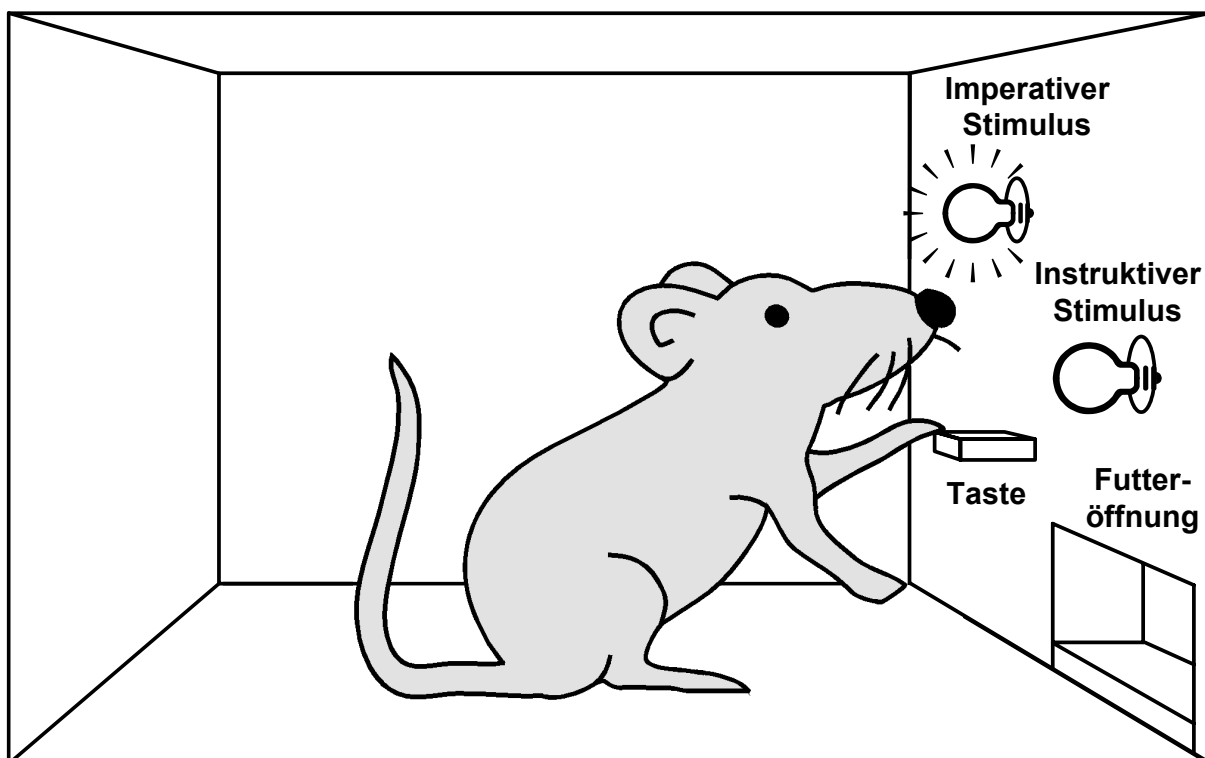


Abb. 7.4. Schemazeichnung des Skinnerbox-Aufbaus in Experiment 1 und 3. Die wesentlichen Bestandteile der Skinnerbox waren eine Taste, ein imperativer Stimulus, ein instruktiver Stimulus und eine Futteröffnung.

Die nicht-räumliche Diskriminationsaufgabe verlangte, zunächst spontan eine Taste zu drücken (Abb. 7.5, links). Die Lampe über der Taste diente als imperativer Stimulus, der nach 300 ms Tasten-Druck eingespielt wurde (Abb. 7.5, Mitte). Um eine Futterbelohnung in der Futteröffnung zu erhalten, musste die gedrückte Taste nach Präsentation des imperativen Stimulus innerhalb einer Reaktionszeit von 100 bis 1000 ms losgelassen werden (Abb. 7.5, rechts). Dieses Reaktionszeitlimit wurde nach Angaben von Amalric und Koob (1987) und Brown und Bowman (1995) ausgewählt. Wurde die Taste zu früh oder zu spät losgelassen, gab es keine Futterbelohnung, die Taste wurde eingefahren und alle Lampen für 1,5 s ausgeschaltet. Die Information über die zu erwartende Belohnungsstärke wurde während des gesamten Versuchsdurchgangs über verschiedene Helligkeitsstufen des instruktiven Stimulus angezeigt. Als instruktiver Stimulus diente die Lampe, die sich direkt über der Futteröffnung befand. Bei der Hälfte der Tiere bedeutete helles Licht des instruktiven Stimulus fünf Futterstücke, gedimmtes Licht des instruktiven Stimulus zeigte ihnen eine Futterbelohnung von einem Futterstück an. Bei der anderen Hälfte der Tiere war es umgekehrt (gedimmtes Licht des instruktiven Stimulus bedeutete fünf Futterstücke, helles Licht des instruktiven Stimulus ein Futterstück).

Für die tägliche Versuchseinheit mussten 50 korrekte, d. h. belohnte Versuchsdurchgänge absolviert werden. Jeder Tasten-Druck wurde als Versuchsdurchgang gewertet. Für jedes Tier wurde pro Versuchseinheit die Gesamtzahl der benötigten Versuchsdurchgänge, die verfrühten und die verspäteten Antworten und die Reaktionszeiten der korrekt beantworteten Versuchsdurchgänge aufgenommen. Die Reaktionszeit war die Zeit von der Präsentation des imperativen Stimulus bis zum Loslassen der Taste. Es wurde mit einer Zeitauflösung von 10 ms gemessen.

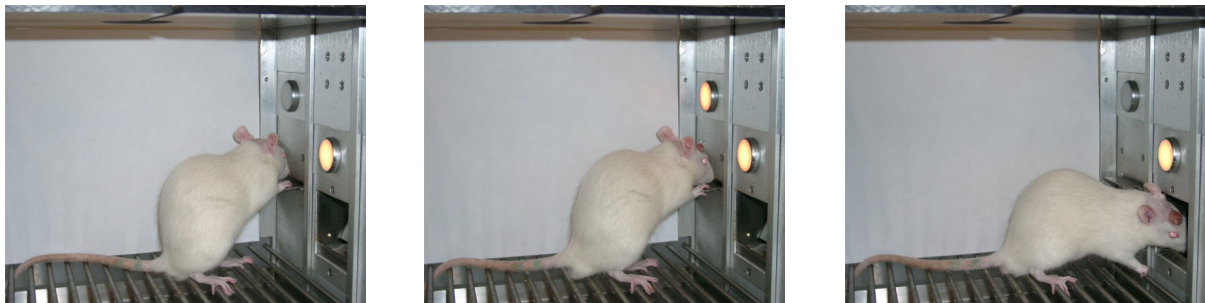


Abb. 7.5. Ratte bei der Durchführung der nicht-räumlichen Diskriminationsaufgabe in Experiment 1 und 3. Die nicht-räumliche Diskriminationsaufgabe verlangte, die Taste zu drücken (*links*). Nach der fixen Wartedauer von 0,3 s wurde über der Taste der imperative Stimulus präsentiert (*Mitte*), der der Ratte bedeutete, die gedrückte Taste loszulassen, um eine Futterbelohnung zu erhalten (*rechts*). Die Information über die zu erwartende Belohnungsstärke wurde bei jedem Versuchsdurchgang über verschiedene Helligkeitsstufen des instruktiven Stimulus angezeigt, der sich direkt über der Futteröffnung befand (in allen Abbildungen hell).

Experiment 2

Die wesentlichen Bestandteile der Skinnerbox bei der räumlichen Diskriminationsaufgabe aus Experiment 2 sind im Folgenden (Abb. 7.6) dargestellt. Die Aufgabenstellung wurde ebenfalls mit Hilfe der MedPC eigenen Programmiersprache programmiert. Auch bei dieser Aufgabenstellung wurden die Skinnerboxen von einem Rechner angesteuert, und die Daten wurden mit diesem Rechner aufgenommen.

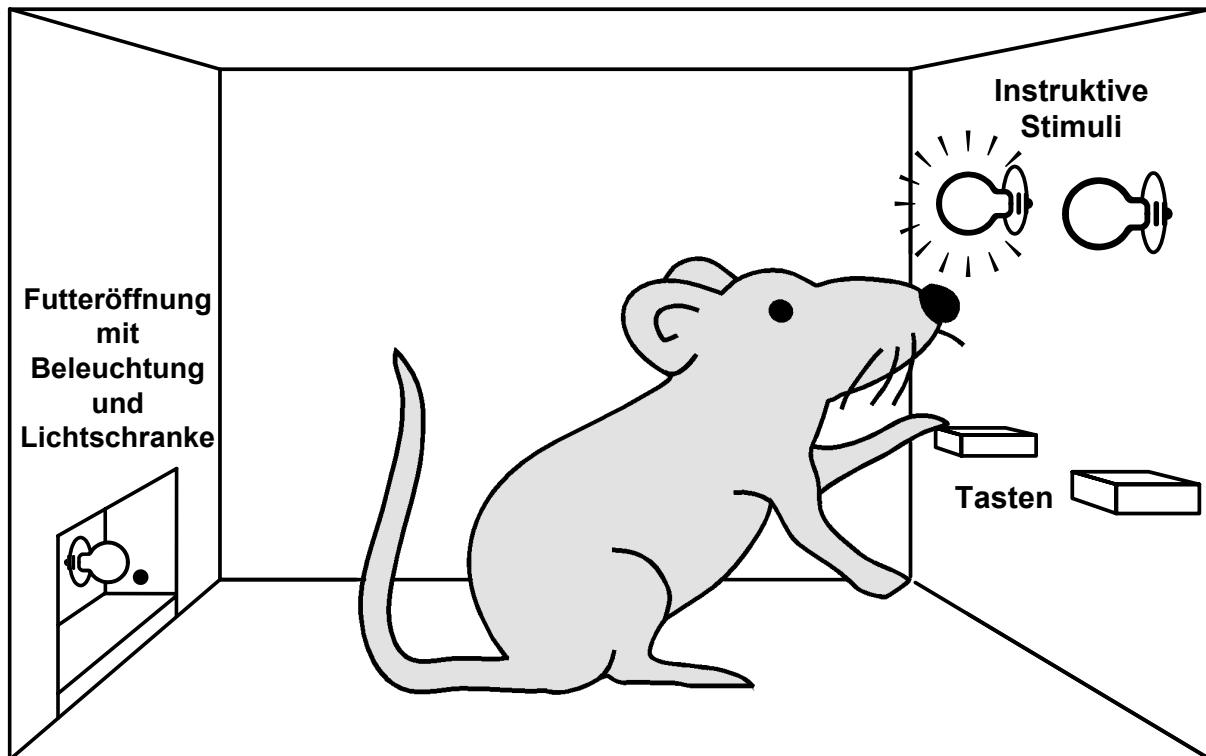


Abb. 7.6. Schemazeichnung des Skinnerbox-Aufbaus in Experiment 2. Die wesentlichen Bestandteile der Skinnerbox waren zwei Tasten, zwei instruktive Stimuli und auf der gegenüberliegenden Seite der Skinnerbox eine Futteröffnung mit Beleuchtung und Lichtschranke.

Die räumliche Diskriminationsaufgabe verlangte, zunächst spontan eine Taste zu drücken. Die beiden Lampen über den beiden Tasten dienten als instruktive Stimuli. Um eine Futterbelohnung in der Futteröffnung zu erhalten, musste die Taste ausgewählt und gedrückt werden, über der der instruktive Stimulus präsentiert wurde (Abb. 7.7). In der Standard-Testsituation wurde bei der Hälfte der Tiere eine korrekte Antwort auf einer der beiden Tasten, z. B. der linken, jeweils mit fünf Futterstücken belohnt, eine korrekte Antwort auf der anderen Taste jeweils mit einem Futterstück. Bei der anderen Hälfte der Tiere war es umgekehrt (rechte Taste fünf Futterstücke, linke Taste ein Futterstück). Somit zeigte der instruktive Stimulus *per se* an, welche Taste gedrückt werden sollte, die Position des instruktiven Stimulus bzw. der Taste zeigte die Belohnungsstärke an. Nach einer korrekten

Antwort wurden die Beleuchtung in der Futteröffnung auf der gegenüberliegenden Seite der Skinnerbox angeschaltet und die entsprechende Anzahl Futterstücke in die Futteröffnung gegeben. In folgenden Fällen gab es keine Futterbelohnung, die Tasten wurden eingefahren und alle Lampen für 1,5 s ausgeschaltet: 1. die Taste wurde nicht innerhalb einer Latenzzeit von 18,5 s gedrückt, d. h. der Versuchsdurchgang wurde ausgelassen, 2. die Taste wurde gedrückt, über der nicht der instruktive Stimulus präsentiert wurde, d. h. die Antwort war falsch, oder 3. die Taste wurde länger als 1,5 s gedrückt, d. h. die Antwort war zu langsam.

Für die tägliche Versuchseinheit mussten 60 korrekte, d. h. belohnte Versuchsdurchgänge absolviert werden. Jeder Tasten-Druck wurde als ein Versuchsdurchgang gewertet. Für jedes Tier wurde pro Versuchseinheit die Gesamtzahl der benötigten Versuchsdurchgänge, die korrekten, falschen, ausgelassenen und langsamen Antworten, die Latenzzeiten der korrekt beantworteten Versuchsdurchgänge vom Beginn des Versuchsdurchgangs bis zum Drücken der Taste, vom Drücken bis zum Loslassen der Taste und vom Loslassen der Taste bis zum Beginn des Fressens aufgenommen. Es wurde mit einer Zeitauflösung von 10 ms gemessen.



Abb. 7.7. Ratte bei der Durchführung der räumlichen Diskriminationsaufgabe in Experiment 2. Um die entsprechende Belohnung (ein oder fünf Futterstücke) in der Futteröffnung auf der gegenüberliegenden Seite der Skinnerbox zu erhalten (*rechts*), musste bei der räumlichen Diskriminationsaufgabe die Taste ausgewählt (*links*) und gedrückt werden (*Mitte*), über der der instruktive Stimulus präsentiert wurde. Auf dem linken Foto wurde der instruktive Stimulus über der linken Taste präsentiert, und die linke Taste sollte ausgewählt werden; auf dem mittleren Foto wurde der instruktive Stimulus über der rechten Taste präsentiert, und die rechte Taste sollte gedrückt werden. Die Information über die zu erwartende Belohnungsstärke wurde bei jedem Versuchsdurchgang durch die Position des instruktiven Stimulus bzw. der Taste angezeigt. In der Standard-Testsituation wurde z. B. eine korrekte Antwort auf der linken Taste jeweils mit fünf Futterstücken belohnt, eine korrekte Antwort auf der rechten Taste jeweils mit einem Futterstück. Somit informierte der instruktive Stimulus *per se* darüber, welche Taste gedrückt werden sollte, und die Position des instruktiven Stimulus bzw. der Taste über die Belohnungsstärke.

