

# Die Rolle von Dopamin bei der Steuerung des flexiblen Verhaltens der Ratte

---

Von der Fakultät für Energie-, Verfahrens- und Biotechnik der Universität Stuttgart  
zur Erlangung der Würde eines Doktors der Naturwissenschaften  
(Dr. rer. nat.) genehmigte Abhandlung

*Vorgelegt von Carsten Calaminus  
aus Köln*

Hauptberichter: Prof. Dr. Wolfgang Hauber

Mitberichter: Prof. Dr. Franziska Wollnik

Tag der mündlichen Prüfung: 25.01.2010





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 03.11.2009

Carsten Calaminus



Für Luca



# 1 Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>INHALTSVERZEICHNIS.....</b>	<b>7</b>
<b>2</b>	<b>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....</b>	<b>9</b>
<b>3</b>	<b>ABSTRACT.....</b>	<b>11</b>
<b>4</b>	<b>EINLEITUNG .....</b>	<b>13</b>
4.1	BASALGANGLIEN .....	14
4.1.1	<i>Anatomie .....</i>	14
4.1.2	<i>Funktion .....</i>	15
4.2	NUCLEUS ACCUMBENS .....	20
4.3	ORBITOFRONTALER KORTEX.....	24
4.4	DORSALES STRIATUM.....	27
4.5	DOPAMIN .....	31
4.5.1	<i>Anabolismus.....</i>	32
4.5.2	<i>Katabolismus.....</i>	32
4.5.3	<i>Dopamin-Rezeptoren .....</i>	33
4.5.4	<i>Dopamin-Freisetzung .....</i>	34
4.5.5	<i>DA-Rezeptorliganden .....</i>	35
4.5.5.1	SCH23390 .....	35
4.5.5.2	Racloprid/Eticloprid .....	36
4.5.5.3	6-Hydroxydopamin.....	36
4.5.6	<i>Dopamin-System und Lernen.....</i>	37
4.6	GLUTAMAT.....	44
4.6.1	<i>Anabolismus.....</i>	44
4.6.2	<i>Katabolismus.....</i>	45
4.6.3	<i>Glutamat-Rezeptoren .....</i>	46
4.6.3.1	Metabotrope Glutamatrezeptoren .....	46
4.6.3.2	Ionotrope Glutamatrezeptoren .....	47
4.6.3.3	Glutamat-spezifische Pharmaka .....	49
4.6.3.3.1	AP-5 .....	49
4.7	ZIELE DER ARBEIT.....	49

---

<b>5</b>	<b>DURCHGEFÜHRTE ARBEITEN .....</b>	<b>51</b>
5.1	INTACT DISCRIMINATION REVERSAL LEARNING BUT SLOWED RESPONDING TO REWARD- PREDICTIVE CUES AFTER DOPAMINE D1 AND D2 RECEPTOR BLOCKADE IN THE NUCLEUS ACCUMBENS OF RATS .....	51
5.2	GUIDANCE OF INSTRUMENTAL BEHAVIOUR UNDER REVERSAL CONDITIONS REQUIRES DOPAMINE D1 AND D2 RECEPTOR ACTIVATION IN THE ORBITOFRONTAL CORTEX .....	51
5.3	MODULATION OF BEHAVIOR BY EXPECTED REWARD MAGNITUDE DEPENDS ON DOPAMINE IN THE DORSOMEDIAL STRIATUM.....	51
<b>6</b>	<b>ZUSAMMENFASSEND E DISKUSSION .....</b>	<b>92</b>
6.1	REAKTIONSZEITAUFGABE.....	92
6.2	VISUELLE DISKRIMINATIONS AUFGABE .....	94
6.3	RÄUMLICHE VISUELLE DISKRIMINATIONS AUFGABE.....	95
6.4	HABITUATION .....	95
6.5	MIKROINFUSIONEN.....	97
6.6	LÄSION .....	97
6.7	DIE ROLLE VON DOPAMIN IM NUCLEUS ACCUMBENS.....	98
6.8	DIE ROLLE VON DOPAMIN IM ORBITOFRONTAL EN KORTEX.....	103
6.9	DIE ROLLE VON DOPAMIN IM POSTERIOREN DORSOMEDIALEN STRIATUM.....	108
6.10	DIE ROLLE VON DOPAMIN BEIM ZIELGERICHTETEN VERHALTEN.....	112
6.11	ZUSAMMENFASSUNG .....	117
<b>7</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS.....</b>	<b>120</b>
<b>8</b>	<b>DANKSAGUNG .....</b>	<b>134</b>
<b>9</b>	<b>LEBENS LAUF .....</b>	<b>135</b>



## 2 Abkürzungsverzeichnis

6-OHDA	6-Hydroxydopamin
ADHD	Attention-deficit/hyperactivity disorder
AMPA	$\alpha$ -Amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazol-Propionsäure
AP5	2-amino-5-Phosphonopentansäure
ACh	Acetylcholin
BLA	Basolaterale Amygdala
cAMP	cyclisches Adenosinmonophosphat
COMT	Catechol-O-Methyltransferase
DA	Dopamin
DAT	Dopamine active transporter
DS	Dorsales Striatum
DLS	Dorsolaterales Striatum
DMS	Dorsomediales Striatum
DOPAC	(3,4-Dihydroxyphenyl)-Essigsäure
EAAT	Exzitatorischer Aminosäure-Transporter
GABA	$\gamma$ -Aminobuttersäure
GP <sub>e/i</sub>	Globus pallidus externus/internus
L-DOPA	L-3,4-Dihydroxyphenylalanin
MAO	Monoaminoxidase
NAC	Nucleus accumbens
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat
NO	Stickstoffmonoxid
OFC	Orbitofrontaler Kortex
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
PFC	Präfrontaler Kortex
PIT	Pavlovian-to-instrumental transfer
RRA	Retrorubrales Areal
SCH23390	7-chloro-3-methyl-1-phenyl-1,2,4,5-tetrahydro-3-benzazepin-8-ol
SNC	Substantia nigra pars compacta

---

SNr	Substantia nigra pars reticulata
TH	Thyrosinhydroxylase
VTA	Ventrales tegmentales Areal
VMAT	vesikulärer Monoamintransporter
ZNS	Zentrales Nervensystem

Bezeichnungen, die im deutschsprachigen Teil der Arbeit aus dem Englischen, Lateinischen und Französischen übernommen wurden, sind im Text kursiv gedruckt.

### 3 Abstract

It has long been recognized that the rewarding effects of actions and their outcomes are mediated by mesocorticolimbic dopamine systems, comprising dopamine neurons in the ventral tegmental area and substantia nigra and their projections to the striatum, orbitofrontal cortex and other forebrain regions. Major efforts have attempted to specify what function this system contributes. Does mesocorticolimbic dopamine mediate the pleasure of reward stimuli? This was originally suggested because mesocorticolimbic systems are activated by many natural and drug rewards, and their blockade impairs the behavioural effectiveness of most reinforcers. Do mesocorticolimbic projections instead learn and predict the occurrence of rewards? That prediction error hypothesis was based on evidence that DA neurons fire to cues that predict rewards but not to already predicted hedonic rewards. Do mesocorticolimbic dopamine systems mediate the incentive salience attributed to neural representations of rewards and cues, causing them to become perceived as “wanted” goals? That incentive salience hypothesis of dopamine function was based originally on evidence that mesolimbic dopamine is not needed to mediate the hedonic impact or “liking” for sweet rewards, despite its importance for motivated behaviour to obtain the same rewards.

This dissertation would make a small contribution to the understanding of learning behaviour, as we examined the role of dopamine in different learning paradigms in an animal model. In addition microinfusions and lesions of different subareas of the basal ganglia and the cortex of rats were accomplished and the effects of these manipulations on the learning behaviour of the animals were observed.

In the first experiment we examined the effects of a selective D1 or D2 receptor blockade in the AcbC on learning a reversal of previously acquired cue-reward magnitude contingencies. Therefore rats were trained on a reaction time (RT) task demanding conditioned lever release with discriminative visual cues signalling in advance the upcoming reward magnitude (one or five food pellets). After acquisition, RTs were guided by cue-associated reward magnitudes. Thereafter, cue–reward magnitude contingencies were reversed. Reversal learning was tested for 12 daily sessions with intra-AcbC microinfusions being given on sessions 1-6. Subjects

received pre-trial infusions of different concentrations of the selective D1 or D2 receptor antagonists, SCH23390 or raclopride. We observed no inhibition of discrimination reversal learning after infusion of SCH23390 or raclopride, but the higher dose of each drug increased RTs of instrumental responses.

In the second experiment we examined the effects of a selective D1 or D2 receptor blockade in the OFC on learning a reversal of previously acquired stimulus–reward magnitude contingencies. Rats were trained on the same reaction time (RT) task as used in experiment one. After acquisition, RTs were guided by stimulus-associated reward magnitudes, i.e. RTs of responses were significantly shorter for expected high vs. low reward. Thereafter, stimulus–reward magnitude contingencies were reversed and learning was tested under reversal conditions for three blocks after pre-trial infusions of selective D1 or D2 receptor antagonists SCH23390 and eticlopride. For comparisons, we included intra-OFC infusions of the selective *N*-methyl-D-aspartate receptor antagonist AP5. Results revealed that in animals subjected to intra-OFC infusions of SCH23390 or eticlopride learning a reversal of previously acquired stimulus reward-magnitude contingencies was impaired.

In the third experiment was divided in three parts. In the first part adopting a reaction time task, reaction times of responding were reliably shorter on cued large reward trials than on cued small reward trials. Results showed that pDMS dopamine depletion impaired reward-dependent modulation of reaction times, if visual cues predict large vs. small reward, but not if visual cues predict reward vs. no reward. In part 2 and 3, a pDMS dopamine depletion did not compromise the acquisition of a conditional visual discrimination task in an operant box that required learning a rule of the type “if the cue light is bright press left lever for reward, if dim press right lever” and did not impair the acquisition of a cross maze task that required learning a visual cue discrimination strategy to obtain food reward.