7.2.2 Zeitpläne der Experimente

Die Zeitpläne der einzelnen Experimente sind im Folgenden (Abb. 7.8 - Abb. 7.10) detailliert dargestellt:

Experiment 1

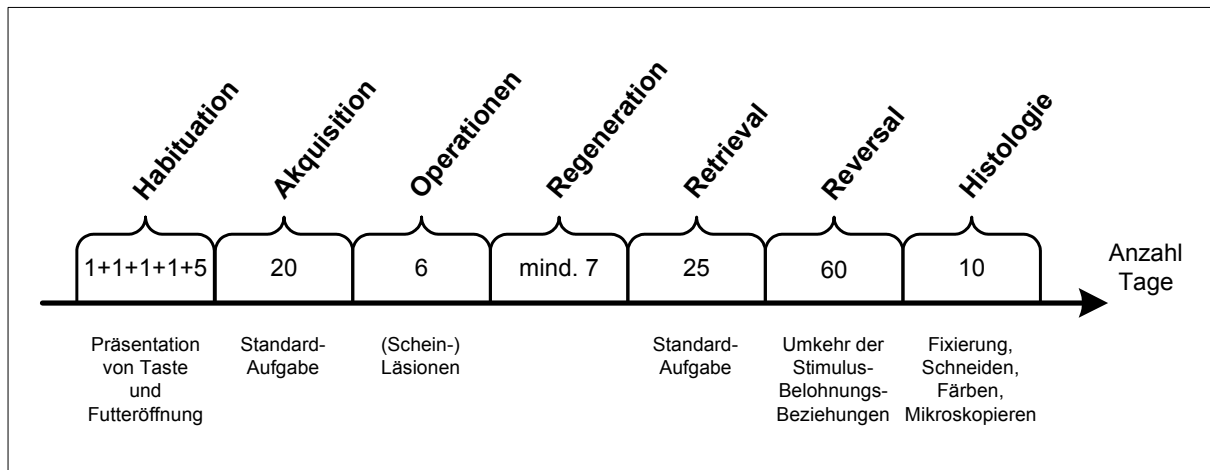


Abb. 7.8. Zeitplan des Experiments 1. Während der Habituation wurden den Ratten die Taste und die Futteröffnung präsentiert. Während der Akquisition wurde ihnen die nicht-räumliche Diskriminationsaufgabe mit den ursprünglichen Stimulus-Belohnungs-Beziehungen gestellt. An den folgenden Tagen wurden die Ratten operiert. Von diesen Operationen konnten die Tiere sich in der Regenerationsphase erholen, bevor mit dem postoperativen Abruf der erlernten Stimulus-Belohnungs-Beziehungen während des *retrievals* begonnen wurde. Während des *reversals* wurden die Stimulus-Belohnungs-Beziehungen umgekehrt. Abschließend fand die histologische Aufarbeitung der Gehirne statt.

Experiment 2

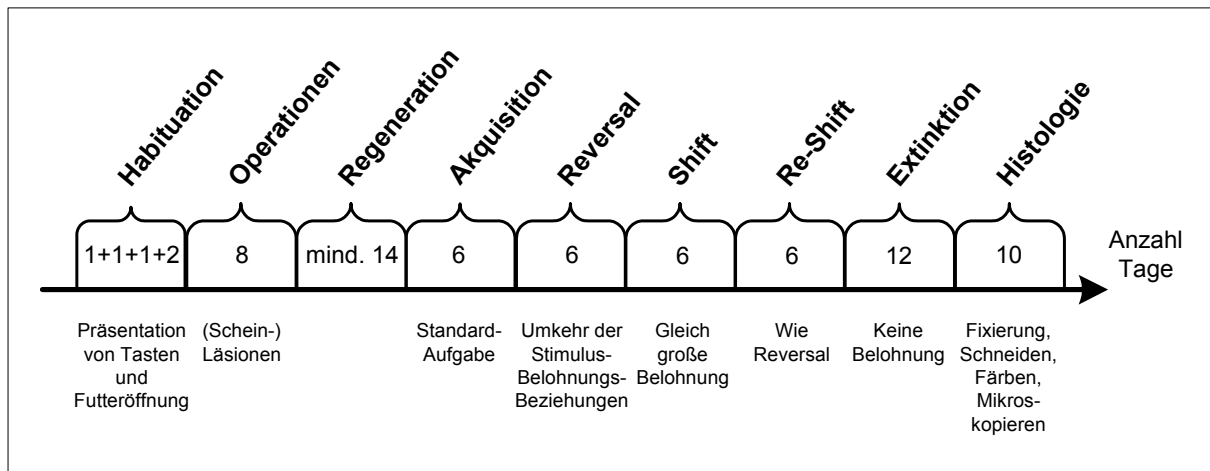


Abb. 7.9. Zeitplan des Experiments 2. Während der Habituation wurden den Ratten die Tasten und die Futteröffnung präsentiert, anschließend wurden die Ratten operiert. Von diesen Operationen konnten die Tiere sich in der Regenerationsphase erholen, bevor während der Akquisition den Ratten die räumliche Diskriminationsaufgabe mit den ursprünglichen Stimulus-Belohnungs-Beziehungen gestellt wurde. Während des *reversals* wurden die Stimulus-Belohnungs-Beziehungen umgekehrt, und während des *shifts* kündigten beide instruktiven Stimuli die gleiche Belohnungsstärke an. Während des *re-shifts* entsprachen die Stimulus-Belohnungs-Beziehungen denen des *reversals*, und während der anschließenden Extinktion zeigten beide instruktiven Stimuli keine Belohnung an. Abschließend fand die histologische Aufarbeitung der Gehirne statt.

Experiment 3

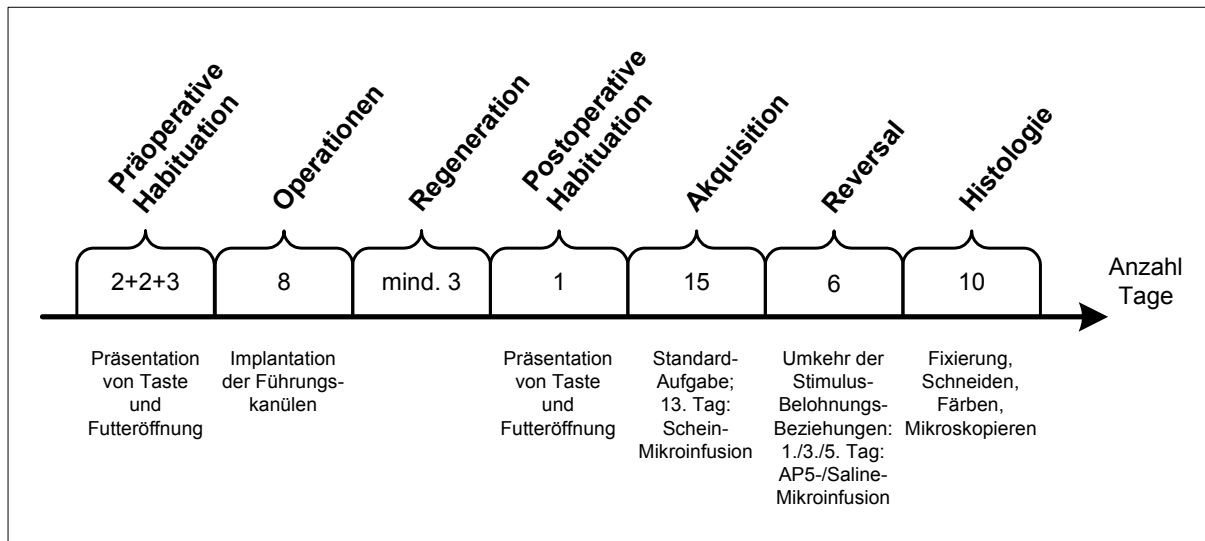


Abb. 7.10. Zeitplan des Experiments 3. Während der präoperativen Habituation wurden den Ratten die Taste und die Futteröffnung präsentiert, anschließend wurden die Ratten operiert. Von diesen Operationen konnten die Tiere sich während der Regenerationsphase erholen, bevor mit der postoperativen Habituation begonnen wurde. Während der Akquisition wurde den Ratten die nicht-räumliche Diskriminationsaufgabe mit den ursprünglichen Stimulus-Belohnungs-Beziehungen gestellt. Am 13. Tag der Akquisition erhielten alle Tiere eine Schein-Mikroinfusion. Während des *reversals* wurden die Stimulus-Belohnungs-Beziehungen umgekehrt. Am 1., 3. und 5. Tag des *reversals* erhielt die Hälfte der Tiere eine Saline-, die andere Hälfte der Ratten eine AP5-Mikroinfusion. Abschließend fand die histologische Aufarbeitung der Gehirne statt.

7.2.3 Habituation der Ratten

Experimente 1 – 3

Die Ratten mussten täglich eine, während der Habituation teilweise auch zwei Versuchseinheiten absolvieren. Es benötigte mehrere Tage, bis allen Tieren die endgültige Aufgabe gestellt werden konnte. Die Tiere wurden während der Habituation Schritt für Schritt an die endgültige Aufgabe hingeführt. Erst wenn ein Schritt beherrscht wurde, wurde zum nächsten übergegangen. Erfolgskriterien waren 1. die benötigte Zeit für die Aufgabe und 2. die korrekten und fehlerhaften Versuchsdurchgänge. Die Habituation wurde individuell für jedes einzelne Tier gestaltet: für langsamer lernende Tiere gab es „Nachhilfe“, d. h. sie wurden öfter trainiert und bzw. oder zusätzlich mit ihren Käfigpartnern zusammen in die Skinnerbox gesetzt.

Um die Motivation der Tiere für die Futteraufnahme in den Skinnerboxen aufrecht zu erhalten, wurden die Tiere graduell Futter depriviert. Dies wurde durch Fütterung erst nach der täglichen Versuchseinheit sowie kontrolliertes Konstanthalten des individuellen Gewichtes erreicht. Hierfür fand wöchentlich eine Gewichtskontrolle statt.

Tab. 7.1. Habituation Experiment 1.

Schritt	Anzahl Tage	Computer-Programm*	Vorgehensweise
1	1		Die Tiere wurden im Käfig mit Futterstücken und Erdnussbutter gefüttert, um die Ratten an diese Futterarten zu gewöhnen. Die Futterstücke dienten sowohl während der Habituation als auch in der endgültigen Aufgabe als Belohnung, die Erdnussbutter wurde für Schritt 3 der Habituation benötigt.
2	1	Kond1: 2-mal / Tag	Die Ratten wurden in die geschlossenen Skinnerboxen gesetzt. Bei dargebotenem instruktivem Stimulus erhielten die Ratten 20-mal alle 5 s ein Futterstück in die Futteröffnung. Damit sollte die Futteröffnung als „Ort der Belohnung“ eingeführt werden.
3	1	Kond2: 2-mal / Tag	Das Ziel dieses Schrittes war, dass die Ratten lernten, die Taste zu drücken, um eine Futterbelohnung zu erhalten. Dazu wurde die Taste hinten mit Erdnussbutter bespritzt, so dass die Ratten sich mit den Pfoten auf der Taste stützen mussten, um die Erdnussbutter ablecken zu können. Bei jedem Tasten-Druck wurde der imperative Stimulus dargeboten und die Ratten erhielten als Futterbelohnung ein Futterstück. Das Programm endete nach 20 Tasten-Drücken.
4	1	Kond3: 2-mal / Tag	Dieser Schritt war identisch mit Schritt 3, der einzige Unterschied war der Verzicht auf Erdnussbutter.
5	5	000620ka/b: 1-mal / Tag	In diesem Schritt wurde den Ratten eine verkürzte Version der endgültigen Aufgabe gestellt, denn die Ratten mussten nur 30 anstatt 60 Versuchsdurchgänge absolvieren.

* Die Computer-Programme für die Habituation von Experiment 1 sind in Unterkapitel 7.3 aufgeführt.

Folgende Änderungen wurden bei der Habituation im Experiment 2 im Vergleich zum Experiment 1 vorgenommen:

Tab. 7.2. Habituation Experiment 2.

Schritt	Anzahl Tage	Computer-Programm	Vorgehensweise
1	1		Siehe Experiment 1.
2	1	Proj21: 2-mal / Tag	Siehe Experiment 1.
3	1	Proj22li/re: 1-mal pro Taste / Tag	Siehe Experiment 1. Der einzige Unterschied war, dass in Experiment 1 die Ratten zweimal am Tag an eine Taste gewöhnt wurden. Für die räumliche Diskriminationsaufgabe in Experiment 2 wurden jedoch zwei Tasten benötigt; somit wurden die Ratten vormittags an die eine und nachmittags an die andere Taste gewöhnt.
4	2	Proj23li/re: 1-mal pro Taste / Tag	Dieser Schritt war identisch mit Schritt 3, der einzige Unterschied war der Verzicht auf Erdnussbutter.
5			Dieser Schritt entfiel vollständig.

Folgende Änderungen wurden bei der Habituation im Experiment 3 im Vergleich zum Experiment 1 vorgenommen:

Tab. 7.3. Habituation Experiment 3.

Schritt	Anzahl Tage	Computer-Programm	Vorgehensweise
Präoperativ:			
1	1		Siehe Experiment 1.
2	2	Kond1: 1-mal / Tag	Siehe Experiment 1.
3	2	Kond2: 1-mal / Tag	Siehe Experiment 1.
4	3	Kond3: 1-mal / Tag	Siehe Experiment 1.
5			Dieser Schritt entfiel vollständig.
Postoperativ:			
4	1	Kond3: 1-mal / Tag	Siehe Schritt 4.

7.2.4 Stereotaktische Operationen und Substanzinfusionen

Experimente 1 und 2: Läsionen

Nach Atropin-Prämedikation (0,5 mg/kg i.p., Atropinsulfat in A. bidest., RBI, Natick) wurde die Ratte mit Natrium-Pentobarbital (50 mg/kg i.p., Sigma, St. Louis) narkotisiert. Die Narkosetiefe wurde durch Überprüfen des Zwischenzehenreflexes kontrolliert und ggf. mit $\frac{1}{3}$ der Anfangsdosis Narkosemittel nachgespritzt. Nach Scheren der Kopfhaut mit einem Rasierer (Aesculap Favorita II, Aesculap, Tuttlingen) und Desinfizieren des Operationsfeldes mit 70 %igem Ethanol wurde die Ratte in einer stereotaktischen Apparatur (David Kopf Instruments, Tujunga) mittels Ohr- und Zahnbalken eingespannt und fixiert. Auf die Augen wurde zum Schutz vor Austrocknung ein Tropfen physiologische Kochsalzlösung (Fresenius, Bad Homburg) gegeben. Mit 0,1 ml Xyloneural forte 2 % (Pharma Stroschein GmbH, Hamburg) wurde die Kopfhaut im Operationsgebiet lokal anästhesiert.

Mit einer sterilen Skalpellklinge (Bayha GmbH, Tuttlingen) wurde ein Sagittalschnitt zwischen den Augen beginnend bis zwischen die Ohren gesetzt. Gefäßklammern hielten das Operationsfeld offen. Die Knochenhaut wurde abgetragen und der Schädelknochen mit 10 %iger Wasserstoffperoxid-Lösung entfettet. Auf diese Weise konnten auch kleinere Blutungen schnell gestoppt werden, für stärkere Blutungen wurde Clauden[®] Watte (Lohmann, Neuwied) verwendet.

Eine 1 µl-Hamiltonspritze wurde vor der Operation an einer speziellen Einspannvorrichtung am Mikromanipulator des Stereotakten befestigt. Mit der Spitze der Hamiltonspritze wurden die anterioposteriore, mediolaterale und dorsoventrale Koordinate des Bregmas bestimmt. Die Zielkoordinaten der Hamiltonspritze konnten nun errechnet werden; die anterioposterioren und mediolateralen Zielkoordinaten wurden auf dem Schädel markiert.

Mit einem Rosenbohrer (0,08 mm) wurde der Knochen an allen acht markierten Injektionsstellen durchbohrt, wobei die Dura nicht verletzt wurde. Die Dura wurde an der ersten Injektionsstelle mit einer sterilen Kanüle vorsichtig durchstoßen. Die Hamiltonspritze wurde zuerst 0,1 mm tiefer als die dorsoventrale Zielkoordinate abgesenkt, bevor die Hamiltonspritze wieder auf die dorsoventrale Zielkoordinate hochgefahren wurde. Die Bildung dieser Gewebetasche ermöglichte die Aufnahme der zu injizierenden Substanz und damit die Diffusion der Substanz von dieser Gewebetasche aus. Ohne Gewebetasche würde die Substanz hauptsächlich entlang des Einstichkanals diffundieren. Für die Läsionen wurden pro Injektionsstelle 0,1 µl der NMDA-Lösung (20 mg NMDA / 1 ml Krebs-Ringer-Lösung) in 2 min injiziert. Nach 6 min Diffusionszeit wurde die Hamiltonspritze langsam hochgefahren. Das Injektionsloch wurde mit Knochenwachs versiegelt. Die Injektionen an den übrigen

sieben Injektionsstellen wurden wie an der ersten Injektionsstelle durchgeführt. Die Kopfhaut wurde mit chirurgischem Nahtmaterial (Ethilon Sutapak®monofil, Ethicon, Norderstedt) vernäht.

Die Krebs-Ringer-Lösung (pH 7,4) hatte folgende Zusammensetzung:

- 3,43 g NaCl
- 0,175 g KCl
- 0,14 g CaCl₂ oder 0,185 g CaCl₂ x 2 H₂O₂
- 1,045 g NaHCO₃
- 1,00 g Glucose
- 0,07 g MgSO₄ oder 0,143 g MgSO₄ x 7 H₂O₂
- 0,08 g KH₂PO₄
- 2,5 % CO₂
- 0,5 l A. dest.

Während der Aufwachphase wurde dem Tier ein Heizkissen gegen Auskühlung unter den Käfig gelegt. Die Ratte wurde auf einige Lagen Zellstoff gelegt, um ein Verkleben von Einstreu mit der Wunde zu verhindern. Der Flüssigkeitsverlust durch die Operation wurde durch 2,5 ml physiologische Kochsalzlösung i.p. (Fresenius, Bad Homburg) ausgeglichen und die Augen wurden mit Saline betropft. Sobald sich das Tier wieder koordiniert bewegen konnte, erhielt es in Wasser eingeweichtes Futter (20 g) (Altromin, Lage).

Experiment 3: Vorbereitungen für die stereotaktischen Operationen

Für die Führungskanülen (Abb. 7.11) wurden sterile Einmalkanülen vom Typ „Supra“ 0,8 x 60 mm (Eberhardt und Söhne, Geislingen) mit einer Trennscheibe in 14,0 mm lange Abschnitte gesägt. Die Abschnittkanten wurden angefast, und die Kanüleninnenseite durch Durchstoßen mit kleineren Kanülen (0,45 x 25 mm, B. Braun, Melsungen) gereinigt. Die Kanülenoberfläche wurde mit Querrillen versehen, um eine verbesserte Haftung am Prothesenzement zu erreichen. Die Führungskanülen wurden in Gussformen mit Prothesenzement (Paladur®, Heraeus Kulzer GmbH, Wehrheim/Ts.) umgossen. Nach Abschleifen des überschüssigen Prothesenzements wurden die Führungskanülen in 70 %igem Ethanol desinfiziert und konnten nach vollständiger Verdunstung des Ethanols zur Implantation verwendet werden.

Für die Injektionskanülen (Abb. 7.11) wurden bei sterilen Einmalkanülen mit den Maßen 0,45 x 25 mm (B. Braun, Melsungen) die Kunststoffkappen teilweise entfernt. Die Kanülen wurden auf eine Länge von 16,0 mm gekürzt, die Abschnittkanten angefast und die Kanülen-

innenseite durch Durchstoßen mit einem dünnen Draht gereinigt. Vor Verwendung als Injektionskanülen wurden die Kanülen mit 70 %igem Ethanol desinfiziert.

Für die Stilette (Abb. 7.11) wurden bei sterilen Einmalkanülen mit den Maßen 0,45 x 25,0 mm (B. Braun, Melsungen) die Spitzen abgesägt und ca. 2 mm des Endes um 180 ° umgebogen. Dieses umgebogene Ende wurde nochmals um ca. 90 ° gebogen, bevor die Stilette auf die gleiche Länge wie die Führungskanülen von 14,0 mm gekürzt wurden. Abschließend wurden die Abschnittkanten angefast, und die Kanülen vor Verwendung als Stilette mit 70 %igem Ethanol desinfiziert.

Für die Reinigungskanülen (Abb. 7.11) wurden sterile Einmalkanülen mit den Maßen 0,45 x 25,0 mm (B. Braun, Melsungen) nach 14,0 mm um ca. 75 ° gebogen. Direkt vor den Kunststoffkappen wurden die Kanülen nochmals um ca. 75 ° in die entgegengesetzte Richtung gebogen. Die Desinfektion der Reinigungskanülen wurde mit 70 %igem Ethanol vorgenommen.

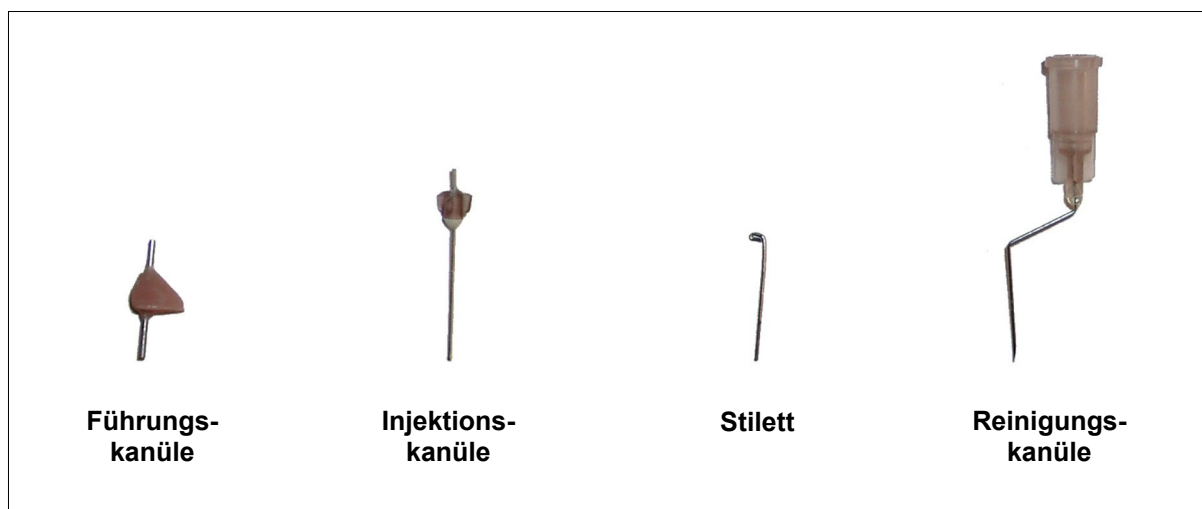


Abb. 7.11. Zubehör für Mikroinfusionen.

Experiment 3: Stereotaktische Operationen (Implantation von Führungskanülen)

Bis zur Anwendung der Wasserstoffperoxid-Lösung verliefen die stereotaktischen Operationen in Experiment 3 wie die in den Experimenten 1 und 2. Abweichend von der Beschreibung der Operationen der Experimente 1 und 2 wurde eine Führungskanüle an einer speziellen Einspannvorrichtung am Mikromanipulator des Stereotakten vor der Operation befestigt. Mit der Spitze der Führungskanüle wurden die anterioposteriore, mediolaterale und dorsoventrale Koordinate des Bregmas bestimmt. Die Zielkoordinaten der Führungskanülen

konnten nun errechnet werden; die anterioposterioren und mediolateralen Zielkoordinaten wurden auf dem Schädel markiert.

Vier Löcher wurden gleichmäßig verteilt um die beiden markierten Führungskanülenlöcher mit einem Rosenbohrer (0,05 mm) für die Knochenschrauben (Small Parts Inc., Miami Lakes, USA) gebohrt, wobei der Knochen nur angebohrt, aber nicht durchbohrt wurde. Die Knochenschrauben wurden eingedreht und auf Halt überprüft. Die Schrauben erhöhten später die Angriffsfläche für den Prothesenzement und dadurch die Festigkeit des Aufbaus. Mit einem Rosenbohrer (0,08 mm) wurde der Knochen an einer der beiden markierten Führungskanülenlöcher durchbohrt, wobei die Dura nicht verletzt wurde. Die Dura wurde mit einer sterilen Kanüle vorsichtig durchstoßen und die Führungskanüle abgesenkt. Die Führungskanüle und zwei der Schrauben wurden mit schnell aushärtendem Prothesenzement (Paladur[®], Heraeus Kulzer GmbH, Wehrheim/Ts.) umgossen, wobei die Markierung für die zweite Führungskanüle freigehalten wurde. Die zweite Führungskanüle wurde wie die erste angebracht. Anschließend wurden die beiden Aufbauten mit Prothesenzement zusammengefügt. Nach Aushärten des gesamten Aufbaus wurde die Kopfhaut mit chirurgischem Nahtmaterial (Ethilon Sutapak[®] monofil, Ethicon, Norderstedt) vernäht. Als Schutz vor Verschmutzung wurden zwei Stilette in die Führungskanülen geschoben.

Während der Aufwachphase wurden die Ratten entsprechend der Beschreibungen bei den Experimenten 1 und 2 versorgt.

Experiment 3: Versuchsaufbau für die Mikroinfusion

Zur lokalen Applikation von Substanzen wurde ein Mikroinjektor (Model PHM 100A, Med Associates, Georgia, USA) verwendet, der durch ein Netzgerät (Typ 1728, Westfalia Technica, Hagen) mit Strom versorgt wurde und die Kolben der Hamiltonspritzen (5 µl, SGE GmbH, Weiterstadt) bewegte. Die Spitzen der Hamiltonspritzen waren mit den Injektionskanülen über ca. 12 cm lange Silikonschläuche verbunden (Abb. 7.12).

Vor Versuchsbeginn wurden die zwei Hamiltonspritzen und Silikonschläuche luftblasenfrei mit A. dest. befüllt. Danach wurde als Trennschicht zwischen Wasser und zu applizierender Substanz ca. 1 µl Luft und anschließend die zu injizierende Substanz aufgezogen. Durch Vorwärtsbewegen des Spritzenkolbens wurde das exakte Injektionsvolumen eingestellt; die austretenden Tropfen an den Injektionskanülenspitzen wurden mit Löschpapier abgetupft. Zuletzt wurde der Geberkolben des Mikroinjektors vorsichtig an den Kolben der Hamiltonspritzen platziert, bevor mit der lokalen Applikation der Substanz begonnen wurde.

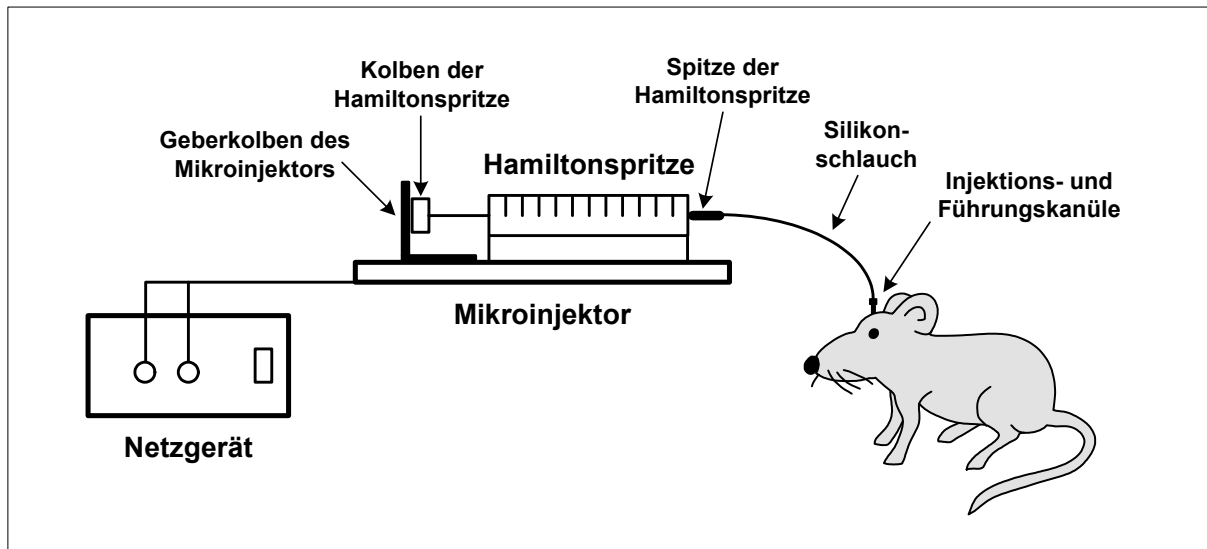


Abb. 7.12. Skizze des Mikroinjektions-Aufbaus. Der Mikroinjektor bewegte über seinen Geberkolben die Kolben der Hamiltonspritzen. Die Spitzen der Hamiltonspritzen waren mit den Injektionskanülen über einen Silikon-schlauch verbunden.

Experiment 3: Durchführung der Mikroinfusionen

Während der gesamten Mikroinjektion wurden die Ratten mit den implantierten Führungskanülen in ein Handtuch gewickelt, damit sie sich nicht bewegen konnten. Als erstes wurden die Stilette entfernt und die Führungskanülen mit einer Reinigungskanüle gesäubert. Die Injektionskanülen wurden bis zum Anschlag abgesenkt, und auf jeder Seite wurde $0,7 \mu\text{l}$ in 70 s appliziert. Dabei war es wichtig, dass die Injektionskanülen stets bis zum Anschlag in den Führungskanülen steckten und nicht durch Kopfbewegungen der Ratte herausgezogen wurden. Um eine ausreichende Diffusion zu gewährleisten, wurden die Injektionskanülen noch 1 min nach der Applikation in den Führungskanülen belassen. Bis zum Beginn der nicht-räumlichen Diskriminationsaufgabe in den Skinnerboxen wurden die Tiere für 6 min in den Käfig gesetzt.

7.2.5 Histologie

Experimente 1 und 2: vorzubereitende Lösungen für die Fixierung der Gehirne

PBS Puffer-Stammlösung:

- 80,0 g NaCl
- 11,4 g Na₂HPO₄ oder 14,42 g Na₂HPO₄ x 2H₂O
- 2,0 g KH₂PO₄
- 2,0 g KCl
- 1 l A. bidest.

Der pH-Wert dieser PBS Puffer-Stammlösung wurde mit NaOH auf pH 7,4 eingestellt. 100 ml dieser PBS Puffer-Stammlösung ergaben mit 900 ml A. bidest. die PBS Pufferlösung.