Taken together these results implicate, that dopamine plays variable roles in the different brain areas during goal directed behavior, even though these areas belong to the same functional loop. This implies that the functional separation of the multiple functional loops in an associative and a limbic circuit is not clear. There seems to be, at least in some cases a functional overlap, which speaks against a strictly dissociation of the aforementioned cortico-striatal-thalamic-cortical loops.

## 4 Einleitung

Menschen und Tiere sind von Geburt an einer sich ständig ändernden Umwelt ausgesetzt. Ein Überleben in dieser Umwelt hängt maßgeblich davon ab, inwieweit ein Individuum in der Lage ist, sich an diese sich laufend ändernden Umweltbedingungen anzupassen. Dazu müssen bestimmte Verhaltensweisen neu gelernt bzw. bereits erlernte Verhaltensmuster umgelernt werden. Lernen ist also eine essentielle Voraussetzung für das Überleben. Deshalb versuchen Forscher seit vielen Jahren das Lernverhalten von Tier und Mensch besser zu verstehen. Während ganz zu Beginn der Lernforschung noch einfache, habituelle Verhaltensweisen untersucht wurden, sind in den letzten Jahren komplexere, assoziative Lernvorgänge und die daran beteiligten Hirnareale und Neurotransmitter in den Mittelpunkt gerückt.

Das Wissen um die Funktion der Interaktionen zwischen den Hirnarealen sowie deren biochemische, elektrophysiologische und lerntheoretische Grundlagen werden zu einem besseren Verständnis von tierischem und menschlichem Lernverhalten führen. Dies kann helfen, neurodegenerative Erkrankungen frühzeitig anhand spezifischer Lerndefizite zu erkennen und möglicherweise neue Wege eröffnen, diese effektiver zu behandeln. Einen bescheidenen Beitrag zum besseren Verständnis menschlichen Lernverhaltens soll die vorliegende Arbeit leisten, in der die Rolle von Dopamin bei bestimmten Lernvorgängen am Tiermodell untersucht wird. Dazu wurden Mikroinfusionen und Läsionen verschiedener Teilbereiche der Basalganglien und des Kortex von Ratten durchgeführt und der Einfluß dieser Eingriffe auf das Lernverhalten der Tiere untersucht.

Beginnen wird die Einleitung mit einem kurzen Überblick über die Struktur und soweit bekannt die Funktion der an der Steuerung des Lernverhaltens beteiligten Areale des präfrontalen Kortex und der Basalganglien. Das Hauptaugenmerk liegt auf den für die vorliegende Arbeit relevanten Teilbereichen. Der darauf folgende Abschnitt widmet sich den biochemischen Grundlagen der untersuchten Neurotransmitter Dopamin und Glutamat, die beide nach aktuellem Kenntnisstand bei der Steuerung des Lernverhaltens eine wichtige Rolle zu spielen scheinen. Den Abschluß der Einleitung bildet ein umfassender Überblick über die relevanten

Theorien zur Funktion von Dopamin im Kortex und den Basalganglien bei der Steuerung des Lernverhaltens und den Einfluß den Dopamin auf die Vermittlung lernrelevanter Informationen im Kortex und in den Basalganglien ausübt.

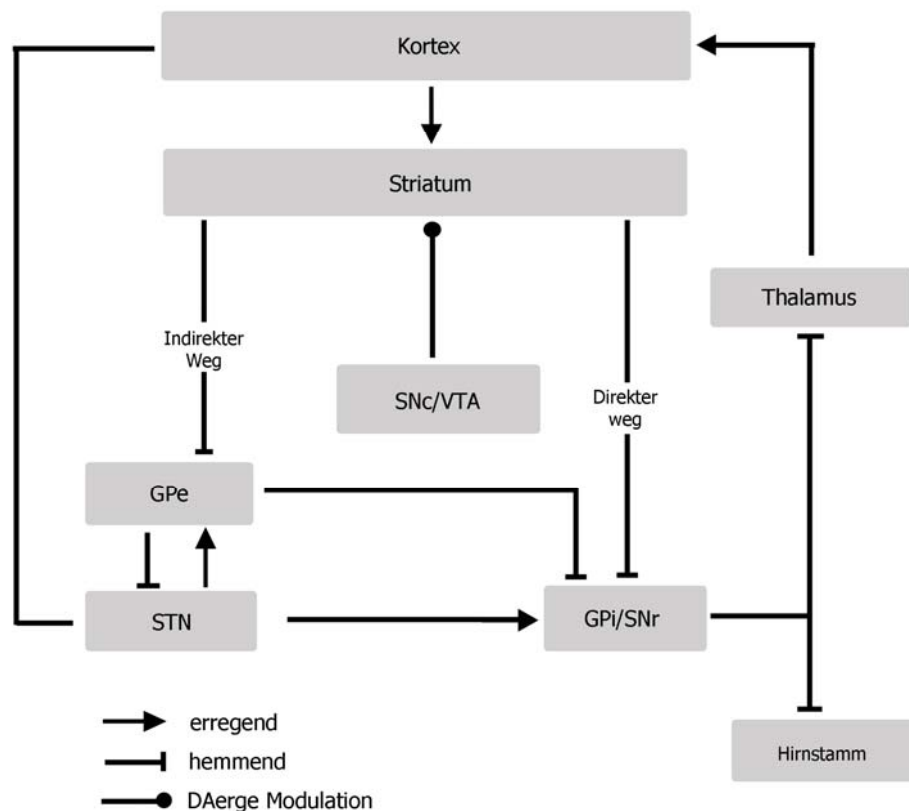
## 4.1 Basalganglien

### **4.1.1 Anatomie**

Unter dem Begriff der Basalganglien werden Strukturen des Mittel- und Vorderhirns zusammengefaßt, die während der Gehirnentwicklung gemeinsam aus dem Ganglienhügel (*Eminentia ganglionaris*) des Keimlings hervorgegangen sind und funktionell zusammengehören. Dies sind namentlich die Substantia nigra, der Globus pallidus, der N. subthalamicus, sowie der N. caudatus und das Putamen. In den letzteren sind unter dem Mikroskop kleine Streifen weißer Substanz zu erkennen. Aus diesem Grund tragen diese zusammen den Namen Striatum, oder auch Streifenkörper. Ventral von diesen Teilen des Striatums liegt darüber hinaus noch das sog. ventrale Striatum, dessen wichtigster Teil als N. accumbens bezeichnet wird. Im Unterschied zum Primaten sind bei Nagetieren die beiden Bereiche des N. caudatus und des Putamens nicht getrennt und werden deshalb als Caudatus-Putamen, oder dorsales Striatum bezeichnet (Kandel *et al.* 2000).

Das Striatum bildet die Eingangsstruktur der Basalganglien (z.B. Delgado 2007; Pasupathy and Miller 2005). Dort werden die eingehenden Informationen verarbeitet und in andere Strukturen der Basalganglien weitergeleitet (Bellebaum *et al.* 2008; Lansink *et al.* 2008; Lau and Glimcher 2007). Es empfängt Informationen aus nahezu allen Kortexbereichen und dem Thalamus. Sowohl der Kortex, als auch der Thalamus (Thal) projizieren über glutamaterge Bahnen zum Striatum (z.B. Parsons *et al.* 2007; Smith *et al.* 2004; Tisch *et al.* 2004). Daneben erreicht das Striatum auch eine starke dopaminerge Innervation aus dem Mittelhirn (z.B. Ferreira *et al.* 2008; Horvitz 2002). Die striatofugalen Projektionsneurone sind GABAerg, hemmen also die nachfolgenden Bereiche (Lacey *et al.* 2005). Schließlich werden die durch das Striatum prozessierten Informationen entweder über direkte Projektionen zur Substantia nigra pars reticulata (SNr) und den N. entopeduncularis (Ratte) bzw.

Globus pallidus internus/medialis (Primat), die man als Ausgangsstrukturen der Basalganglien bezeichnet, geleitet. Die indirekten Projektionen ziehen über den Globus pallidus externa ( $GP_e$ ) und den N. subthalamicus zu den Ausgangsstrukturen zurück. Die Ausgangsstrukturen wiederum projizieren dann zu Arealen, die motorische, aber auch kognitive Prozesse initiieren (z.B. Alberts *et al.* 2008; Cakmakli *et al.* 2009; Sauleau *et al.* 2009; Yelnik 2008). Auf Grund dieses zirkulären Informationsflusses vom Kortex/Thalamus zum Striatum und zurück, spricht man von sog. Funktionsschleifen.



**Abbildung 1:** Schaltkreis der Basalganglien. Das Striatum bildet die Eingangsstruktur der Basalganglien. Es empfängt Informationen aus verschiedenen Kortexarealen und dem Thalamus, sowie Afferenzen aus dem Mittelhirn (SNc/VTA). Ausgehend vom Striatum gelangen die Informationen dann entweder über den indirekten Weg zum Globus pallidus externa ( $GP_e$ ) und den Subthalamischen Nucleus, oder über den direkten Weg zum Globus pallidus internus ( $GP_i$ ) und die Substantia nigra pars reticulata (SNr) wieder zu den kortikalen Ausgangsstrukturen zurück (mod. nach Yin and Knowlton 2006).

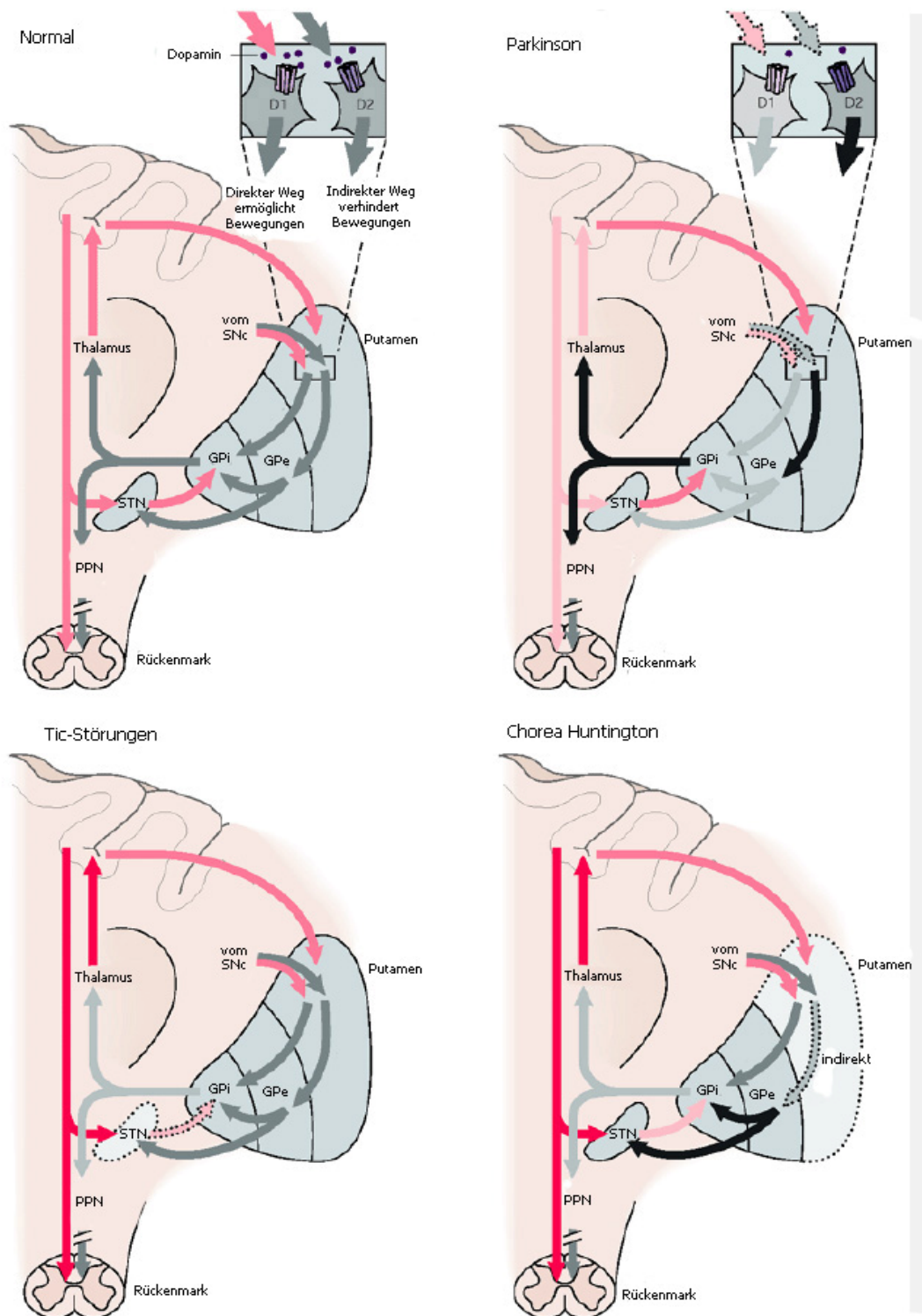
#### 4.1.2 Funktion

Die Basalganglien selektieren eingehende Informationen und filtern diejenigen heraus, die für den Organismus aktuell von größter Bedeutung sind (Balleine *et al.*

2007; Lau and Glimcher 2007). Da sowohl die efferenten Projektionen vom Striatum zum Globus pallidus internus/N. entopeduncularis, als auch die von dort weitergehenden efferenten Projektionen zum Thalamus GABAerg (hemmend) sind, wird bei einer Aktivierung der striatalen Efferenzen der Globus pallidus internus/N. entopeduncularis gehemmt und in der Folge die für den Organismus essentiellen Prozesse im Thalamus „enthemmt“ (Abb. 1), während alle irrelevanten Prozesse weiterhin gehemmt bleiben. Diese Funktion der Basalganglien wird von Neuropsychologen auch in der *Gating* – Theorie zusammengefaßt (French and Totterdell 2002; Levy 2004; O'Donnell and Grace 1995). Diese besagt, daß die Eingangsstruktur der Basalganglien, das Striatum, eine Art Selektionsfunktion ausübt und bestimmte situationsangemessene motorische Verhaltensmuster auswählt, andere hingegen unterdrückt. Anschließend erhält die ausgewählte Verhaltensweise den exklusiven Zugriff auf die Motorik, während anderen, potentiell störenden Verhaltensweisen der Zugriff auf die Motorik „verweigert“ wird. Dieses Modell erinnert stark an Vorgänge der „lateralen Inhibition“, die in rezeptiven Feldern im sensorischen System aller höheren Organismen vorkommen.

Verschiedene neuropsychologische Erkrankungen beruhen auf der fehlerhaften Funktion des Striatums bei der Selektion der eingehenden Signale. Ein humanpathologisches Beispiel für eine solche Fehlselektion sind die sogenannten TIC-Störungen (Abb. 2), bei denen Personen bestimmte Verhaltensmuster, oder Lautäußerungen unwillkürlich regel- oder unregelmäßig wiederholen. Verschiedene Forscher vermuten auch bei ADHD (Attention Deficit and Hyperactivity Disorder), daß eine solche Störung vorliegt, nur daß nicht eine bestimmte Handlung oder Lautäußerung unwillkürlich wiederholt wird, sondern generell unangemessene Handlungen und Lautäußerungen verstärkt werden (Hyperaktivität) und Verhaltensmuster fehlerhaft ge- bzw. enthemmt werden. So wenden sich betroffene Patienten z.B. vermehrt externen störenden Stimuli zu und sind nicht in der Lage, sich längere Zeit auf eine Sache zu konzentrieren (Aufmerksamkeitsdefizit) (Brennan and Arnsten 2008).





**Abbildung 2:** Neurodegenerative Erkrankungen der Basalganglien. Der Basalganglien-thalamokortikale Schaltkreis unter normalen Bedingungen, Parkinson, TIC-Störungen und Chorea Huntington. Inhibitorische Verbindungen sind grau und schwarz dargestellt, exzitatorische Verbindungen pink und rot.

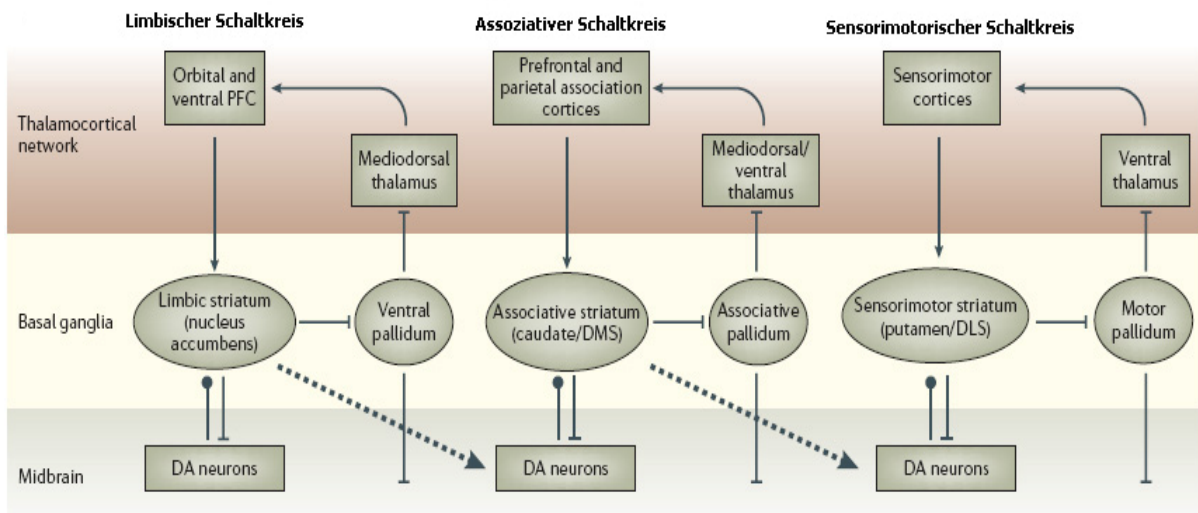
Die Degeneration des nigrostriatalen DA-Systems bei Parkinson führt zu unterschiedlichen Veränderungen der Aktivität der beiden striatopallidalen Bahnen. Hier durch die Helligkeit der Verbindungspfeile dargestellt (dunkle Pfeile zeigen gesteigerte neuronale Aktivität und hellere Pfeile verringerte Aktivität). Die Signale der thalamischen Efferenzen der Basalganglien sind bei der Parkinsonschen Erkrankung verstärkt, wohingegen diese bei TIC-Störungen und Chorea Huntington deutlich verringert sind. **GP<sub>e</sub>** = Globus pallidus externus; **GP<sub>i</sub>** = Globus pallidus internus; **SNc** = Substantia nigra pars compacta; **STN** = Subthalamischer Nucleus. (Abbildung modifiziert nach Kandel *et al.* 2000)

Neben der motorischen Steuerung bestimmter Verhaltensweisen nehmen die Basalganglien eine wichtige Rolle bei der Steuerung von kognitiven und emotionalen Hirnleistungen ein (Graybiel 1995; Hikosaka *et al.* 2000; Nicola 2007; Packard and Knowlton 2002; Yin and Knowlton 2006). Deutlich wird dies bei verschiedenen neuropsychiatrischen Erkrankungen, bei denen Fehlfunktionen eines Teilbereichs der Basalganglien zu massiven Verhaltensdefiziten führen (Albin *et al.* 1989). So zeigen Personen mit der Parkinsonschen Erkrankung, bei denen die dopaminergen Neurone der Substantia nigra degeneriert sind (Abb. 2), deutliche Beeinträchtigungen beim Lösen komplexer Lernaufgaben (Gauntlett-Gilbert and Brown 1998; Tinaz *et al.* 2008). Auch bei Chorea Huntington (Abb. 2), einer Erkrankung, bei der die hemmenden GABAergen Efferenzen des Striatum degenerieren, führt die fehlende Hemmung nachfolgender Areale zu einer verringerten Hemmung des indirekten Ausgangswegs aus den Basalganglien und nachfolgend zu einer verstärkten Aktivierung des Thalamus (Disinhibition). Die Folge sind neben motorischen Beeinträchtigungen, die zumeist erst in einem fortgeschrittenen Stadium der Erkrankung auftreten, Gedächtnisstörungen, sowie erhöhtes impulsives Verhalten und soziale Enthemmung (Rosenblatt and Leroi 2000).