Heparinlösung (für 1 Ratte):

- 0,1 g Heparinsodiumsalz
- 500 ml PBS Pufferlösung

Formalinlösung (für 1 Ratte):

Die Formalinlösung wurde einen Tag vor Verwendung angesetzt. Da Paraformaldehyd die Atemwege reizt, wurde mit Schutzbrille, Atemmaske und Handschuhen unter dem Abzug gearbeitet. Für die Lösung wurden 250 ml PBS Pufferlösung auf 60 – 70 °C erwärmt. 20 g Paraformaldehyd wurden zugeben, und die Lösung wurde solange gerührt, bis das Paraformaldehyd sich vollständig gelöst hatte. Die Lösung wurde im Kühlschrank auf 4 °C abgekühlt, bevor sie in 250 ml PBS Pufferlösung filtriert wurde.

Experimente 1 und 2: Fixierung der Gehirne durch Perfusion

Die Ratte wurde mit Ethrane betäubt, bis Atemstillstand eintrat. Das Bauchfell wurde entlang der Linea alba Richtung Kopf bis zum Sternum, und dann links und rechts entlang der Rippenbögen aufgeschnitten. Anschließend wurde das Zwerchfell durchtrennt, die Rippen seitlich links und rechts Richtung Kopf in einem spitzen Winkel zulaufend durchgeschnitten, die Rippen hochgeklappt und mit einer Pinzette umgeklappt unter den Vorderbeinen fixiert. Das Herz wurde freigelegt, indem das Perikard vorsichtig abgelöst wurde, und die Kanüle, die durch einen Schlauch mit der Pumpe verbunden war, wurde von unten, ein wenig rechts von der Spitze, in die linke Herzkammer eingeführt. Mit einer kleinen Schere wurde der rechte Vorhof eingeschnitten und gleichzeitig die Pumpe eingeschaltet. Zuerst spülte man mit Heparinlösung, bis Leber und Lunge entblutet waren, anschließend mit Formalinlösung, bis die Ratte vollständig fixiert war. Das Gehirn wurde präpariert, über Nacht in Formalinlösung

fixiert und anschließend in einer 30 %igen (w/v) Glucoselösung bei 4 °C solange aufbewahrt, bis das Gehirn abgesunken waren (mindestens 2 Tage). Danach wurden Gefrierschnitte angefertigt.

Experiment 3: Fixierung der Gehirne

Das Gehirn wurde präpariert, mindestens 2 h in einer formalinhaltigen Lösung fixiert und anschließend in einer 30 %igen (w/v) Glucoselösung bei 4 °C solange aufbewahrt, bis die Gehirne abgesunken waren. Die Fixierung der Gehirne fand in folgender formalinhaltigen Lösung statt:

Für 200 ml Fixierlösung wurden benötigt: 10 ml Eisessig (Riedel-de Haen)
20 ml Formalin 37 %
70 ml Ethanol 96 %
100 ml A. dest.

Nach der Fixierung der Gehirne verliefen die folgenden Schritte zur histologischen Aufarbeitung der Gehirne in allen 3 Experimenten gleich.

Experimente 1 – 3: Beschichtung der Objektträger

Damit die Gefrierschnitte sich während der Färbeprozedur nicht von den Objektträgern lösten, mussten die Objektträger zuvor mit einer Gelatinelösung beschichtet werden.

Für die Gelatinelösung wurden folgende Bestandteile benötigt:

1,4 g Gelatine (Merck, Darmstadt)
140 mg Chrom(III)-Kaliumsulfat-Dodecahydrat (Merck, Darmstadt)
1 Prise Thymol (Roth, Karlsruhe)
200 ml A. dest.

Die Lösung wurde auf ca. 80 °C erwärmt und in eine 250 ml Küvette gegeben, in die die Objektträger in einem Färbeständer getaucht wurden. Anschließend wurden die Objektträger bei 40 °C im Wärmeschrank getrocknet. Das Eintauchen und Trocknen wurde nochmals wiederholt. Bis zum Gebrauch wurden die Objektträger bei 4 °C aufbewahrt.

Experimente 1 – 3: Anfertigung von Gehirnschnitten

30 µm (Experimente 1 und 2) oder 40 µm (Experiment 3) dünne Frontalschnitte wurden von den fixierten Gehirnen aus dem Bereich des orbitalen präfrontalen Kortex mit einem Gefriermikrotom (Jung Frigocut 2800 N, Leica, Nussloch) angefertigt und auf die beschichteten Objektträger aufgezogen. Die Schnitte wurden bis zur Färbung bei 4 °C aufbewahrt.

Experimente 1 – 3: Färbung der Gehirnschnitte

Die Gehirnschnitte wurden mit Cresylechtviolett nach folgendem Protokoll gefärbt:

5 min	96 % Ethanol
5 min	80 % Ethanol
5 min	70 % Ethanol
10 min	A. dest.
5 – 15 min	Cresylechtviolett-Färbelösung
10 – 20 sec	Puffer
2 – 7 min (je nach Färbegrad)	96 % Ethanol mit 300 µl Eisessig
5 min	Isopropanol I
5 min	Isopropanol II
10 min	Rotihistol® (Roth, Karlsruhe)

Die Schnitte wurden sofort nach dem letzten Färbeschritt mit Rotihistokit® (Roth, Karlsruhe) eingebettet und für mindestens 3 Tage zum Trocknen ausgelegt.

Die Färbelösung bestand aus folgenden Komponenten:

- 0,5 g Cresylechtviolett (Chroma Gesellschaft, Köngen)
- 100 ml Puffer (siehe unten)

Diese Suspension musste eine Woche lang und vor jedem Gebrauch für mindestens einen Tag gerührt werden.

Für den Puffer wurden folgende Bestandteile benötigt:

- 5,4 g Natriumacetat (Merck, Darmstadt)
- 10 ml Eisessig (Riedel-de Haen)
- 1000 ml A. dest.

7.3 Computer-Programme für die Habituation von Experiment 1

Computer-Programm für Schritt 2 der Habituation von Experiment 1: Kond 1

```

^LinkeTaste=1
^RechteTaste=2
^Feeder=3
^GedimmtesLicht=4   \ über Futteröffnung
^hellesLicht=5      \ über Futteröffnung
^LinkesLicht=6      \ über Taste
^Hauslicht=7

S.S.1,

S1,   \ Futterlicht geht nach 1 s an
      1.0": on^hellesLicht  ---> S2

S2,   \ Futterspender geht für "freies" Futterstück nach 500 ms an
      0.5": on^Feeder  ---> S3

S3,   \ Futterspender geht nach 500 ms aus
      0.5": off^Feeder  ---> S4

S4,   \ Nach 5 s geht der Futterspender erneut an
      5.0": on^Feeder  ---> S5

S5,   \ Futterspender geht nach 500 ms aus
      0.5": off^Feeder  ---> S6

S6,   \ Für jedes Mal Futterspender-Angehen wird 1 in X dazugezählt und
      \ der Wert von X auf dem Bildschirm angezeigt (@false).
      \ Nach dem 20. Futterstück geht das Licht nach 1 s bei S7 aus
      \ (@true).

      0.1": ADD X ; IF X=20 [@true,@false]
            @true: ---> S7
            @false: show 1, pellet, x ---> S4

S7,

      1.0": off^hellesLicht  ---> stopabortflush

```

Computer-Programm für Schritt 3 der Habituation von Experiment 1: Kond 2

```
^LinkeTaste=1
^RechteTaste=2
^Feeder=3
^gedimmtesLicht=4 \ über Futteröffnung
^hellesLicht=5    \ über Futteröffnung
^linkesLicht=6    \ über Taste
^Hauslicht=7

S.S.1,

S1, \ Nach 0,1 s wird die linke Taste ausgefahren.
    0.1": ON^LinkeTaste ---> S2

S2, \ Nach 1 min geht das Futterlicht an.
    60.0": ON^hellesLicht ---> S3

S3, \ Wenn die linke Taste gedrückt wird, geht der Futterspender an.
    #R^LinkeTaste: ON^Feeder ---> S4

S4, \ Futterspender geht nach 100 ms aus.
    0.1": OFF^Feeder ---> S5

S5, \ Für jedes Mal Tastedrücken wird 1 in X dazugezählt und
    \ der Wert von X auf dem Bildschirm angezeigt.
    \ Nach dem 20. Mal geht nach 1 min das Licht bei S6 aus und
    \ fährt die linke Taste nach 3 min bei S7 ein (@true).
    0.1": ADD X ; IF X=20 [@true,@false]
           @true: ---> S6
           @false: show 1, Versuche, x ---> S3

S6,
    60.0": OFF^hellesLicht ---> S7

S7,
    120.0": OFF^LinkeTaste ---> stopabortflush
```

Computer-Programm für Schritt 4 der Habituation von Experiment 1: Kond 3

```
^LinkeTaste=1
^RechteTaste=2
^Feeder=3
^gedimmtesLicht=4 \ über Futteröffnung
^hellesLicht=5    \ über Futteröffnung
^linkesLicht=6   \ über Taste
^Hauslicht=7
```

S.S.1,

S1, \ Nach 1 s geht das Futterlicht an.

```
1.0": ON^hellesLicht ---> S2
```

S2, \ Nach 1 s wird die linke Taste ausgefahren.

```
1.0": ON^LinkeTaste ---> S3
```

S3, \ Wenn die linke Taste gedrückt wird, zu S4 gehen.

```
#R^LinkeTaste ---> S4
```

S4, \ Das linke Licht und der Futterspender gehen nach 50 ms an.

```
.05": On^linkesLicht; ON^Feeder ---> S5
```

S5,

```
.05": OFF^Feeder ---> S6
```

S6,

```
.02": ON^Feeder ---> S7
```

S7, \ Das linke Licht und der Futterspender gehen nach 500 ms aus.

```
.5": OFF^linkesLicht; OFF^Feeder ---> S8
```

S8, \ Für jedes Mal Tastedrücken wird 1 in X dazugezählt und
\ der Wert von X auf dem Bildschirm angezeigt.
\ Nach dem 20. Mal fährt die linke Taste ein und geht
\ bei S6 das Futterlicht aus (@true).

```
0.1": ADD X ; IF X=20 [@true,@false]
      @true: OFF^LinkeTaste ---> S9
      @false: show 1, Versuche, x ---> S3
```

S9,

```
1.0": OFF^hellesLicht ---> stopabortflush
```

Computer-Programm für Schritt 5 der Habituation von Experiment 1: 000620ka

```

^LinkeTaste=1      \ Input und Output
^RechteTaste=2     \ Input und Output
^Sensor=3          \ Input
^Feeder=3          \ Output
^gedimmtesLicht=4  \ über Futteröffnung: Output
^hellesLicht=5     \ über Futteröffnung: Output
^linkesLicht=6     \ über Taste: Output
^Hauslicht=7       \ Output
dim D = 15         \ RT bei verspäteten Fehlern bei gedimtem Licht
dim E = 60         \ RT bei verfrühten Fehlern bei gedimtem Licht
dim F = 25         \ RT bei korrekten Antworten bei gedimtem Licht
dim G = 80         \ alle RTs bei gedimtem Licht
dim K = 15         \ RT bei verspäteten Fehlern bei hellem Licht
dim L = 60         \ RT bei verfrühten Fehlern bei hellem Licht
dim M = 25         \ RT bei korrekten Antworten bei hellem Licht
dim N = 80         \ alle RT bei hellem Licht
List P = 4,5       \ Zuordnung der Lichthelligkeiten
dim R = 160        \ Ausgabeliste der ausgewählten Lichthelligkeiten
dim U = 160        \ alle RT
dim Z = 160        \ alle MT

```

S.S.1,

```

S1, \ Nach 100 ms Lichthelligkeit für 1. Versuchsdurchgang zufällig
    \ aussuchen.

```

```

.1": RANDD Q=P; SET R(S+1)=Q ---> S2

```

```

S2, \ Der Versuch wird nach 30 richtigen Durchgängen beendet (@true),
    \ ansonsten geht am Anfang von jedem Durchgang nach 2,5 s das
    \ zufällig ausgewählte Licht an und die linke Taste wird
    \ ausgefahren (@false).

```

```

2.5": ON Q; if Q=5 [@hell,@gedimmt]
        @hell: ON^Hauslicht; ON^LinkeTaste;
              if (J>=15) and (C>=15) [@true,@false]
                @true: ---> stopabortflush
                @false: ---> S3
        @gedimmt: ON^LinkeTaste;
                   if (J>=15) and (C>=15) [@true,@false]
                     @true: ---> stopabortflush
                     @false: ---> S3

```

```

S3, \ Wenn die linke Taste gedrückt wird, wird zur Anzahl der Durchgänge
    \ 1 dazugezählt und auf dem Bildschirm angezeigt.

```

```

#R^LinkeTaste: ADD S; SHOW 5, Versuche, S ---> S4

```

S4, \ Solange die linke Taste gedrückt ist, wird die Zeit in "X" im 10 ms
 \ Takt gezählt. Falls $X \geq 300$ ms wird $X=0$ gesetzt, das linke Licht
 \ angeschaltet, die Reaktionszeit in t gemessen (@Response), und der
 \ Z1-Puls nach S.S.2 geschickt; ansonsten wird weiter in "X" bis
 \ $X \geq 300$ gezählt (@NoResponse).
 \ Falls die Ratte verfrüht die Taste loslässt, wird nach 20 ms der
 \ Fehler bei gedimmtem Licht in "B" und die entsprechende RT in E(B)
 \ und G(A+B+C) (@ERRORgedimmt), bei hellem Licht in "I" und die
 \ entsprechende RT in L(I) und N(H+I+J) (@ERRORhell) und in beiden
 \ Fällen die RT in U(S) geschrieben und anschließend $X=0$ gesetzt.

```
#R^LinkeTaste: ADD X; IF X >= 30 [@Response,@NoResponse]
                @Response: SET X=0; ON^LinkesLicht;
                    SET t=0; Z1; SET Y=0; Z3 ---> S5
                @NoResponse: ---> S4
```

```
.02": IF Q=4 [@ERRORgedimmt,@ERRORhell]
    @ERRORgedimmt: ADD B; SHOW 2, ERRged, B; SET E(B)=X*10;
                    SET G(A+B+C)= X*10; SET U(S)=X*10;
                    SET X=0 ---> S6
    @ERRORhell: ADD I; SHOW 4, ERRhel, I; SET L(I)=X*10;
                SET N(H+I+J)=X*10; SET U(S)=X*10; SET X=0 ---> S6
```

S5, \ Falls die linke Taste gedrückt ist, in State S5 bleiben.
 \ Falls die Ratte die linke Taste innerhalb von 100 ms loslässt, wird
 \ der Fehler bei gedimmtem Licht in "B" und die entsprechende RT in
 \ E(B) und G(A+B+C) (@ERRORgedimmt), bei normalem Licht in "I" und
 \ die entsprechende RT in L(I) und N(H+I+J) (@ERRORhell) und in
 \ beiden Fällen die RT in U(S) geschrieben.
 \ Falls die linke Taste richtig losgelassen wird, geht nach 10 ms der
 \ Feeder an, das linke Licht geht aus. Falls das Licht gedimmt ist
 \ (@REWARDgedimmt), wird für den Erfolg bei "C" 1 dazugezählt und die
 \ RT in F(C) und G(A+B+C) geschrieben (in ms). Falls das Licht hell
 \ ist (@REWARDhell), wird für den Erfolg bei "J" 1 dazugezählt und
 \ die RT in M(J) und N(H+I+J) geschrieben (in ms).
 \ Beim Z2-Puls (wenn Ratte nach 1500 ms immer noch auf Taste ist),
 \ wird das Licht ausgeschaltet, bei gedimmtem Licht wird der Fehler
 \ in "A" (@DELAYgedimmt), bei hellem Licht in "H" (@DELAYhell)
 \ dazugezählt.

```
#R^LinkeTaste ---> S5
```

```
.01": ON^Feeder; OFF^LinkesLicht;
    if Q=4 [@REWARDgedimmt,@REWARDhell]
        @REWARDgedimmt: ADD C; SHOW 1, REWged, C; SET F(C)=300+(t*10);
                        SET G(A+B+C)=300+(t*10); SET U(S)=300+(t*10)
                        ---> S7
        @REWARDhell: ADD J; SHOW 3, REWhel, J; SET M(J)=300+(t*10);
                    SET N(H+I+J)=300+(t*10); SET U(S)=300+(t*10)
                    ---> S7
```

```
#Z2: OFF^LinkesLicht; if Q=4 [@DELAYgedimmt,@DELAYhell]
    @DELAYgedimmt: ADD A; SET D(A)=1805;
                    SET G(A+B+C)=1805; SET U(S)=1805
                    ---> S6
    @DELAYhell: ADD H; SET K(H)=1805;
                SET N(H+I+J)=1805; SET U(S)=1805
                ---> S6
```

S6, \ Bestrafung: Ausgewähltes Licht und Hauslicht gehen aus, linke Taste
\ fährt ein.

1.0": OFF Q; OFF^LinkeTaste; OFF^Hauslicht ---> S2

S7, \ Wenn der Sensor anspricht, wird die gemessene Bewegungszeit in Z(S)
\ geschrieben.

#R^Sensor: SET Z(S)=(Y*10)-U(S)+300; if Q=4 [@REWARDgedimmt,@REWARDhell]
@REWARDgedimmt: ---> S8
@REWARDhell: ---> S9

#Z4: SET Z(S)= 3005; if Q=4 [@REWARDgedimmt,@REWARDhell]
@REWARDgedimmt: ---> S8
@REWARDhell: ---> S9

S8, \ Feeder wird nach 50 ms bei gedimmtem Licht ausgeschaltet.

.05": OFF^Feeder ---> S18

S9, \ Feeder wird nach 50 ms nach 1. Futterstück bei hellem Licht
\ ausgeschaltet.

.05": OFF^Feeder ---> S10

S10, \ Feeder wird nach 300 ms für 2. Futterstück bei hellem Licht
\ eingeschaltet.

.3": ON^Feeder ---> S11

S11, \ Feeder wird nach 50 ms nach 2. Futterstück bei hellem Licht
\ ausgeschaltet.

.05": OFF^Feeder ---> S12

S12, \ Feeder wird nach 300 ms für 3. Futterstück bei hellem Licht
\ eingeschaltet.

.3": ON^Feeder ---> S13

S13, \ Feeder wird nach 50 ms nach 3. Futterstück bei hellem Licht
\ ausgeschaltet.

.05": OFF^Feeder ---> S14

S14, \ Feeder wird nach 300 ms für 4. Futterstück bei hellem Licht
\ eingeschaltet.

.3": ON^Feeder ---> S15

S15, \ Feeder wird nach 50 ms nach 4. Futterstück bei hellem Licht
\ ausgeschaltet.

.05": OFF^Feeder ---> S16

```

S16, \ Feeder wird nach 300 ms für 5. Futterstück bei hellem Licht
      \ eingeschaltet.

      .3": ON^Feeder ---> S17

S17, \ Feeder wird nach 50 ms nach 5. Futterstück bei hellem Licht
      \ ausgeschaltet.

      .05": OFF^Feeder ---> S18

S18, \ Ausgewähltes Licht und Hauslicht gehen nach 800 ms aus.

      .8": OFF Q; OFF^Hauslicht ---> S19

S19, \ Der Versuch wird nach 30 richtigen Durchgängen beendet
      \ (@true/@stop), wenn nur 15 helle oder 15 gedimmte Richtige geht am
      \ Anfang von jedem Durchgang nach 200 ms das entsprechend andere
      \ Licht an und die linke Taste wird ausgefahren(@true/@go) bei S20,
      \ ansonsten geht am Anfang von jedem Durchgang nach 200 ms das
      \ zufällig ausgewählte Licht an und die linke Taste wird ausgefahren
      \ (@false).

      .01": if (J>=15) or (C>=15) [@true,@false]
            @true: if (J>=15) and (C>=15) [@stop,@go]
                  @stop: ---> stopabortflush
                  @go: ---> S20
            @false: RANDD Q=P; SET R(S+1)=Q;
                   ON Q; if Q=5 [@hell,@gedimmt]
                       @hell: ON^Hauslicht; ON^LinkeTaste ---> S3
                       @gedimmt: ON^LinkeTaste ---> S3

S20, \

      .01": if (J>=15) [@hell,@gedimmt]
            @hell: SET Q=4; ON^LinkeTaste; ON Q; ON^Hauslicht ---> S3
            @gedimmt: SET Q=5; ON^LinkeTaste; ON Q ---> S3

S.S.2,
S1, \ Auf Z1-Puls von S.S.1, S4 warten.

      #Z1: ---> S2

S2, \ Bei verspäteter Antwort wird nach 1500 ms ein Z2-Puls zu
      \ S.S.1, S5 gesendet (@zulang).

      .01": ADD t; IF t <= 150 [@time,@zulang]
            @time: ---> S2
            @zulang: Z2 --->S1

S.S.3,
S1, \ Auf Z3-Puls von S.S.1, S4 warten.

      #Z3: ---> S2

```



```
S2, \ Bei sehr langsamem Fressen (langer MT) wird nach 3000 ms ein
    \ Z4-Puls
    \ zu S.S.1, S7 gesendet (@zusatt).
```

```
.01": ADD Y; IF Y <= 300 [@hungrig,@zusatt]
      @hungrig: ---> S2
      @zusatt: Z4 --->S1
```

Computer-Programm für Schritt 5 der Habituation von Experiment 1: 000620kb

```
^LinkeTaste=1      \ Input und Output
^RechteTaste=2     \ Input und Output
^Sensor=3          \ Input
^Feeder=3          \ Output
^gedimmtesLicht=4  \ über Futteröffnung: Output
^hellesLicht=5     \ über Futteröffnung: Output
^linkesLicht=6     \ über Taste: Output
^Hauslicht=7       \ Output
dim D = 15         \ RT bei verspäteten Fehlern bei gedimtem Licht
dim E = 60         \ RT bei verfrühten Fehlern bei gedimtem Licht
dim F = 25         \ RT bei korrekten Antworten bei gedimtem Licht
dim G = 80         \ alle RT bei gedimtem Licht
dim K = 15         \ RT bei verspäteten Fehlern bei hellem Licht
dim L = 60         \ RT bei verfrühten Fehlern bei hellem Licht
dim M = 25         \ RT bei korrekten Antworten bei hellem Licht
dim N = 80         \ alle RT bei hellem Licht
List P = 4,5       \ Zuordnung der Lichthelligkeiten
dim R = 160        \ Ausgabeliste der ausgewählten Lichthelligkeiten
dim U = 160        \ alle RT
dim Z = 160        \ alle MT
```

```
S.S.1,
S1, \ Nach 100 ms Lichthelligkeit für 1. Versuchsdurchgang zufällig
    \ aussuchen.
```

```
.1": RANDD Q=P; SET R(S+1)=Q ---> S2
```

```
S2, \ Der Versuch wird nach 30 richtigen Durchgängen beendet (@true),
    \ ansonsten geht am Anfang von jedem Durchgang nach 2,5 s das
    \ zufällig ausgewählte Licht an und die linke Taste wird
    \ ausgefahren (@false).
```

```
2.5": ON Q; if Q=5 [@hell,@gedimmt]
      @hell: ON^Hauslicht; ON^LinkeTaste;
            if (J>=15) and (C>=15) [@true,@false]
              @true: ---> stopabortflush
              @false: ---> S3
      @gedimmt: ON^LinkeTaste;
                 if (J>=15) and (C>=15) [@true,@false]
                   @true: ---> stopabortflush
                   @false: ---> S3
```

```

S3, \ Wenn die linke Taste gedrückt wird, wird zur Anzahl der Durchgänge
    \ 1 dazugezählt und auf dem Bildschirm angezeigt.

#R^LinkeTaste: ADD S; SHOW 5, Versuche, S ---> S4

S4, \ Solange die linke Taste gedrückt ist, wird die Zeit in "X" im 10 ms
    \ Takt gezählt. Falls X >= 300 ms wird X=0 gesetzt, das linke Licht
    \ angeschaltet, die Reaktionszeit in t gemessen (@Response), und der
    \ Z1-Puls nach S.S.2 geschickt; ansonsten wird weiter in "X" bis
    \ X>=300 gezählt (@NoResponse).
    \ Falls die Ratte verfrüht die Taste loslässt, wird nach 20 ms der
    \ Fehler bei gedimmtem Licht in "B" und die entsprechende RT in E(B)
    \ und G(A+B+C) (@ERRORgedimmt), bei hellem Licht in "I" und die
    \ entsprechende RT in L(I) und N(H+I+J) (@ERRORhell) und in beiden
    \ Fällen die RT in U(S) geschrieben und anschließend X=0 gesetzt.

#R^LinkeTaste: ADD X; IF X >= 30 [@Response,@NoResponse]
                @Response: SET X=0; ON^LinkesLicht;
                    SET t=0; Z1; SET Y=0; Z3 ---> S5
                @NoResponse: ---> S4

.02": IF Q=4 [@ERRORgedimmt,@ERRORhell]
        @ERRORgedimmt: ADD B; SHOW 2, ERRged, B; SET E(B)=X*10;
                        SET G(A+B+C)= X*10; SET U(S)=X*10;
                        SET X=0 ---> S6
        @ERRORhell: ADD I; SHOW 4, ERRhel, I; SET L(I)=X*10;
                    SET N(H+I+J)=X*10; SET U(S)=X*10; SET X=0 ---> S6

S5, \ Falls die linke Taste gedrückt ist, in State S5 bleiben.
    \ Falls die Ratte die linke Taste innerhalb von 100 ms loslässt, wird
    \ der Fehler bei gedimmtem Licht in "B" und die entsprechende RT in
    \ E(B) und G(A+B+C) (@ERRORgedimmt), bei normalem Licht in "I" und
    \ die entsprechende RT in L(I) und N(H+I+J) (@ERRORhell) und in
    \ beiden Fällen die RT in U(S) geschrieben.
    \ Falls die linke Taste richtig losgelassen wird, geht nach 10 ms der
    \ Feeder an, das linke Licht geht aus. Falls das Licht gedimmt ist
    \ (@REWARDgedimmt), wird für den Erfolg bei "C" 1 dazugezählt und die
    \ RT in F(C) und G(A+B+C) geschrieben (in ms). Falls das Licht hell
    \ ist (@REWARDhell), wird für den Erfolg bei "J" 1 dazugezählt und
    \ die RT in M(J) und N(H+I+J) geschrieben (in ms).
    \ Beim Z2-Puls (wenn Ratte nach 1500 ms immer noch auf Taste ist),
    \ wird das Licht ausgeschaltet, bei gedimmtem Licht wird der Fehler
    \ in "A" (@DELAYgedimmt), bei hellem Licht in "H" (@DELAYhell)
    \ dazugezählt.

#R^LinkeTaste ---> S5

.01": ON^Feeder; OFF^LinkesLicht;
      if Q=4 [@REWARDgedimmt,@REWARDhell]
        @REWARDgedimmt: ADD C; SHOW 1, REWged, C; SET F(C)=300+(t*10);
                        SET G(A+B+C)=300+(t*10); SET U(S)=300+(t*10)
                        ---> S7
        @REWARDhell: ADD J; SHOW 3, REWhel, J; SET M(J)=300+(t*10);
                    SET N(H+I+J)=300+(t*10); SET U(S)=300+(t*10)
                    ---> S7

#Z2: OFF^LinkesLicht; if Q=4 [@DELAYgedimmt,@DELAYhell]
        @DELAYgedimmt: ADD A; SET D(A)=1805;
                        SET G(A+B+C)=1805; SET U(S)=1805
                        ---> S6
        @DELAYhell: ADD H; SET K(H)=1805;

```

SET N(H+I+J)=1805; SET U(S)=1805
---> S6

S6, \ Bestrafung: Ausgewähltes Licht und Hauslicht gehen aus, linke Taste
\ fährt ein.

1.0": OFF Q; OFF^LinkeTaste; OFF^Hauslicht ---> S2

S7, \ Wenn der Sensor anspricht, wird die gemessene Bewegungszeit in Z(S)
\ geschrieben.

#R^Sensor: SET Z(S)=(Y*10)-U(S)+300; if Q=4 [@REWARDgedimmt,@REWARDhell]
@REWARDgedimmt: ---> S9
@REWARDhell: ---> S8

#Z4: SET Z(S)= 3005; if Q=4 [@REWARDgedimmt,@REWARDhell]
@REWARDgedimmt: ---> S9
@REWARDhell: ---> S8

S8, \ Feeder wird nach 50 ms bei hellem Licht ausgeschaltet.

.05": OFF^Feeder ---> S18

S9, \ Feeder wird nach 50 ms nach 1. Futterstück bei gedimmtem Licht
\ ausgeschaltet.

.05": OFF^Feeder ---> S10

S10, \ Feeder wird nach 300 ms für 2. Futterstück bei gedimmtem Licht
\ eingeschaltet.

.3": ON^Feeder ---> S11

S11, \ Feeder wird nach 50 ms nach 2. Futterstück bei gedimmtem Licht
\ ausgeschaltet.

.05": OFF^Feeder ---> S12

S12, \ Feeder wird nach 300 ms für 3. Futterstück bei gedimmtem Licht
\ eingeschaltet.

.3": ON^Feeder ---> S13

S13, \ Feeder wird nach 50 ms nach 3. Futterstück bei gedimmtem Licht
\ ausgeschaltet.

.05": OFF^Feeder ---> S14

S14, \ Feeder wird nach 300 ms für 4. Futterstück bei gedimmtem Licht
\ eingeschaltet.

.3": ON^Feeder ---> S15

```

S15, \ Feeder wird nach 50 ms nach 4. Futterstück bei gedimmtem Licht
      \ ausgeschaltet.

      .05": OFF^Feeder ---> S16

S16, \ Feeder wird nach 300 ms für 5. Futterstück bei gedimmtem Licht
      \ eingeschaltet.

      .3": ON^Feeder ---> S17

S17, \ Feeder wird nach 50 ms nach 5. Futterstück bei gedimmtem Licht
      \ ausgeschaltet.

      .05": OFF^Feeder ---> S18

S18, \ Ausgewähltes Licht und Hauslicht gehen nach 800 ms aus.

      .8": OFF Q; OFF^Hauslicht ---> S19

S19, \ Der Versuch wird nach 30 richtigen Durchgängen beendet
      \ (@true/@stop), wenn nur 15 helle oder 15 gedimmte Richtige geht am
      \ Anfang von jedem Durchgang nach 200 ms das entsprechend andere
      \ Licht an und die linke Taste wird ausgefahren(@true/@go) bei S20,
      \ ansonsten geht am Anfang von jedem Durchgang nach 200 ms das
      \ zufällig ausgewählte Licht an und die linke Taste wird ausgefahren
      \ (@false).

      .01": if (J>=15) or (C>=15) [@true,@false]
            @true: if (J>=15) and (C>=15) [@stop,@go]
                  @stop: ---> stopabortflush
                  @go: ---> S20
            @false: RANDD Q=P; SET R(S+1)=Q;
                   ON Q; if Q=5 [@hell,@gedimmt]
                         @hell: ON^Hauslicht; ON^LinkeTaste ---> S3
                         @gedimmt: ON^LinkeTaste ---> S3

S20, \

      .01": if (J>=15) [@hell,@gedimmt]
            @hell: SET Q=4; ON^LinkeTaste; ON Q; ON^Hauslicht ---> S3
            @gedimmt: SET Q=5; ON^LinkeTaste; ON Q ---> S3

S.S.2,
S1, \ Auf Z1-Puls von S.S.1, S4 warten.

      #Z1: ---> S2

S2, \ Bei verspäteter Antwort wird nach 1500 ms ein Z2-Puls zu
      \ S.S.1, S5 gesendet (@zulang).

      .01": ADD t; IF t <= 150 [@time,@zulang]
            @time: ---> S2
            @zulang: Z2 --->S1

```

S.S.3,
S1, \ Auf Z3-Puls von S.S.1, S4 warten.