Die Basalganglien werden von mind. 3 verschiedenen, voneinander sowohl strukturell, als auch funktionell unabhängigen sog. Funktionsschleifen durchzogen. D.h. anatomisch und funktionell unterschiedliche Bereiche des Cortex, der Basalganglien und des Thalamus werden in parallelen Schleifen durchlaufen (*'parallel processing'*, Alexander and Crutcher 1990, Übersicht in Parent and Hazrati 1993). Die Namensgebung der Funktionsschleifen variiert in der Literatur stark, abhängig vom Autor und dem präsentierten Modell. Deshalb soll in der Folge die verwendet werden, die Nakano und Yin in ihren Arbeiten beschreiben (Nakano 2000; Yin and Knowlton 2006). Diese sprechen von einer assoziativen, einer sensomotorischen und einer limbischen Funktionsschleife (Abb. 3). Neuere Untersuchungen haben jedoch gezeigt, daß die Schleifen nicht vollständig unabhängig voneinander agieren, sondern partiell überlappen und interagieren. D.h., die gleiche striatale Subregion erhält Information aus verschiedenen kortikalen Bereichen (Übersicht in Gerfen 2000). Allerdings gehen alle Arbeiten davon aus, daß die Basalganglien Informationen bündeln und wie oben schon erwähnt selektieren, (*'Gating'*) um das Verhalten zu steuern. Auf zwei dieser Schleifen der limbischen und

der assoziativen Funktionsschleife liegt das Hauptaugenmerk dieser Arbeit. Die limbische Funktionsschleife beginnt und endet im anterioren cingulären Kortex und dem orbitalen Teil des präfrontalen Kortex (OFC) (Kandel *et al.* 2000). Sie durchzieht die Basalganglien im ventralen Teil des Striatums, dem N. accumbens (Alexander *et al.* 1990; Selemon and Goldman-Rakic 1985) und erhält dort Informationen aus anderen Arealen des limbischen Systems, wie z.B. der Amygdala oder dem Hippocampus. Dieser Schaltkreis wird mit einer Vielzahl an kognitiven und affektiven Funktionen wie Antrieb oder Motivation in Verbindung gebracht (z.B. Faure *et al.* 2008; Robbins 2007; Salamone *et al.* 2007; Schultz 2007; Wise 2006).

Der assoziative Schaltkreis beginnt und endet im assoziativen Kortex. Efferenzen vom assoziativen Kortex erreichen die Basalganglien im dorsalen Teil des Striatums (Flaherty and Graybiel 1991; 1993). Das dorsale Striatum selbst projiziert auf den Globus pallidus und dieses dann auf „direktem“ Weg in den Thalamus oder auf dem „indirekten“ Weg in die Substantia nigra pars reticulata und dann auf den Thalamus (Nakano 2000; Nakano *et al.* 2000; Selemon and Goldman-Rakic 1985). Von dort gehen die Projektionen wieder zurück an den assoziativen Kortex. Die assoziative und auch die motorische Funktionsschleife sind vornehmlich für die Auswahl, Initiation und Ausführung zielgerichteter Verhaltensweisen zuständig. Ein enges Zusammenspiel der limbischen und der motorischen Funktionsschleife ist z.B. für die soziale Kommunikation (Köpersprache, Gestik, Mimik) essentiell, um die affektiven und motivationalen Signale des limbischen Systems in die Steuerung des zielgerichteten Verhaltens zu integrieren.



**Abbildung 3:** Kortiko-basalganglische Netzwerke als eine zentrale Funktionseinheit des Gehirns. Vereinfachte schematische Darstellung der 3 großen Schaltkreise, die Teile des Kortex und die Basalganglien umfassen: der limbische, assoziative und sensorimotorische Schaltkreis (modifiziert nach Yin and Knowlton 2006).

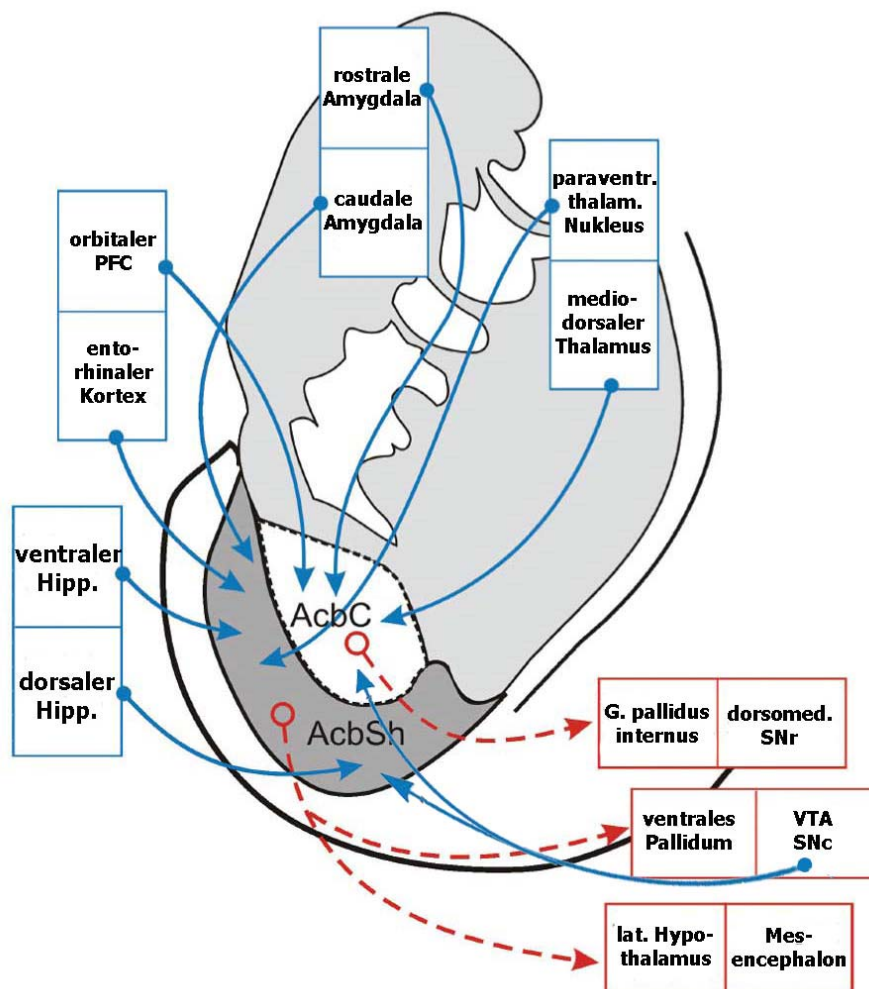
## 4.2 Nucleus accumbens

Der N. accumbens befindet sich im ventralen Teil des Striatums und ist Teil des limbischen Systems. Er erhält glutamaterge Afferenzen aus allocortikalen Bereichen, wie z.B. dem Hippocampus, kortikalen Bereichen, wie z.B. dem präfrontalen Kortex, sowie aus der basolateralen Amygdala und den thalamischen Nuclei (Ferré *et al.* 1997; Gerfen and Wilson 1996; Groenewegen *et al.* 1996; Heimer *et al.* 1995; McGeorge and Faull 1989a), aber auch dopaminerge Afferenzen aus dem ventralen tegmentalen Areal (Bjorklund and Dunnett 2007). GABAerge Projektionsneurone des NAC ziehen über die „indirekte“ Bahn zum Globus pallidus und über die „direkte“ Bahn zur Substantia nigra pars reticulata. Die Efferenzen lassen sich durch die verwendeten Cotransmitter und die exprimierten Dopaminrezeptortypen (siehe Abbildung 2) unterscheiden. Während die striatopallidalen Neurone das Neuropeptid Enkephalin ausschütten und hauptsächlich den D<sub>2</sub>-Rezeptortyp exprimieren, verwenden die striatonigralen Neurone die Neuropeptide Substanz P und Dynorphin als Cotransmitter und exprimieren den D<sub>1</sub>-Rezeptortyp (Sonomura *et al.* 2007). Es mehren sich allerdings die Anzeichen, daß Projektionsneurone existieren, die sowohl D<sub>1</sub>-, als auch D<sub>2</sub>-Rezeptoren exprimieren (Aizman *et al.* 2000; Meador-Woodruff *et al.* 1991; Shetreat *et al.* 1996). Dies würde die allgemeine Auffassung von einer

Unterteilung der accumbalen Projektionsbahnen in einen direkten und einen indirekten Weg in Frage stellen. Mit 90-95% stellen die Projektionsneurone den Hauptanteil der accumbalen Neurone. Die übrigen 5-10% sind homogen verteilte Interneurone. Es können zwei Typen von Interneuronen unterschieden werden: die mittelgroßen GABAergen Interneurone (medium spiny neurons) und die dornenfreien Interneurone (aspiny neurons) (Kawaguchi *et al.* 1995). Diese Interneurone bilden ein Netzwerk, das die Projektionsneurone untereinander verbindet (Emson 1993). Über die genaue Funktion der Interneurone weiß man noch nicht viel, nur daß sie vermutlich an der Kommunikation und Regulation des „indirekten“ und des „direkten“ Ausgangs aus dem NAC beteiligt sind (Mallet *et al.* 2006; Smith and Villalba 2008). In immunhistochemischen Untersuchungen konnten neben GABA, Dopamin und Glutamat noch weitere Substanzen identifiziert werden, die Einfluß auf die Aktivität des NAC ausüben. Dazu gehören neben Stickstoffmonoxid (NO) (French *et al.* 2005; Sahraei *et al.* 2007) noch weitere Neurotransmitter, wie Serotonin (z.B. Fallon *et al.* 2007), Adenosin (z.B. Nagel and Hauber 2001; Nagel and Hauber 2003; Worden *et al.* 2009), oder auch Somatostatin (z.B. Marazioti *et al.* 2008), auf die hier allerdings nicht weiter eingegangen werden soll.