#Z3: ---> S2

S2, \ Bei sehr langsamem Fressen (langer MT) wird nach 3000 ms ein
\ Z4-Puls
\ zu S.S.1, S7 gesendet (@zusatt).

.01": ADD Y; IF Y <= 300 [@hungrig,@zusatt]
@hungrig: ---> S2
@zusatt: Z4 --->S1

8 Literaturverzeichnis

Ahlenius, S., Briem, S., Hillegaart, V. and Magnusson, O. (1990) Diffusion and absorption of (-)sulpiride and raclopride after intracerebral administration in the rat. *Biochem Pharmacol* **39**, 2066-9.

Alexander, G. E., Crutcher, M. D. and DeLong, M. R. (1990) Basal ganglia-thalamocortical circuits: parallel substrates for motor, oculomotor, "prefrontal" and "limbic" functions. *Prog Brain Res* **85**, 119-46.

Alvarez, P. and Eichenbaum, H. (2002) Representations of odors in the rat orbitofrontal cortex change during and after learning. *Behav Neurosci* **116**, 421-33.

Amalric, M. and Koob, G. F. (1987) Depletion of dopamine in the caudate nucleus but not in nucleus accumbens impairs reaction-time performance in rats. *J Neurosci* **7**, 2129-34.

Anderson, S. W., Bechara, A., Damasio, H., Tranel, D. and Damasio, A. R. (1999) Impairment of social and moral behavior related to early damage in human prefrontal cortex. *Nat Neurosci* **2**, 1032-7.

Angermeier, W. F., Bednorz, P. and Hursh, S. R. (1994) *Operantes Lernen*. Ernst Reinhardt Verlag: München, Basel.

Aou, S., Oomura, Y., Nishino, H., Inokuchi, A. and Mizuno, Y. (1983) Influence of catecholamines on reward-related neuronal activity in monkey orbitofrontal cortex. *Brain Res* **267**, 165-70.

Aston-Jones, G., Rajkowski, J. and Kubiak, P. (1997) Conditioned responses of monkey locus coeruleus neurons anticipate acquisition of discriminative behavior in a vigilance task. *Neuroscience* **80**, 697-715.

Baldwin, A. E., Holahan, M. R., Sadeghian, K. and Kelley, A. E. (2000) N-methyl-D-aspartate receptor-dependent plasticity within a distributed corticostriatal network mediates appetitive instrumental learning. *Behav Neurosci* **114**, 84-98.

Baldwin, A. E., Sadeghian, K. and Kelley, A. E. (2002) Appetitive Instrumental Learning Requires Coincident Activation of NMDA and Dopamine D1 Receptors within the Medial Prefrontal Cortex. *J Neurosci* **22**, 1063-71.

Balleine, B. W. and Dickinson, A. (1998) Goal-directed instrumental action: contingency and incentive learning and their cortical substrates. *Neuropharmacology* **37**, 407-19.

Baxter, M. G. and Murray, E. A. (2002) The amygdala and reward. *Nat Rev Neurosci* **3**, 563-73.

Baxter, M. G., Parker, A., Lindner, C. C., Izquierdo, A. D. and Murray, E. A. (2000) Control of Response Selection by Reinforcer Value Requires Interaction of Amygdala and Orbital Prefrontal Cortex. *J Neurosci* **20**, 4311-9.

Bechara, A., Damasio, H. and Damasio, A. R. (2000) Emotion, decision making and the orbitofrontal cortex. *Cereb Cortex* **10**, 295-307.

- Bechara, A., Damasio, H., Damasio, A. R. and Lee, G. P. (1999) Different contributions of the human amygdala and ventromedial prefrontal cortex to decision-making. *J Neurosci* **19**, 5473-81.
- Bechara, A., Damasio, H., Tranel, D. and Anderson, S. W. (1998) Dissociation of working memory from decision making within the human prefrontal cortex. *J Neurosci* **18**, 428-37.
- Bechara, A., Damasio, H., Tranel, D. and Damasio, A. R. (1997) Deciding advantageously before knowing the advantageous strategy. *Science* **275**, 1293-5.
- Beggs, J. M., Brown, T. H., Byrne, J. H., Crow, T., LeDoux, J. E., LeBar, K. and Thompson, R. F. (1999) Learning and memory: basic mechanisms. In: *Fundamental Neuroscience*, pp. 1411-54. Eds. M. J. Zigmond, F. E. Bloom, S. C. Landis, J. L. Roberts and L. R. Squire. Academic Press: San Diego.
- Berendse, H. W., Galisdegraaf, Y. and Groenewegen, H. J. (1992) Topographical organization and relationship with ventral striatal compartments of prefrontal corticostriatal projections in the rat. *J. Comp. Neurol.* **316**, 314.
- Berger, B. (1992) Dopaminergic innervation of the frontal cerebral cortex. Evolutionary trends and functional implications. *Adv Neurol* **57**, 525-44.
- Berger, B., Thierry, A. M., Tassin, J. P. and Moyne, M. A. (1976) Dopaminergic innervation of the rat prefrontal cortex: a fluorescence histochemical study. *Brain Res* **106**, 133-45.
- Berthoz, S., Armony, J. L., Blair, R. J. and Dolan, R. J. (2002) An fMRI study of intentional and unintentional (embarrassing) violations of social norms. *Brain* **125**, 1696-708.
- Birbaumer, N. and Jänig, W. (1995) Motivation und Emotion. In: *Physiologie des Menschen*, pp. 167-83. Eds. R. F. Schmidt and G. Thews. Springer-Verlag.
- Bliss, T. V. and Collingridge, G. L. (1993) A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature* **361**, 31-9.
- Bohn, I. (1999) Die Rolle von Dopamin- und NMDA-Rezeptoren im Nucleus accumbens bei sensomotorischen Integrationsprozessen der Ratte.
- Bonson, K. R., Grant, S. J., Contoreggi, C. S., Links, J. M., Metcalfe, J., Weyl, H. L., Kurian, V., Ernst, M. and London, E. D. (2002) Neural systems and cue-induced cocaine craving. *Neuropsychopharmacology* **26**, 376-86.
- Breiter, H. C., Gollub, R. L., Weisskoff, R. M., Kennedy, D. N., Makris, N., Berke, J. D., Goodman, J. M., Kantor, H. L., Gastfriend, D. R., Riorden, J. P., Mathew, R. T., Rosen, B. R. and Hyman, S. E. (1997) Acute effects of cocaine on human brain activity and emotion. *Neuron* **19**, 591-611.
- Brown, V. J. and Bowman, E. M. (1995) Discriminative cues indicating reward magnitude continue to determine reaction time of rats following lesions of the nucleus accumbens. *Eur J Neurosci* **7**, 2479-85.
- Brown, R. G. and Pluck, G. (2000) Negative symptoms: the 'pathology' of motivation and goal-directed behaviour. *Trends Neurosci* **23**, 412-7.

- Burnashev, N. (1996) Calcium permeability of glutamate-gated channels in the central nervous system. *Curr Opin Neurobiol* **6**, 311-7.
- Burns, L. H., Everitt, B. J., Kelley, A. E. and Robbins, T. W. (1994) Glutamate-dopamine interactions in the ventral striatum: role in locomotor activity and responding with conditioned reinforcement. *Psychopharmacology (Berl)* **115**, 516-28.
- Cain, D. P. (1997) LTP, NMDA, genes and learning. *Curr Opin Neurobiol* **7**, 235-42.
- Cardinal, R. N., Parkinson, J. A., Hall, J. and Everitt, B. J. (2002) Emotion and motivation: the role of the amygdala, ventral striatum, and prefrontal cortex. *Neurosci Biobehav Rev* **26**, 321-52.
- Castellano, C., Cestari, V. and Ciamei, A. (2001) NMDA receptors and learning and memory processes. *Curr Drug Targets* **2**, 273-83.
- Choi, D. W. (1993) Nitric oxide: foe or friend to the injured brain? *Proc Natl Acad Sci U S A* **90**, 9741-3.
- Chudasama, Y., Bussey, T. J. and Muir, J. L. (2001) Effects of selective thalamic and prelimbic cortex lesions on two types of visual discrimination and reversal learning. *Eur J Neurosci* **14**, 1009-20.
- Collingridge, G. L. and Singer, W. (1990) Excitatory amino acid receptors and synaptic plasticity. *Trends Pharmacol Sci* **11**, 290-6.
- Collingridge, G. L. and Watkins, J. C. (1994) The NMDA receptor. Oxford University Press: New York.
- Constantine-Paton, M. and Cline, H. T. (1998) LTP and activity-dependent synaptogenesis: the more alike they are, the more different they become. *Curr Opin Neurobiol* **8**, 139-48.
- Cooper, J. R., Bloom, F. E. and Roth, R. H. (1991) Amino acid transmitters. In: *The Biochemical Basis of Neuropharmacology*, pp. 133-89. Oxford University Press.
- Corbit, L. H., Muir, J. L. and Balleine, B. W. (2001) The role of the nucleus accumbens in instrumental conditioning: Evidence of a functional dissociation between accumbens core and shell. *J Neurosci* **21**, 3251-60.
- Corwin, J. V., Fussinger, M., Meyer, R. C., King, V. R. and Reep, R. L. (1994) Bilateral destruction of the ventrolateral orbital cortex produces allocentric but not egocentric spatial deficits in rats. *Behav Brain Res* **61**, 79-86.
- Creutzfeld, O. D. (1983) *Cortex cerebri*. Springer Verlag.
- Cummings, J. L. (1995) Anatomic and behavioral aspects of frontal-subcortical circuits. *Ann NY Acad Sci* **769**, 1-13.
- Damasio, A. R. (1995) *Descartes' Irrtum*. Deutscher Taschenbuch Verlag: München.
- De Bruin, J. P., Feenstra, M. G., Broersen, L. M., Van Leeuwen, M., Arens, C., De Vries, S. and Joosten, R. N. (2000) Role of the prefrontal cortex of the rat in learning and decision making: effects of transient inactivation. *Prog Brain Res* **126**, 103-13.

- De Bruin, J. P., Van Oyen, H. G. and Van de Poll, N. (1983) Behavioural changes following lesions of the orbital prefrontal cortex in male rats. *Behav Brain Res* **10**, 209-32.
- De Bruin, J. P. C. (1994) Evolution of prefrontal cortex: comparative aspects of its behavioral functions. In: *Flexibility and constraint in behavioral systems*, pp. 185-92. Eds. R. J. Greenspan and C. P. Kyriacou. John Wiley & Sons Ltd.
- DeCoteau, W. E., Kesner, R. P. and Williams, J. M. (1997) Short-term memory for food reward magnitude: the role of the prefrontal cortex. *Behav Brain Res* **88**, 239-49.
- Deniau, J. M., Menetrey, A. and Thierry, A. M. (1994) Indirect nucleus accumbens input to the prefrontal cortex via the substantia nigra pars reticulata: a combined anatomical and electrophysiological study in the rat. *Neuroscience* **61**, 533-45.
- Dias, R., Robbins, T. W. and Roberts, A. C. (1996) Dissociation in prefrontal cortex of affective and attentional shifts. *Nature* **380**, 69-72.
- Dias, R., Robbins, T. W. and Roberts, A. C. (1997) Dissociable forms of inhibitory control within prefrontal cortex with an analog of the Wisconsin Card Sort Test: restriction to novel situations and independence from "on-line" processing. *J Neurosci* **17**, 9285-97.
- Dickinson, A. and Balleine, B. (1994) Motivational control of goal-directed action. *Animal Learn Behav* **22**, 1-18.
- Divac, I., Bjorklund, A., Lindvall, O. and Passingham, R. E. (1978) Converging projections from the mediodorsal thalamic nucleus and mesencephalic dopaminergic neurons to the neocortex in three species. *J Comp Neurol* **180**, 59-71.
- Dolan, R. J. (1999) On the neurology of morals. *Nat Neurosci* **2**, 927-9.
- Eichenbaum, H., Clegg, R. A. and Feeley, A. (1983) Reexamination of functional subdivisions of the rodent prefrontal cortex. *Exp Neurol* **79**, 434-51.
- Eichenbaum, H., Shedlack, K. J. and Eckmann, K. W. (1980) Thalamocortical mechanisms in odor-guided behavior. I. Effects of lesions of the mediodorsal thalamic nucleus and frontal cortex on olfactory discrimination in the rat. *Brain Behav Evol* **17**, 255-75.
- Elliott, R., Dolan, R. J. and Frith, C. D. (2000) Dissociable functions in the medial and lateral orbitofrontal cortex: evidence from human neuroimaging studies. *Cereb Cortex* **10**, 308-17.
- Elliott, R., Rees, G. and Dolan, R. J. (1999) Ventromedial prefrontal cortex mediates guessing. *Neuropsychologia* **37**, 403-11.
- Ferron, A., Thierry, A. M., Le Douarin, C. and Glowinski, J. (1984) Inhibitory influence of the mesocortical dopaminergic system on spontaneous activity or excitatory response induced from the thalamic mediodorsal nucleus in the rat medial prefrontal cortex. *Brain Res* **302**, 257-65.
- Ferry, A. T., Lu, X. C. and Price, J. L. (2000) Effects of excitotoxic lesions in the ventral striatopallidal-- thalamocortical pathway on odor reversal learning: inability to extinguish an incorrect response. *Exp Brain Res* **131**, 320-35.
- Franck, D. (1997) Motivationsanalyse. In: *Verhaltensbiologie*, pp. 15-21. Thieme: Stuttgart.

- Frey, S. and Petrides, M. (2000) Orbitofrontal cortex: A key prefrontal region for encoding information. *Proc Natl Acad Sci U S A* **97**, 8723-7.
- Frith, C. D. and Done, D. J. (1986) Routes to action in reaction time tasks. *Psychol Res* **48**, 169-77.
- Gaffan, D. and Parker, A. (2000) Mediodorsal thalamic function in scene memory in rhesus monkeys. *Brain* **123**, 816-27.
- Gahr, M. (2001) Neurale Grundlagen von Motivation und Emotion. In: *Neurowissenschaft: vom Molekül zur Kognition*, pp. 465-86. Eds. J. Dudel, R. Menzel and R. F. Schmidt. Springer: Berlin, Heidelberg.
- Gallagher, M., McMahan, R. W. and Schoenbaum, G. (1999) Orbitofrontal cortex and representation of incentive value in associative learning. *J Neurosci* **19**, 6610-4.
- Gean, P. W., Chang, F. C., Huang, C. C., Lin, J. H. and Way, L. J. (1993) Long-term enhancement of EPSP and NMDA receptor-mediated synaptic transmission in the amygdala. *Brain Res Bull* **31**, 7-11.
- Giertler, C. (2000) Die Rolle von Dopamin- und NMDA-Rezeptoren im Caudatus-Putamen bei sensomotorischen Integrationsprozessen der Ratte.
- Grassi, S. and Pettorossi, V. E. (2001) Synaptic plasticity in the medial vestibular nuclei: role of glutamate receptors and retrograde messengers in rat brainstem slices. *Prog Neurobiol* **64**, 527-53.
- Groenewegen, H. J. (1988) Organization of the afferent connections of the mediodorsal thalamic nucleus in the rat, related to the mediodorsal-prefrontal topography. *Neuroscience* **24**, 379-431.
- Groenewegen, H. J. and Berendse, H. W. (1994) Anatomical relationships between the prefrontal cortex and the basal ganglia in the rat. In: *Motor and cognitive functions of the prefrontal cortex.*, pp. 51-77. Eds. A. M. Thierry, J. Glowinski, P. Goldman-Rakic and Y. Christen. Springer: New York.
- Groenewegen, H. J., Berendse, H. W., Meredith, G. E., Haber, S. N., Voorn, P., Wolters, J. G. and Lohman, A. H. M. (1991) *Functional anatomy of the ventral, limbic system-innervated striatum*. John Wiley & Sons LTD.
- Groenewegen, H. J., Berendse, H. W., Wolters, J. G. and Lohman, A. H. (1990) The anatomical relationship of the prefrontal cortex with the striatopallidal system, the thalamus and the amygdala: evidence for a parallel organization. *Prog Brain Res* **85**, 95-116.
- Groenewegen, H. J. and Uylings, H. B. (2000) The prefrontal cortex and the integration of sensory, limbic and autonomic information. *Prog Brain Res* **126**, 3-28.
- Groenewegen, H. J., Wright, C. I. and Beijer, A. V. (1996) The nucleus accumbens: gateway for limbic structures to reach the motor system? *Prog Brain Res* **107**, 485-511.
- Groenewegen, H. J., Wright, C. I. and Uylings, H. B. (1997) The anatomical relationships of the prefrontal cortex with limbic structures and the basal ganglia. *J Psychopharmacol* **11**, 99-106.

- Haber, S. N., Kunishio, K., Mizobuchi, M. and Lynd-Balta, E. (1995) The orbital and medial prefrontal circuit through the primate basal ganglia. *J Neurosci* **15**, 4851-67.
- Hatfield, T., Han, J. S., Conley, M., Gallagher, M. and Holland, P. (1996) Neurotoxic lesions of basolateral, but not central, amygdala interfere with Pavlovian second-order conditioning and reinforcer devaluation effects. *J Neurosci* **16**, 5256-65.
- Hauber, W., Bohn, I. and Gierler, C. (2000) NMDA, but not dopamine D(2), receptors in the rat nucleus accumbens are involved in guidance of instrumental behavior by stimuli predicting reward magnitude. *J Neurosci* **20**, 6282-8.
- Hauber, W., Gierler, C. and Bohn, I. (2001) NMDA and dopamine D2 receptors in the caudate-putamen are not involved in control of motor readiness in rats. *Psychopharmacology (Berl)* **155**, 43-51.
- Hikosaka, K. and Watanabe, M. (2000) Delay activity of orbital and lateral prefrontal neurons of the monkey varying with different rewards. *Cereb Cortex* **10**, 263-71.
- Hodgson, T., Mort, D., Chamberlain, M., Hutton, S., O'Neill, K. and Kennard, C. (2002) Orbitofrontal cortex mediates inhibition of return. *Neuropsychologia* **40**.
- Holland, P. C. and Gallagher, M. (1999) Amygdala circuitry in attentional and representational processes. *Trends Cogn Sci* **3**, 65-73.
- Hollerman, J. R., Tremblay, L. and Schultz, W. (1998) Influence of reward expectation on behavior-related neuronal activity in primate striatum. *J Neurophysiol* **80**, 947-63.
- Hollerman, J. R., Tremblay, L. and Schultz, W. (2000) Involvement of basal ganglia and orbitofrontal cortex in goal-directed behavior. *Prog Brain Res* **126**, 193-215.
- Hollmann, M. and Heinemann, S. (1994) Cloned glutamate receptors. *Annu Rev Neurosci* **17**, 31-108.
- Hrabetova, S. and Sacktor, T. C. (1997) Long-term potentiation and long-term depression are induced through pharmacologically distinct NMDA receptors. *Neurosci Lett* **226**, 107-10.
- Jahanshahi, M., Brown, R. G. and Marsden, C. D. (1992) Simple and choice reaction time and the use of advance information for motor preparation in Parkinson's disease. *Brain* **115**, 539-64.
- Jentsch, J. D. and Taylor, J. R. (1999) Impulsivity resulting from frontostriatal dysfunction in drug abuse: implications for the control of behavior by reward-related stimuli. *Psychopharmacology (Berl)* **146**, 373-90.
- Jones, M. W., Kilpatrick, I. C. and Phillipson, O. T. (1987) Regulation of dopamine function in the prefrontal cortex of the rat by the thalamic mediodorsal nucleus. *Brain Res Bull* **19**, 9-17.
- Kalivas, P. W. and Nakamura, M. (1999) Neural systems for behavioral activation and reward. *Curr Opin Neurobiol* **9**, 223-7.
- Kandel, E. R., Schwartz, J. H. and Jessel, T. M. (2000) *Principles of neural science*. McGraw-Hill.

- Kawagoe, R., Takikawa, Y. and Hikosaka, O. (1998) Expectation of reward modulates cognitive signals in the basal ganglia. *Nat Neurosci* **1**, 411-6.
- Keinanen, K., Wisden, W., Sommer, B., Werner, P., Herb, A., Verdoorn, T. A., Sakmann, B. and Seeburg, P. H. (1990) A family of AMPA-selective glutamate receptors. *Science* **249**, 556-60.
- Kodama, T., Hikosaka, K. and Watanabe, M. (2002) Differential changes in glutamate concentration in the primate prefrontal cortex during spatial delayed alternation and sensory-guided tasks. *Exp Brain Res* **145**, 133-41.
- Kolb, B. (1990) Animal models for human PFC-related disorders. *Prog Brain Res* **85**, 501-19.
- Kolb, B. and Nonneman, A. J. (1975) Prefrontal cortex and the regulation of food intake in the rat. *J Comp Physiol Psychol* **88**, 806-15.
- Kolb, B., Nonneman, A. J. and Singh, R. K. (1974) Double dissociation of spatial impairments and perseveration following selective prefrontal lesions in rats. *J Comp Physiol Psychol* **87**, 772-80.
- Kolb, B., Sutherland, R. J. and Wishaw, I. Q. (1983) A comparison of the contributions of the frontal and parietal association cortex to spatial localization in rats. *Behav Neurosci* **97**, 13-27.
- Koob, G. F., Sanna, P. P. and Bloom, F. E. (1998) Neuroscience of addiction. *Neuron* **21**, 467-76.
- Koob, G. F. (1999) Drug reward and addiction. In: *Fundamental Neuroscience*, pp. 1261-79. Eds. M. J. Zigmond, F. E. Bloom, S. C. Landis, J. L. Roberts and L. R. Squire. Academic Press: San Diego.
- Krushel, L. A. and van der Kooy, D. (1988) Visceral cortex: integration of the mucosal senses with limbic information in the rat agranular insular cortex. *J Comp Neurol* **270**, 39-54, 62-3.
- Kubota, K. and Komatsu, H. (1985) Neuron activities of monkey prefrontal cortex during the learning of visual discrimination tasks with GO/NO-GO performances. *Neurosci Res* **3**, 106-29.
- Kupfermann, I., Kandel, E. R. and Iversen, S. (2000) Motivational and addictive states. In: *Principles of neural science*, pp. 998-1013. Eds. E. R. Kandel, J. H. Schwartz and T. M. Jessell. McGraw-Hill Companies.
- Lafon-Cazal, M., Pietri, S., Culcasi, M. and Bockaert, J. (1993) NMDA-dependent superoxide production and neurotoxicity. *Nature* **364**, 535-7.
- Leonard, C. M. (1969) The prefrontal cortex of the rat. I. Cortical projection of the mediodorsal nucleus. II. Efferent connections. *Brain Res* **12**, 321-43.
- Lexikon der Neurowissenschaft (2001). Spektrum Akademischer Verlag GmbH, Heidelberg.
- Lipton, P. A., Alvarez, P. and Eichenbaum, H. (1999) Crossmodal associative memory representations in rodent orbitofrontal cortex. *Neuron* **22**, 349-59.

- Lissek, S., Diekamp, B. and Gunturkun, O. (2002) Impaired learning of a color reversal task after NMDA receptor blockade in the pigeon (*Columba livia*) associative forebrain (neostriatum caudolaterale). *Behav Neurosci* **116**, 523-9.
- London, E. D., Ernst, M., Grant, S., Bonson, K. and Weinstein, A. (2000) Orbitofrontal cortex and human drug abuse: functional imaging. *Cereb Cortex* **10**, 334-42.
- Lu, W., Man, H., Ju, W., Trimble, W. S., MacDonald, J. F. and Wang, Y. T. (2001) Activation of synaptic NMDA receptors induces membrane insertion of new AMPA receptors and LTP in cultured hippocampal neurons. *Neuron* **29**, 243-54.
- Mackintosh, N. J. (1983) *Conditioning and associative learning*. Clarendon Press: Oxford.
- McFarland, D. (1989) *Biologie des Verhaltens: Evolution, Physiologie, Psychobiologie*. VCH Verlagsgesellschaft mbH: Weinheim.
- McGeorge, A. J. and Faull, R. L. (1989) The organization of the projection from the cerebral cortex to the striatum in the rat. *Neuroscience* **29**, 503-37.
- Meldrum, B. and Garthwaite, J. (1990) Excitatory amino acid neurotoxicity and neurodegenerative disease. *Trends Pharmacol Sci* **11**, 379-87.
- Mello, E. S. T., Vianna, M. R., Rodrigues, C., Quevedo, J., Moleta, B. A. and Izquierdo, I. (2000) Involvement of the medial precentral prefrontal cortex in memory consolidation for inhibitory avoidance learning in rats. *Pharmacol Biochem Behav* **66**, 615-22.
- Menzel, R. (2001) Neuronale Plastizität, Lernen und Gedächtnis. In: *Neurowissenschaft: vom Molekül zur Kognition*, pp. 487-526. Eds. J. Dudel, R. Menzel and R. F. Schmidt. Springer: Berlin, Heidelberg.
- Meunier, M., Bachevalier, J. and Mishkin, M. (1997) Effects of orbital frontal and anterior cingulate lesions on object and spatial memory in rhesus monkeys. *Neuropsychologia* **35**, 999-1015.
- Moll, J., de Oliveira-Souza, R., Bramati, I. E. and Grafman, J. (2002) Functional networks in emotional moral and nonmoral social judgments. *Neuroimage* **16**, 696-703.
- Montaron, M. F., Deniau, J. M., Menetrey, A., Glowinski, J. and Thierry, A. M. (1996) Prefrontal cortex inputs of the nucleus accumbens-nigro-thalamic circuit. *Neuroscience* **71**, 371-82.
- Morecraft, R. J., Geula, C. and Mesulam, M. M. (1992) Cytoarchitecture and neural afferents of orbitofrontal cortex in the brain of the monkey. *J Comp Neurol* **323**, 341-58.
- Morris, J. S. and Dolan, R. J. (2001) Involvement of human amygdala and orbitofrontal cortex in hunger-enhanced memory for food stimuli. *J Neurosci* **21**, 5304-10.
- Morris, R. G. (1989) Synaptic plasticity and learning: selective impairment of learning rats and blockade of long-term potentiation in vivo by the N-methyl-D- aspartate receptor antagonist AP5. *J Neurosci* **9**, 3040-57.
- Nakanishi, S. (1992) Molecular diversity of glutamate receptors and implications for brain function. *Science* **258**, 597-603.

- Nakano, Y., Oomura, Y., Nishino, H., Aou, S., Yamamoto, T. and Nemoto, S. (1984) Neuronal activity in the medial orbitofrontal cortex of the behaving monkey: modulation by glucose and satiety. *Brain Res Bull* **12**, 381-5.
- Nicholls, D. and Attwell, D. (1990) The release and uptake of excitatory amino acids. *Trends Pharmacol Sci* **11**, 462-8.
- Nobre, A. C., Coull, J. T., Frith, C. D. and Mesulam, M. M. (1999) Orbitofrontal cortex is activated during breaches of expectation in tasks of visual attention. *Nat Neurosci* **2**, 11-2.
- Nonneman, A. J., Voigt, J. and Kolb, B. E. (1974) Comparisons of behavioral effects of hippocampal and prefrontal cortex lesions in the rat. *J Comp Physiol Psychol* **87**, 249-60.
- O'Doherty, J., Kringelbach, M. L., Hornak, J., Andrews, C. and Rolls, E. T. (2001) Abstract reward and punishment representations in the human orbitofrontal cortex. *Nat Neurosci* **4**, 95-102.
- O'Doherty, J., Rolls, E. T., Francis, S., Bowtell, R., McGlone, F., Kobal, G., Renner, B. and Ahne, G. (2000a) Sensory-specific satiety-related olfactory activation of the human orbitofrontal cortex. *Neuroreport* **11**, 399-403.
- O'Doherty, J., Rolls, E. T., Francis, S., Bowtell, R., McGlone, F., Kobal, G., Renner, B. and Ahne, G. (2000b) Sensory-specific satiety-related olfactory activation of the human orbitofrontal cortex [corrected and republished article originally printed in *Neuroreport* 2000 Feb 7;11(2):399-403]. *Neuroreport* **11**, 893-7.
- O'Doherty, J. P., Deichmann, R., Critchley, H. D. and Dolan, R. J. (2002) Neural responses during anticipation of a primary taste reward. *Neuron* **33**, 815-26.
- Olney, J. W. (1987) Glutamate. In: *Encyclopedia of Neuroscience Vol. 1*, pp. 468-70.
- Ongur, D. and Price, J. L. (2000) The organization of networks within the orbital and medial prefrontal cortex of rats, monkeys and humans. *Cereb Cortex* **10**, 206-19.
- Otto, T. and Eichenbaum, H. (1992) Complementary roles of the orbital prefrontal cortex and the perirhinal- entorhinal cortices in an odor-guided delayed-nonmatching-to-sample task. *Behav Neurosci* **106**, 762-75.
- Paxinos, G. and Watson C. (1986). *The rat brain in stereotaxic coordinates* (2nd ed.). Academic Press: San Diego, CA.
- Pellegrini-Giampietro, D. E., Gorter, J. A., Bennett, M. V. and Zukin, R. S. (1997) The GluR2 (GluR-B) hypothesis: Ca²⁺-permeable AMPA receptors in neurological disorders. *Trends Neurosci* **20**, 464-70.
- Pennartz, C. M., McNaughton, B. L. and Mulder, A. B. (2000) The glutamate hypothesis of reinforcement learning. *Prog Brain Res* **126**, 231-53.
- Porrino, L. J. and Lyons, D. (2000) Orbital and medial prefrontal cortex and psychostimulant abuse: studies in animal models. *Cereb Cortex* **10**, 326-33.
- Preuss, T. M. (1995) Do rats have prefrontal cortex? The Rose- Woolsey- Akert program reconsidered. *J. Cogn. Neurosci.* **7**, 1-24.