Sowohl anatomisch, als auch funktionell unterteilt man den NAC in eine Kern- (core) und eine Schalen- (shell) Region (z.B. Di Ciano 2008; Floresco *et al.* 2006a; Groenewegen *et al.* 1991; Laviolette *et al.* 2008; Sokolowski and Salamone 1998). Beide Teilbereiche unterscheiden sich aber auch im Ursprung ihrer Afferenzen. Während die Schalen-Region hauptsächlich Afferenzen aus dem Kortex, namentlich vom ventralen prälimbischen und dem entorhinalen Kortex sowie der basolateralen Amygdala und dem Hirnstamm erhält (Zahm *et al.* 1999), wird die Kern-Region hauptsächlich von Projektionen aus dem orbitalen Teil des präfrontalen Kortex, dem dorsalen Teil des prälimbischen Kortex und dem mediodorsalen Thalamus innerviert (Frank and Claus 2006; Reynolds and Zahm 2005). Gemeinsam sind beiden Teilbereichen nur die dopaminergen Projektionen aus dem ventralen Tegmentalen Areal (VTA). Bisher ist allerdings nicht bekannt, ob und inwieweit beide Teilbereiche „direkt“ miteinander kommunizieren. Bisher vermutet man, daß beide Bereiche über eine Schleife, die Teile des präfrontalen Kortex mit einbezieht, verbunden sind. Aus jüngster Vergangenheit existieren allerdings auch Hinweise auf eine direkte

Verbindung beim Primaten (van Dongen *et al.* 2008) aber auch bei der Ratte (van Dongen *et al.* 2005).



**Abbildung 4:** Schematische Darstellung der Afferenzen und Efferenzen der NAC- Kern- und Schalenregion. Die Afferenzen sind blau dargestellt und die Efferenzen rot. Die NAC-Kernregion empfängt u.a. Input vom orbitalen Teil des präfrontalen Kortex, sowie dem mediodorsalen Thalamus und der VTA. Sie projiziert ihrerseits auf den Globus pallidus internus. Die NAC-Schalenregion wird ebenfalls von der VTA innerviert, empfängt aber ebenso Afferenzen von verschiedenen Arealen des Hippocampus und dem entorhinalen Kortex. Die efferenten Projektionen erreichen u.a. den lateralen Hypothalamus und das ventrale Pallidum. (Abbildung modifiziert nach Groenewegen and Trimble 2007)

Der Nucleus accumbens ist als Teilgebiet des limbischen Systems insbesondere für die Steuerung der Handlungsbereitschaft oder Motivation wichtig. Bereits frühe Untersuchungen von Wise (Wise and Strick 1984) wiesen nach, daß nach Eingriffen in den NAC die Motivation für viele Verhaltensweisen abnahm und auch die Intensität und Dauer, mit der belohnungsgerichtete Verhaltensweisen ausgeübt wurden, sich deutlich reduzierte. Berridge hat deshalb vorgeschlagen, der NAC sei eine Struktur, die maßgeblich die Intensität steuert, mit der bestimmte Handlungsziele verfolgt

werden („wanting“; siehe 4.5.6). Die Subregionen des NAC scheinen dabei verschiedene Aufgaben zu haben. Eine Stimulation der Kernregion des NAC (NAC<sub>core</sub>) führte dazu, daß Ratten eine längere Zeit auf eine in Aussicht gestellte Belohnung warteten, als Kontrolltiere (Sesia *et al.* 2008). Diese reduzierte Impulsivität wird als eine verringerte Handlungsbereitschaft interpretiert (Cardinal *et al.* 2001). Demgegenüber führte eine Stimulation der Schalenregion des NAC (NAC<sub>shell</sub>) zu einer Steigerung der Impulsivität und einer Zunahme der Handlungsbereitschaft (Sesia *et al.* 2008).

Darüber hinaus spielt der NAC vor allem bei der Steuerung von Verhaltensweisen eine Rolle, die durch Umgebungsreize vermittelt werden, welche einen bestimmten Anreizwert besitzen. Beispielsweise führt die Darbietung von Reizen, die mit einem Geldgewinn verknüpft sind, zu einer massiven Erhöhung der Aktivität von accumbalen Neuronen, sowie einer verstärkten DA-Freisetzung im NAC (Schott *et al.* 2008). Elektrophysiologische Untersuchungen an Primaten konnten zeigen, daß die Neurone des NAC sowohl auf konditionierte Umgebungsreize, die physiologisch relevante und attraktive Belohnungen voraussagten, reagierten, als auch auf die Belohnungen selber (Carelli *et al.* 2000; Schultz *et al.* 2003; Setlow *et al.* 2003; Woodward *et al.* 1999; Yun *et al.* 2004). Ebenso geht aus Verhaltensstudien hervor, daß der NAC Informationen über das Auftreten biologisch signifikanter Umgebungsreize dazu nutzt, das Verhalten an sich ändernde Umgebungsbedingungen anzupassen (Cardinal *et al.* 2002a; Giertler *et al.* 2003; Hauber *et al.* 2000; Schoenbaum and Setlow 2003; Yun *et al.* 2004). Folglich trägt der NAC zur flexiblen Steuerung des Verhaltens bei. Eine solche Anpassung ist notwendig, wenn sich eine Situation ändert und das bisher gezeigte Verhalten nicht mehr zielführend ist. Tieren, aber auch Menschen mit dysfunktionalem NAC geht diese Verhaltensflexibilität verloren. So zeigten Tiere, die eine Zellkörperläsion der Kern-Region des NAC hatten, eine deutlich verringerte Fähigkeit, ihre Verhaltensstrategie einer neuen Situation anzupassen (Floresco *et al.* 2006a). Im Gegensatz dazu steht eine Studie von Stern und Passingham (Stern and Passingham 1995). Diese konnten zeigen, daß Makaken in der Lage sind, trotz Läsion im NAC die Reiz-Belohnungs-Beziehungen in einer visuellen Diskriminationsaufgabe umzulernen. Allerdings hatten die Tiere derselben Studie Probleme beim Umlernen einer motorischen Diskriminationsaufgabe. Diese zum Teil unterschiedlichen

Studienergebnisse sprechen gegen die bisherigen Theorien, die dem NAC eine Rolle bei der Steuerung der generellen Verhaltensflexibilität zusprechen. Vielmehr scheint die Beteiligung des NAC an der Steuerung des flexiblen Verhaltens auch von der Art des verwendeten Verhaltenstest abhängig zu sein.

Zusammenfassend spielt der NAC eine essentielle Rolle bei der Anpassung des Verhaltens an geänderte Umgebungsbedingungen. Sowohl elektrophysiologische Untersuchungen, als auch Verhaltenstests konnten zeigen, daß die beiden Subregionen des NAC dabei unterschiedliche Beiträge leisten. Unklar war lange, welche Neurotransmitter an der Vermittlung der Verhaltensflexibilität beteiligt sind. In den letzten Jahren zeigte sich jedoch, daß DA eine essentielle Rolle bei der Steuerung des flexiblen Verhaltens zu spielen scheint (siehe 4.5.6).

### 4.3 Orbitofrontaler Kortex

Der präfrontale Kortex ist ein Hirnareal im Frontallappen der Großhirnrinde. Er ist maßgeblich an der Integration bestimmter Gedächtnisinhalte mit sensorischen Informationen aus dem Kortex, emotionalen Bewertungen aus dem limbischen System beteiligt und initiiert auf dieser Basis situationsangemessene Handlungen. Der humane präfrontale Kortex läßt sich in drei Teilbereiche unterteilen: Den medialen (mPFC), den dorso-/ventrolateralen (dl/vIPFC) und den orbitofrontalen (OFC) Teil (Crespo-Facorro *et al.* 1999; Muller *et al.* 2002). Letzterer läßt sich bei Ratten anatomisch in 3 weitere Teilbereiche unterteilen: den ventrolateralen orbitalen, den lateralen orbitalen und den agranulären insulären Kortex. Laut der Definition von Schoenbaum und Kollegen (Schoenbaum *et al.* 2002) sind diese Bereiche homolog zum orbitofrontalen PFC von Primaten (Groenewegen *et al.* 1997; Ongur and Price 2000). Auf Grund dieser Homologie hat man sich darauf geeinigt, diese Teilbereiche auch bei Ratten unter dem Begriff des OFC zusammenzufassen.

Der OFC erhält massive GABAerge und glutamaterge Projektionen aus verschiedenen Bereichen des limbischen Systems (Hippocampus; NACshell; basolaterale Amygdala) (Horvitz 2002; Schoenbaum *et al.* 2006), sowie dem entorhinalen und dem perirhinalen Kortex und auch eine starke dopaminerge Innervation aus der VTA (Takahashi *et al.* 2009). Bis auf die DAerge sind alle diese Projektionen reziprok



(Schoenbaum *et al.* 2006). Daneben projiziert er auch auf die motorischen Cortices und den Hypothalamus, sowie auf den Caudatus putamen (Schilman *et al.* 2008). Vor allem die Verbindung zum Hypothalamus läßt vermuten, daß der OFC eine wichtige Rolle bei der unbewußten, autonomen Steuerung des Verhaltens in emotionalen Situationen spielt, indem er z.B. den Herzschlag und die Atmung beeinflusst. Tatsächlich beeinträchtigt eine pathologische Fehlfunktion des OFC die Fähigkeit des Menschen, unbewußte Handlungen in emotionalen Situationen zu initiieren (Bramham *et al.* 2009; Drevets 2007). Zum Beispiel sind Menschen mit einem dysfunktionalen OFC - ihre Wahrnehmung betreffend - unbeeinträchtigt, treffen jedoch in einer Wahlsituation falsche Entscheidungen (Chase *et al.* 2008; Übersicht in Karnath 2006, Neuropsychologie).

Elektrophysiologische Studien legen nahe, daß der OFC neben der Integration von kognitiven und emotionalen Signalen zur Modulation von Reaktionen des autonomen Nervensystems, sowie zur Steuerung zielgerichteten Verhaltens beiträgt. So konnte schon 1981 nachgewiesen werden, daß die Neurone des OFC sowohl auf eine Belohnung (Rosenkilde *et al.* 1981), als auch auf den Stimulus, der diese vorhersagte, (Furuyashiki *et al.* 2008) mit einer Aktivitätserhöhung reagierten. 1983 gelang es zu zeigen, daß OFC-Neurone durch zwei Stimuli, welche entweder Fruchtsaft, oder Kochsalzlösung vorhersagten unterschiedlich aktiviert werden (Thorpe *et al.* 1983). Neuere elektrophysiologische Untersuchungen zeigen darüber hinaus, daß die Neurone des OFC in ihrer Aktivität eine Führung durch die erwartete Belohnungsstärke aufweisen (van Duuren *et al.* 2007; van Duuren *et al.* 2008). Weitere Untersuchungen lassen vermuten, daß der OFC eine essentielle Rolle bei der Steuerung der Verhaltensflexibilität spielt, indem er erwartete und tatsächlich erhaltene Belohnungen miteinander vergleicht, um zukünftige Verhaltensweisen anzupassen bzw. ein einmal gelerntes Verhalten umzulernen (Rudebeck *et al.* 2008; Rudebeck and Murray 2008; Takahashi *et al.* 2009). So hat man bei Menschen und nicht-humane Primaten mit dysfunktionalem OFC Probleme beim Umlernen einer einmal gelernten Reiz-Belohnungs-Beziehung festgestellt (Baxter *et al.* 2000; Dias *et al.* 1996; Hornak *et al.* 2004; Izquierdo *et al.* 2004; Man *et al.* 2009; Manes *et al.* 2002; Meunier *et al.* 1997; Murray 2008; Rudebeck and Murray 2008). Sie beharren auf den vormals gelernten Zusammenhängen und sind nicht in der Lage ihr Verhalten den neuen Situationen anzupassen. Ein etwas differenziertes Bild über die

Verhaltensdefizite nach einer OFC-Läsion ergab sich aus Studien an Ratten. In einem „attentional set-shifting“-Test wurden Ratten im T-Labyrinth 2 verschiedene Stimulus-Paare unterschiedlicher Dimension, d.h. 1. schwarzer vs. weißer Arm und 2. glatte vs. rauhe Oberfläche präsentiert. Ein Stimulus pro Paar war prädiktiv für eine Belohnung, wohingegen der andere Stimulus jeden Paares keine prädiktiven Eigenschaften hatte. Dabei war aber jeweils nur eine Stimulus-Dimension relevant für das Erreichen einer Belohnung. Nach Erlernen der Aufgabe wurden die prädiktiven Eigenschaften der Stimulus-Dimensionen getauscht, sodaß nun das Paar der anderen Stimulus-Dimension prädiktive Eigenschaften für die zu erwartende Belohnung hatte. Dieser „attentional shift“ von einer Dimension zur anderen war den Ratten trotz einer Läsion im OFC möglich. Anschließend wurde die Aufgabe innerhalb einer Dimension umgedreht, so daß ein ehemals mit Belohnung assoziierter Stimulus nun keine Belohnung mehr vorhersagte und umgekehrt. Tiere, deren OFC während des Umlernens temporär läsiert war, registrierten zwar, daß sich die Stimulus-Belohnungs-Beziehungen geändert hatten, vollzogen jedoch einen extradimensionalen Wechsel zur falschen Strategie. Mit anderen Worten: Sobald die belohnungsprädiktiven Eigenschaften der Stimuli innerhalb einer Dimension gewechselt wurden, also nicht mehr der schwarze (oder rauhe) Arm eine Belohnung beinhaltete sondern der Weiße (oder glatte) waren Tiere mit dysfunktionalem OFC nicht mehr in Lage, diese Aufgabe umzulernen (Ghods-Sharifi *et al.* 2008).

Während schon länger bekannt ist, daß der PFC eine essentielle Rolle bei der Steuerung der Verhaltensflexibilität spielt, konnten die differentiellen Aufgaben der einzelnen Subregionen erst in den letzten Jahren aufgeklärt werden. So ist der mediale Teil des PFC (mPFC) vornehmlich für das Lernen neuer Regeln zuständig - möglicherweise durch die Hemmung früherer erlernter Strategien (Birrell and Brown 2000; Floresco *et al.* 2006b; Ragozzino *et al.* 1999). Der OFC hingegen vermittelt eher einfachere Formen der Verhaltensflexibilität (Birrell and Brown 2000; Chudasama *et al.* 2001; McAlonan and Brown 2003). Eine Fehlfunktion des OFC scheint gemäß den Ergebnissen von Ghods-Sharifi kein generelles Umlerndefizit auszulösen, wie es zunächst die Studien am Menschen und Primaten implizierten (Baxter *et al.* 2000; Dias *et al.* 1996; Hornak *et al.* 2004; Izquierdo *et al.* 2004; Man *et al.* 2009; Manes *et al.* 2002; Meunier *et al.* 1997; Murray 2008; Rudebeck and Murray 2008). Sie beeinträchtigt vielmehr die Verhaltensflexibilität nur dann, wenn

das Verhalten an einen intradimensionalen Wechsel der Stimulus-Belohnungs-Assoziation angepaßt werden muß.

#### 4.4 Dorsales Striatum

Das Striatum ist Teil des Großhirns und bildet die Eingangsstruktur der Basalganglien (z.B. Bolam *et al.* 2000; Kreitzer and Malenka 2008). Diese sind bekanntermaßen (siehe 4.1) von mehreren funktionellen Regelkreisen durchzogen, die unterschiedliche Aspekte des Verhaltens steuern. Das Striatum ist wesentlicher Bestandteil dieser Schaltkreise und nimmt eine Schlüsselrolle bei der Integration und Weitergabe von kognitiven, motivationalen und emotionalen Gedächtnisinhalten ein (Delgado 2007).

Es läßt sich anatomisch in drei große Teilbereiche unterteilen, das Putamen: den N. caudatus und den N. accumbens (z.B. Grahn *et al.* 2009). Der N. caudatus und das Putamen liegen in der frühen Embryonalentwicklung zusammen und werden erst später durch das Durchwachsen der Capsula interna - der längsten Projektionsbahn des ZNS - getrennt. Durch beide Teile des Striatums ziehen Projektionsbahnen, die aus weißer Substanz bestehen und diesem ein streifenförmiges Muster geben. Deshalb bezeichnet man es als Striatum oder Streifenkörper. Der ventrale Teil des Striatums läßt sich sowohl funktionell (Ragozzino 2007; Ragozzino *et al.* 2009; Worbe *et al.* 2009), als auch anatomisch (Di Martino *et al.* 2008; Voorn *et al.* 2004) von dem Rest abgrenzen. Dieser ventrale Teil wird als ventrales Striatum oder N. accumbens (siehe 4.2) und der restliche dorsale Teil als dorsales Striatum (DS) bezeichnet.

Das DS empfängt starke glutamaterge Afferenzen aus dem gesamten motorischen und somatosensorischen Kortex, aber auch dem Assoziationskortex, dem Thalamus, sowie dopaminerge Afferenzen aus der Substantia nigra (Übersicht in Kreitzer and Malenka 2008). Daneben erreichen das DS noradrenerge Afferenzen des L. coeruleus (Devoto and Flore 2006) und serotonerge Afferenzen des N. raphe dorsalis (Waselus *et al.* 2006), sowie GABAerge Neurone des Globus pallidus externa (Adachi *et al.* 2002; McGeer *et al.* 1984). Die eingegangenen Informationen verlassen das DS hauptsächlich auf zwei unterschiedlichen Wegen. GABAerge Neurone mit dem Cotransmitter Substanz P leiten die Informationen vom DS über den „direkten“ Weg zum Globus pallidus interna (Blomeley *et al.* 2009; Nambu 2009) und weiter zum

Thalamus, während GABAerge Neurone mit dem Cotransmitter Enkephalin vom DS über einen „indirekten“ Weg über den G. pallidus externa (Kita 2007; Martorana *et al.* 2003; Nambu 2009) und den N. subthalamicus Informationen an den Thalamus weiterleiten (Übersicht in Kreitzer and Malenka 2008). Der indirekte Weg hat eine inhibitorische Wirkung auf den Thalamus, während der direkte aktivierend wirkt. Die Basalganglien üben auf Basis der thalamischen Integration der Informationen aus beiden Signalübermittlungswegen ihre oben beschriebene Filterfunktion aus (siehe 4.1). Dies führt dazu, daß aus den vielen Informationen diejenigen selektiert werden, die für den Organismus aktuell die größte Relevanz besitzen. Das Fehlen dieses Selektionsmechanismus ist insbesondere bei neurodegenerativen Erkrankungen, wie Chorea Huntington, von großer Bedeutung (Kropotov and Etlinger 1999). Bei der Chorea Huntington degenerieren zuerst die GABAergen, Enkephalin-haltigen Efferenzen des indirekten Weges. Dies führt zu einer verstärkten Hemmung des Globus pallidus externa und schließlich zu einer „Enthemmung“ (Disinhibition) des Thalamus. Erst im späteren Verlauf der Erkrankung degenerieren die GABAergen, Substanz-P-haltigen Neurone des „direkten“ Weges (Glass *et al.* 2000). Aus diesem Grund zeigen Huntington-Patienten zu Beginn der Erkrankung häufig unbewußte, überschießende Bewegungen, und erst in fortgeschrittenem Stadium der Erkrankung dominieren Akinesie und motorische Steifheit.