- Ragozzino, M. E. and Kesner, R. P. (1999) The role of the agranular insular cortex in working memory for food reward value and allocentric space in rats. *Behav Brain Res* **98**, 103-12.
- Rahman, S., Sahakian, B. J., Cardinal, R. N., Rogers, R. D. and Robbins, T. W. (2001) Decision making and neuropsychiatry. *Trends Cogn Sci* **5**, 271-7.
- Ramus, S. J. and Eichenbaum, H. (2000) Neural correlates of olfactory recognition memory in the rat orbitofrontal cortex. *J Neurosci* **20**, 8199-208.
- Ray, J. P., Russchen, F. T., Fuller, T. A. and Price, J. L. (1992) Sources of presumptive glutamatergic/aspartatergic afferents to the mediodorsal nucleus of the thalamus in the rat. *J Comp Neurol* **320**, 435-56.
- Reep, R. (1984) Relationship between prefrontal and limbic cortex: a comparative anatomical review. *Brain Behav Evol* **25**, 5-80.
- Reep, R. L., Corwin, J. V. and King, V. (1996) Neuronal connections of orbital cortex in rats: topography of cortical and thalamic afferents. *Exp Brain Res* **111**, 215-32.
- Robbins, T. W. and Everitt, B. J. (1996) Neurobehavioural mechanisms of reward and motivation. *Curr Opin Neurobiol* **6**, 228-36.
- Robbins, T. W. and Everitt, B., J. (1999) Motivation and reward. In: *Fundamental Neuroscience*, pp. 1245-60. Eds. M. J. Zigmond, F. E. Bloom, S. C. Landis, J. L. Roberts and L. R. Squire. Academic Press: San Diego.
- Robbins, T. W., Muir, J. L., Killcross, A. S. and Pretsell, D. (1993) Methods for assessing attention and stimulus control in the rat. In: *Behavioural Neuroscience, A Practical Approach Vol. 1*, pp. 13-47. Ed. A. Sahgal. Oxford University Press.
- Rogers, R. D., Owen, A. M., Middleton, H. C., Williams, E. J., Pickard, J. D., Sahakian, B. J. and Robbins, T. W. (1999) Choosing between small, likely rewards and large, unlikely rewards activates inferior and orbital prefrontal cortex. *J Neurosci* **19**, 9029-38.
- Rolls, E. T. (1984) The neurophysiology of feeding. *Int J Obes* **8**, 139-50.
- Rolls, E. T. (1996) The orbitofrontal cortex. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* **351**, 1433-43; discussion 1443-4.
- Rolls, E. T. (1997) Taste and olfactory processing in the brain and its relation to the control of eating. *Crit Rev Neurobiol* **11**, 263-87.
- Rolls, E. T. (1999) *The Brain and Emotion*. Oxford University Press: London.
- Rolls, E. T. (2000) The orbitofrontal cortex and reward. *Cereb Cortex* **10**, 284-94.
- Rolls, E. T. and Baylis, L. L. (1994) Gustatory, olfactory, and visual convergence within the primate orbitofrontal cortex. *J Neurosci* **14**, 5437-52.
- Rolls, E. T., Critchley, H. D., Browning, A. S., Hernadi, I. and Lenard, L. (1999) Responses to the sensory properties of fat of neurons in the primate orbitofrontal cortex. *J Neurosci* **19**, 1532-40.

- Rolls, E. T., Critchley, H. D., Mason, R. and Wakeman, E. A. (1996) Orbitofrontal cortex neurons: role in olfactory and visual association learning. *J Neurophysiol* **75**, 1970-81.
- Rolls, E. T., Hornak, J., Wade, D. and McGrath, J. (1994) Emotion-related learning in patients with social and emotional changes associated with frontal lobe damage. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* **57**, 1518-24.
- Rose, J. E. and Woolsey, C. N. (1948) The orbitofrontal cortex and its connections with the mediodorsal nucleus in rabbit, sheep, and cat. *Res. Publ. Ass. Nerv. Ment. Dis.* **27**, 210-32.
- Royet, J. P., Zald, D., Versace, R., Costes, N., Lavenne, F., Koenig, O. and Gervais, R. (2000) Emotional responses to pleasant and unpleasant olfactory, visual, and auditory stimuli: a positron emission tomography study [In Process Citation]. *J Neurosci* **20**, 7752-9.
- Rudolf, G. D., Cronin, C. A., Landwehrmeyer, G. B., Standaert, D. G., Penney, J. B., Jr. and Young, A. B. (1996) Expression of N-methyl-D-aspartate glutamate receptor subunits in the prefrontal cortex of the rat. *Neuroscience* **73**, 417-27.
- Schoenbaum, G., Chiba, A. A. and Gallagher, M. (1998) Orbitofrontal cortex and basolateral amygdala encode expected outcomes during learning. *Nat Neurosci* **1**, 155-9.
- Schoenbaum, G., Chiba, A. A. and Gallagher, M. (1999) Neural encoding in orbitofrontal cortex and basolateral amygdala during olfactory discrimination learning. *J Neurosci* **19**, 1876-84.
- Schoenbaum, G., Chiba, A. A. and Gallagher, M. (2000) Changes in Functional Connectivity in Orbitofrontal Cortex and Basolateral Amygdala during Learning and Reversal Training. *J Neurosci* **20**, 5179-89.
- Schoenbaum, G. and Eichenbaum, H. (1995a) Information coding in the rodent prefrontal cortex. I. Single-neuron activity in orbitofrontal cortex compared with that in pyriform cortex. *J Neurophysiol* **74**, 733-50.
- Schoenbaum, G. and Eichenbaum, H. (1995b) Information coding in the rodent prefrontal cortex. II. Ensemble activity in orbitofrontal cortex. *J Neurophysiol* **74**, 751-62.
- Schoenbaum, G., Nugent, S. L., Saddoris, M. P. and Setlow, B. (2002) Orbitofrontal lesions in rats impair reversal but not acquisition of go, no-go odor discriminations. *Neuroreport* **13**, 885-90.
- Schoenbaum, G. and Setlow, B. (2001) Integrating orbitofrontal cortex into prefrontal theory: common processing themes across species and subdivisions. *Learn Mem* **8**, 134-47.
- Schoenbaum, G., Setlow, B. and Gallagher, M. (2002, in Druck) Orbitofrontal cortex: modeling prefrontal function in rats. In: *The Neuropsychology of Memory*. Eds. L. Squire and D. Schacter.
- Schroeder, B. E., Binzack, J. M. and Kelley, A. E. (2001) A common profile of prefrontal cortical activation following exposure to nicotine- or chocolate-associated contextual cues. *Neuroscience* **105**, 535-45.
- Schultz, W. (2000) Multiple reward signals in the brain. *Nat Rev Neurosci* **1**, 199-207.

- Schultz, W., Tremblay, L. and Hollerman, J. R. (1998) Reward prediction in primate basal ganglia and frontal cortex. *Neuropharmacology* **37**, 421-9.
- Schultz, W., Tremblay, L. and Hollerman, J. R. (2000) Reward processing in primate orbitofrontal cortex and basal ganglia. *Cereb Cortex* **10**, 272-84.
- Small, D. M., Zatorre, R. J., Dagher, A., Evans, A. C. and Jones-Gotman, M. (2001) Changes in brain activity related to eating chocolate: from pleasure to aversion. *Brain* **124**, 1720-33.
- Spanagel, R. (1997) Suchtkrankheiten. In: *Klinische Neurobiologie: molekulare Pathogenese und Therapie von neurobiologischen Erkrankungen*, pp. 281-306. Eds. T. Herdegen, T. R. Tölle and M. Bähr. Spektrum Akademischer Verlag: Heidelberg, Berlin, Oxford.
- Spiro, J. E. (2001) Reward and punishment in orbitofrontal cortex. *Nat Neurosci* **4**, 12.
- Squire, L. R. and Kandel, E. R. (1999) *Gedächtnis: die Natur des Erinnerns*. Spektrum: Heidelberg, Berlin.
- Swerdlow, N. R., Caine, S. B. and Geyer, M. A. (1992) Regionally selective effects of intracerebral dopamine infusion on sensorimotor gating of the startle reflex in rats. *Psychopharmacology* **108**, 189-95.
- Takita, M., Yokoi, H. and Mizuno, T. (1997) NMDA receptor clustering in rat prefrontal cortex revealed by in vitro calcium macroimaging. *Neuroreport* **8**, 551-3.
- Tembrock, G. (1977) Lernen am Erfolg. In: *Grundlagen des Tierverhaltens.*, pp. 167-77. Akademie-Verlag: Berlin.
- Thorpe, S. J., Rolls, E. T. and Maddison, S. (1983) The orbitofrontal cortex: neuronal activity in the behaving monkey. *Exp Brain Res* **49**, 93-115.
- Thut, G., Schultz, W., Roelcke, U., Nienhusmeier, M., Missimer, J., Maguire, R. P. and Leenders, K. L. (1997) Activation of the human brain by monetary reward. *Neuroreport* **8**, 1225-8.
- Tohyama, M. and Taktsuji, K. (1998) The glutamatergic system. In: *Atlas of neuroactive substances and their receptors in the rat*, pp. 130-43. Oxford University Press.
- Tremblay, L. and Schultz, W. (1999) Relative reward preference in primate orbitofrontal cortex. *Nature* **398**, 704-8.
- Tremblay, L. and Schultz, W. (2000a) Reward-related neuronal activity during go-nogo task performance in primate orbitofrontal cortex. *J Neurophysiol* **83**, 1864-76.
- Tremblay, L. and Schultz, W. (2000b) Modifications of reward expectation-related neuronal activity during learning in primate orbitofrontal cortex. *J Neurophysiol* **83**, 1877-85.
- Uylings, H. B. and van Eden, C. G. (1990) Qualitative and quantitative comparison of the prefrontal cortex in rat and in primates, including humans. *Prog Brain Res* **85**, 31-62.
- Van Eden, C. G., Lamme, V. A. and Uylings, H. B. (1992) Heterotopic Cortical Afferents to the Medial Prefrontal Cortex in the Rat. A Combined Retrograde and Anterograde Tracer Study. *Eur J Neurosci* **4**, 77-97.

- Villarrreal, D. M., Do, V., Haddad, E. and Derrick, B. E. (2002) NMDA receptor antagonists sustain LTP and spatial memory: active processes mediate LTP decay. *Nat Neurosci* **5**, 48-52.
- Wallis, J. D., Dias, R., Robbins, T. W. and Roberts, A. C. (2001) Dissociable contributions of the orbitofrontal and lateral prefrontal cortex of the marmoset to performance on a detour reaching task. *Eur J Neurosci* **13**, 1797-808.
- Wanke, K. (1985) Süchtiges Verhalten. In: *Deutsche Hauptstelle gegen die Suchtgefahren*, pp. 20.
- Wanke, K. and Täschner, K. L. (1985) Rauschmittel, p. 13: Stuttgart.
- Warren, J. M. and Akert, K. (1964) *The frontal granular cortex and behavior*. McGraw-Hill: New York.
- Watanabe, M. (1999) Neurobiology. Attraction is relative not absolute. *Nature* **398**, 661-3.
- Westbrook, G. L. (1994) Glutamate receptor update. *Curr Opin Neurobiol* **4**, 337-46.
- Wilcott, R. C. (1981) Medial and orbital cortex and the suppression of behavior in the rat. *Physiol Behav* **27**, 237-41.
- Wise, R. A. (1996) Addictive drugs and brain stimulation reward. *Annu Rev Neurosci* **19**, 319-40.
- Wittenberg, G. and Tsien, J. (2002) An emerging molecular and cellular framework for memory processing by the hippocampus. *Trends Neurosci* **25**, 501.
- Wright, C. I. and Groenewegen, H. J. (1996) Patterns of overlap and segregation between insular cortical, intermediodorsal thalamic and basal amygdaloid afferents in the nucleus accumbens of the rat. *Neuroscience* **73**, 359-73.
- Yonemori, M., Nishijo, H., Uwano, T., Tamura, R., Furuta, I., Kawasaki, M., Takashima, Y. and Ono, T. (2000) Orbital cortex neuronal responses during an odor-based conditioned associative task in rats. *Neuroscience* **95**, 691-703.
- Young, A. B., Dauth, G. W., Hollingsworth, Z., Penney, J. B., Kaatz, K. and Gilman, S. (1990) Quisqualate- and NMDA-sensitive [³H]glutamate binding in primate brain. *J Neurosci Res* **27**, 512-21.
- Zhang, S., Tang, J. S., Yuan, B. and Jia, H. (1997) Involvement of the frontal ventrolateral orbital cortex in descending inhibition of nociception mediated by the periaqueductal gray in rats. *Neurosci Lett* **224**, 142-6.
- Zhuo, M., Small, S. A., Kandel, E. R. and Hawkins, R. D. (1993) Nitric oxide and carbon monoxide produce activity-dependent long-term synaptic enhancement in hippocampus. *Science* **260**, 1946-50.
- Zilles, K. and Rehkämper, G. (1998) *Funktionelle Neuroanatomie*. Springer-Verlag: Berlin, Heidelberg.
- Zilles, K. and Wree, A. (1995) Cortex: areal and laminar structure. In: *The rat nervous system*, pp. 649-85. Ed. G. Paxinos. Academic Press.

9 Danksagung

Hiermit möchte ich allen danken, die mich während meiner Doktorarbeit unterstützt haben, vor allem auch den vielen "kleinen Helfern im Hintergrund", die hier nicht namentlich erwähnt werden.

Ganz besonders möchte ich meinem Doktorvater Prof. Dr. Wolfgang Hauber für die sehr gute Betreuung danken: er nahm sich immer Zeit für mich, hat mit mir in zahlreichen Diskussionsstunden gemeinsame Ideen entwickelt und meine Arbeiten sorgfältig korrigiert.

Bei Prof. Dr. Franziska Wollnik möchte ich mich dafür bedanken, dass sie jederzeit für mich da war, wenn ich ihre Hilfe benötigte, z. B. bei der Beantragung meines Stipendiums und bei der Korrektur meiner Doktorarbeit.

Mein ganz besonderer Dank gilt Christian Giertler, der mit mir alle Erfolge und Rückschläge während der gemeinsamen praktischen Zusammenarbeit durchgemacht hat.

Bedanken möchte ich mich außerdem für die finanzielle Unterstützung durch die Landesgraduiertenförderung Baden-Württemberg und die Deutsche Forschungsgemeinschaft (Ha2340/3-2).

10 Lebenslauf

Zur Person

Ines Bohn
geboren am 20.04.1974 in Nürtingen

Schulbildung

1980 – 1993 Grundschule und Gymnasium in Nürtingen
Abschluss: Abitur, Gesamtnote: 1,3

Hochschulbildung

1993 – 1999 Studium der Technischen Biologie, Universität Stuttgart
Abschluss: Diplom: „Gesamturteil: sehr gut“

2000 – dato Promotion in der Abteilung Tierphysiologie, Biologisches Institut,
Universität Stuttgart