Auf Grund seiner Rolle bei verschiedenen neurologischen Erkrankungen und den damit verbundenen Verhaltensbeeinträchtigungen rückte das Striatum speziell das DS und die Aufgaben, die es bei der Steuerung zielgerichteter Verhaltensweisen spielt in den letzten Jahren immer weiter in den Fokus des neurowissenschaftlichen Interesses. Elektrophysiologische Untersuchungen am Striatum von nicht-humanen Primaten fanden eine Korrelation zwischen der Aktivität striataler Neurone und der erwarteten Belohnungsstärke (Cromwell and Schultz 2003) bzw. dem spezifischen Wert einer belohnten Handlung (Lau and Glimcher 2007). Dies implizierte eine essentielle Rolle des Striatums bei der Handlungssteuerung, insbesondere der Anpassung des Verhaltens an handlungsinduzierte Ereignisse. Einen weiteren Hinweis darauf lieferte eine Studie an Ratten. So beeinträchtigten Läsionen verschiedener Teilbereiche des DS die Fähigkeit der Tiere, ihr Verhalten in einer Entscheidungssituation anzupassen und auf den belohnten von zwei präsentierten Hebeln zu drücken (Featherstone and McDonald 2004a; Featherstone and McDonald

2004b). Dabei konnte zwischen Handlungen gewählt werden, die entweder in der Gabe einer Belohnung resultierten oder nicht. Bereits seit 1989 war aus anatomischen Studien bekannt (McGeorge and Faull 1987; McGeorge and Faull 1989), daß die Teilbereiche des DS ihre Informationen von unterschiedlichen Bereichen des Kortex und den Basalganglien bekommen (McGeorge and Faull 1987; McGeorge and Faull 1989). Dementsprechend unterteilte man das DS in einen lateralen (DLS) und einen medialen Teil (DMS). Aus dieser anatomischen Heterogenität schloß man, daß die verschiedenen Teilbereiche möglicherweise unterschiedliche Beiträge zur Verhaltenssteuerung leisten. Dies untersuchte u.a. auch eine Arbeitsgruppe um Yin und Kollegen. Aus ihren Verhaltenstests geht hervor, daß das DLS eine wichtige Aufgabe bei der Ausführung von Gewohnheitshandlungen zuzuschreiben ist, wohingegen das DMS offenbar eine essentielle Rolle bei der Steuerung des zielgerichteten Verhaltens spielt (Yin and Knowlton 2004). Weitere Unterstützung für diese Hypothese lieferten jüngere Studien an menschlichen Probanden, die feststellten, daß der N. caudatus, die zum DMS der Ratte homologe Struktur (Joel and Weiner 2000) für Vermittlung der Handlungs-Ergebnis-Beziehungen notwendig ist. Das Putamen ist die zum DLS der Ratte homologe Struktur (Joel and Weiner 2000) und kodiert die Verknüpfung von einem Reiz mit einer Handlung unabhängig vom Ergebnis (Grahn *et al.* 2009). Es steuert also das Gewohnheits- oder auch automatisierte Handeln.

Die Verknüpfung zwischen einer Handlung und einem bestimmten Ergebnis spielt auch bei der Entstehung von Suchtverhalten eine wichtige Rolle und wurde in sog. PIT- („*pavlovian to instrumental transfer*“) Experimenten untersucht. Dabei erlernten die Tiere zunächst, daß zwei verschiedene visuelle oder auditive Stimuli (StA und StB) prädiktiv für unterschiedliche Belohnungen (A und B) waren. Die Tiere lernten in einem zweiten Telexperiment, daß Handlung A (Drücken eines Hebels) und Handlung B (Ziehen einer Schnur) zu den Belohnungen A und B führte. In einem abschließenden Test untersuchte man, ob StA eher die Handlung zu Erreichen von A oder B verstärkte. Dies wurde analog auch für StB durchgeführt. Es stellte sich heraus, daß StA die Handlung für A und nicht die Handlung für B steigerte. Analoges galt für StB. D.h., das Tier vergleicht offenbar die mit den Stimuli und Handlungen verknüpften Belohnungen. Stimmen sie überein, erfährt das belohnungsgerichtete Verhalten eine deutliche Steigerung. Grundlage dieses Effektes ist, daß die Tiere S-O

und R-O Assoziationen ausbilden und kombinieren, sowie kongruente und nicht-kongruente Bedingungen unterscheiden lernen. Diesen Effekt bezeichnet man als ergebnisspezifischen PIT. Nach Läsionen des DMS und DLS war diese Form des PIT auf unterschiedliche Weise beeinträchtigt. Eine Läsion des DMS bewirkte, daß Stimuli unabhängig von ihrer Spezifität zu einer Steigerung des Antwortverhaltens führten. Die Tiere konnten offenbar die von den Stimuli kodierten Belohnungen nicht mehr unterscheiden. Daraus hat man geschlossen, daß das DMS für assoziative Lernvorgänge, die insbesondere S-O Verknüpfungen betreffen, relevant ist.

Demgegenüber blieb eine Steigerung des Antwortverhaltens bei Darbietung der Stimuli völlig aus, wenn das DLS inaktiviert war. So verhinderte eine Läsion des DLS die Zuordnung eines erlernten Antwortverhaltens zu einem bestimmten Ergebnis, d.h. den ergebnisspezifischen PIT (Corbit and Janak 2007). Daraus schloß man, daß den Tieren die Knüpfung einer S-R Beziehung nicht mehr möglich war und demzufolge das DMS und nicht das DLS eine essentielle Rolle bei der stimulusabhängigen Modulation des Verhaltens und bei der Zuordnung von Stimuli zu spezifischen Ergebnissen spielt. Dieser ergebnisspezifische PIT ist ein wichtiger Mechanismus, der bei einem Rückfall in die Drogensucht eine Schlüsselrolle spielt. So reicht einem ehemals Süchtigen die Präsentation eines Umgebungsreizes, der z.B. für den früheren Einnahmeort der Droge steht aus, um einen Rückfall auszulösen.

Eine Studie von Adams und Kollegen (Adams *et al.* 2001) behauptet allerdings, daß sowohl das DLS, als auch das DMS Stimulus-Handlungs-Beziehungen (S-R) vermittelt und demnach das Verhalten unabhängig von der erwarteten Belohnung steuert. Wäre dem so, dann sollten Läsionen sowohl des DLS, als auch DMS die Ausbildung eines ergebnisspezifischen PITs verhindern und ähnliche Auswirkungen auf das Verhalten haben, indem sie die Bildung von Stimulus-Handlungs-Assoziationen verhindern. Das ist, wie oben gezeigt wurde, nur bedingt so. Beide Läsionen beeinträchtigen zwar die Ausbildung eines ergebnisspezifischen PITs, jedoch unterscheiden sich deren Auswirkungen auf die Verhaltenssteuerung. Eine mögliche Erklärung für die unterschiedlichen Beobachtungen wäre eine funktionelle Heterogenität des DMS. Mit anatomischen Methoden konnten bereits McGeorge und Faull (1987; 1989) nachweisen, daß man im DMS zwischen einem anterioren (aDMS) und einem posterioren (pDMS) Teil unterscheiden kann. Während das aDMS ausschließlich Afferenzen aus dem präfrontalen Kortex erhält, erreichen das pDMS

darüber hinaus massive Afferenzen aus dem entorhinalen Kortex und der basolateralen Amygdala. Unter den wenigen bisher bekannten Studien zu einer funktionellen Unterteilung sind Studien von Yin und Kollegen aus dem Jahr 2005 (Yin *et al.* 2005b). In diesen wiesen sie nach, daß nicht das aDMS, sondern das pDMS an der Codierung von Ergebnissen, die mit bestimmten Handlungen assoziiert sind, beteiligt ist. Es wäre daher durchaus denkbar, daß die unterschiedlichen Aussagen zur Funktion des DMS (Adams *et al.* 2001; Corbit and Janak 2007; Yin *et al.* 2005) auf die anatomische und funktionelle Heterogenität der Struktur zurückzuführen sind. Darüber, wie diese Informationen in die Modulation des Verhaltens nach der Präsentation belohnungsprädiktiver Stimuli einfließen, ist wenig bekannt und derzeit Ziel intensiver Forschungsarbeit.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß das dorsale Striatum eine funktionell heterogene Struktur ist, dessen lateraler und medialer Teil unterschiedliche Beiträge zur Steuerung des Verhaltens leisten. Während das mediale Striatum kognitive Funktionen steuert und insbesondere für das Erlernen von ursächlichen Zusammenhängen von Handlung und Ergebnis wichtig ist, trägt das laterale Striatum maßgeblich zur Ausbildung von Stimulus-Handlungs-Assoziationen bei. Darüber hinaus spielt das DMS eine wichtige Rolle bei der Vermittlung der verhaltenssteuernden Wirkung belohnungsprädiktiver Stimuli. Dennoch sind die Beobachtungen, die zur Rolle des DMS bei der Steuerung des Verhaltens gemacht wurden, zum Teil sehr widersprüchlich. Ein Grund dafür könnte sein, daß das DMS eine heterogene Struktur ist, die sich sowohl anatomisch, als auch funktionell in einen anterioren und posterioren Teil unterteilen läßt. Deshalb ist es durchaus denkbar, daß beide Teilbereiche unterschiedliche Aspekte des Verhaltens steuern.

## 4.5 Dopamin

Einen der wichtigsten Neurotransmitter der Basalganglien stellt Dopamin (DA) dar. DA gehört mit Adrenalin und Noradrenalin zu den Catecholaminen. Diese sind als Neurotransmitter und Neuromodulatoren essentiell für die neurochemische Signaltransduktion im Gehirn von Wirbeltieren.

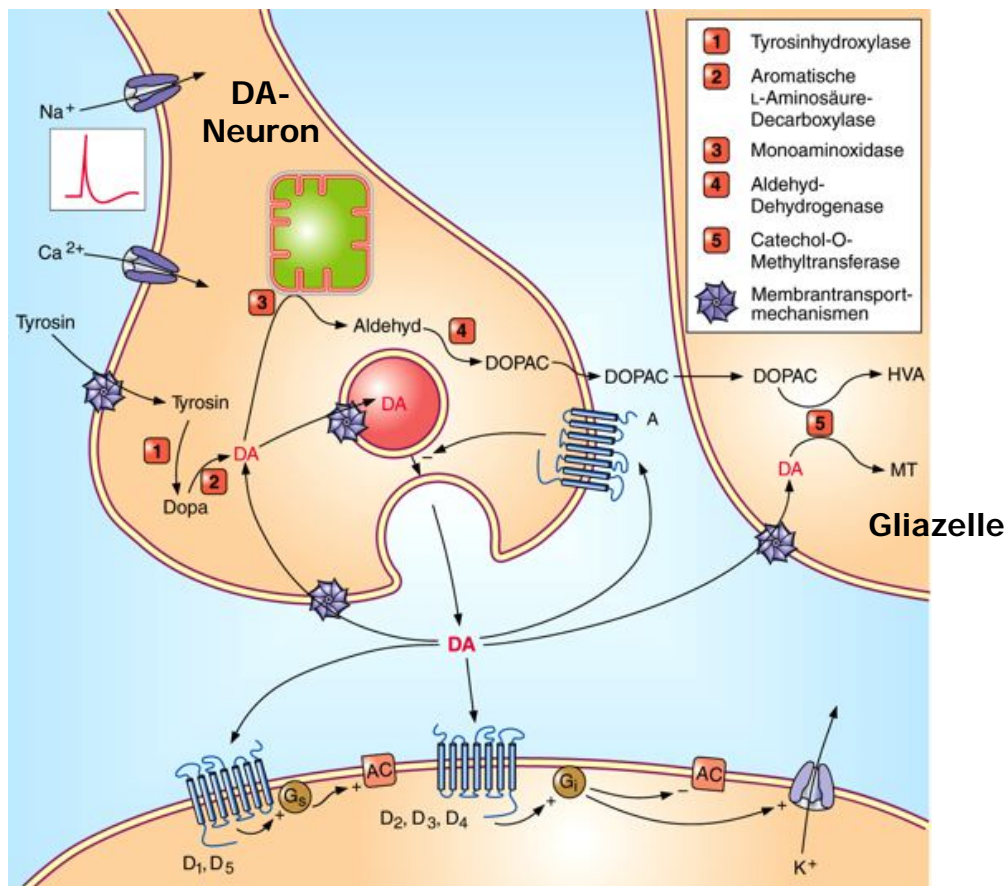
#### **4.5.1 Anabolismus**

DA ist ein Zwischenprodukt aus dem Syntheseweg von Adrenalin und wird im Cytoplasma catecholaminerger Neurone gebildet. Zuerst entsteht - katalysiert durch die Tyrosinhydroxylase (TH) - aus der Aminosäure L-Tyrosin durch Abspaltung eines Wassermoleküls Levodopa (L-DOPA). L-DOPA ist bekannt geworden als ein Pharmakon, das bei der Therapie der Parkinsonschen Erkrankung Anwendung findet. Aus L-DOPA entsteht dann durch die L-Tyrosin-Decarboxylase Dopamin. An dieser Stelle endet die Synthese im dopaminergen Neuron. In adrenergen oder noradrenergen Neuronen läuft die Synthese weiter und durch die Dopamin- $\beta$ -Hydroxylase und Abspaltung eines Wassermoleküls wird aus DA Noradrenalin und in einem weiteren Syntheseschritt durch die Methylierung von Noradrenalin Adrenalin. Die Tyrosinhydroxylase, die in dopaminergen, noradrenergen und adrenergen Neuronentypen vorkommt, läßt sich mit Hilfe spezifischer Antikörper in einer immunhistochemischen Färbung nachweisen.

#### **4.5.2 Katabolismus**

DA wird sowohl in den synaptischen Spalt, als auch in den interstitiellen Raum abgegeben. Da es schon in sehr geringen extrazellulären Konzentrationen ( $< 1\mu\text{M}$  bei  $D_2$ -Rezeptoren) die DA-Rezeptoren aktiviert, unterliegt es einer strengen Kontrolle. Freigesetztes DA wird sehr schnell durch Wiederaufnahmemechanismen in die Präsynapse aufgenommen und abgebaut. Hauptsächlich zwei Enzyme regeln den Abbau von Dopamin. Zum einen die in der Mitochondrienmembran lokalisierte Monoaminoxidase (MAO) und zum anderen die cytoplasmatische (S-COMT) und membranständige (MB-COMT) Catechol-O-Methyltransferase (COMT). Wird DA abgebaut, wird in einem ersten Schritt aus DA DOPAC, indem eine Aminogruppe entfernt und durch eine Carboxylgruppe ersetzt wird. Dieser Schritt wird durch die MAO katalysiert. In einem zweiten Schritt wird dann DOPAC zu Homovanillinsäure, indem die COMT eine endständige Methylgruppe auf DOPAC überträgt (Kruk and Pycock 1991). Beide katabolische Metaboliten lassen sich neben DA sehr gut mit Hilfe der Mikrodialyse nachweisen, da sie in hoher Konzentration vorliegen.





**Abbildung 5:** Schematische Darstellung der DA-Freisetzung sowie des Wiederaufnahmemechanismus. DA wird in catecholaminergen Neuronen gebildet und dort nach Depolarisation der präsynaptischen Membran durch Verschmelzung der synaptischen Vesikel mit der Plasmamembran freigesetzt. Die Wiederaufnahme erfolgt über den DA-Transporter (DAT) an der präsynaptischen Membran. Intrazellulär wird DA dann entweder weiter verstoffwechselt, oder erneut in synaptische Vesikel verpackt, um dort wieder für eine neue Signaltransduktion zur Verfügung zu stehen (aus Aktories *et al.* 2005).

### 4.5.3 Dopamin-Rezeptoren

Dopamin-Rezeptoren befinden sich auf dem ganzen Neuron sowohl im synaptischen Spalt, insbesondere aber extrasynaptisch. Man unterscheidet grundsätzlich zwei Klassen von Dopamin-Rezeptoren. Exzitatorische und inhibitorische Rezeptoren. Rezeptoren der D1/D5-Gruppe (kurz: D1-Gruppe) kommen hauptsächlich extrasynaptisch vor (Caille *et al.* 1996) und wirken auf die intrazelluläre Signalkaskade exzitatorisch, indem sie das nachfolgende G-Protein aktivieren und in der Folge über eine vermehrte Freisetzung intrazellulärer Proteine zu einer Verstärkung der neuronalen Aktivität führen. Rezeptoren der anderen D2/D3/D4-Gruppe (kurz: D2-Gruppe) können sowohl prä-, als auch postsynaptisch vorkommen.

Sie sind überwiegend innerhalb der Synapse lokalisiert (Carlson 2004), kommen aber auch extrasynaptisch vor (Schultz 1998). Präsynaptische D<sub>2</sub>-Rezeptoren fungieren auch als Autorezeptoren, indem sie die DA-Freisetzung aus dem dopaminergen Neuron hemmen. Sie wirken inhibitorisch auf das intrazelluläre G-Protein. Eine Aktivierung dieser Rezeptoren führt folglich zu einer Hemmung der intrazellulären Proteinsynthese.

#### ***4.5.4 Dopamin-Freisetzung***

DA wird an den Axonterminalen der DAergen Neuronen freigesetzt. Allerdings werden laut Schultz (Schultz 1998) lediglich 30-40% des Dopamins in den synaptischen Spalt ausgeschüttet. Die dominierende Art ist vielmehr die Freisetzung an sogenannten Varikositäten. Als Varikositäten werden hier perlschnurartige Ausbuchtungen im Axon bezeichnet, an denen Dopamin nicht in einen synaptischen Spalt ausgeschüttet wird, sondern direkt in den Extrazellulärraum (Grace 2008). Die Ausschüttung in den synaptischen Spalt geschieht über eine Fusion von dopaminhaltigen Vesikeln mit der präsynaptischen Membran infolge eines potentialabhängigen Einstroms von Calciumionen in die Präsynapse. DA bindet daraufhin an Rezeptoren und löst dadurch eine intrazelluläre Signalkaskade aus. Die DA-Rezeptoren können entweder auf der postsynaptischen Membran lokalisiert sein und die Aktivität der Rezeptor-tragenden Neurone modulieren, oder auf den eigenen Terminalen (Autorezeptoren). Die Aktivierung der Autorezeptoren hat eine Beendigung der DA-Freisetzung zur Folge. Die DA-Freisetzung wird also mit Hilfe der negativen Rückkopplung durch freigesetztes DA reguliert. Die Verweildauer von Dopamin im synaptischen Spalt wird durch verschiedene Mechanismen gesteuert. Entweder wird DA über einen DA-Transporter (DAT) wieder in die Zelle aufgenommen und wiederverwendet (Reuptake), oder dort enzymatisch abgebaut (s. Katabolismus). Der Reuptake-Mechanismus stellt eine Komponente der räumlichen und zeitlichen Begrenzung der DA-Freisetzung dar (Grace 1995; Zoli *et al.* 1998). Dabei wird DA wiederverwendet, indem es über einen Monoamintransporter (VMAT) erneut in Vesikel gepackt wird. Eine weitere Möglichkeit der Regulation ist, daß DA aus dem synaptischen Spalt heraus diffundiert (Rice and Cragg 2004). Diese tonische Freisetzung von DA resultiert in einer extrasynaptischen DA-Konzentration, die

ungefähr 0,01% der Konzentration im synaptischen Spalt entspricht (Grace *et al.* 2007). Die extrazelluläre Diffusion ist allerdings in Arealen mit DAT-reichen Terminalen eher gering, da ausgeschüttetes DA sofort wieder ins Zellinnere transportiert wird. Sind auf den Terminalen wenige DAT lokalisiert, so spielt die Diffusion eine wichtigere Rolle bei der Neurotransmission. DA-Moleküle treffen dann erst nach einer gewissen Diffusionsstrecke durch den interstitiellen Raum auf einen Rezeptor und aktivieren diesen. Man spricht in diesem Fall von einer „offenen Synapse“ oder einer „offenen“ Transmission (Zoli *et al.* 1998). Diese Transmission wird auch als Volumentransmission bezeichnet (Agnati *et al.* 1995) und spielt zum Beispiel im präfrontalen Kortex eine nicht unerhebliche Rolle (Sesack *et al.* 1998). Auch im ventralen Striatum wird dieser Art der dopaminergen Signalübertragung eine wichtige Rolle zugesprochen (Garris *et al.* 1994)

Die Menge des ausgeschütteten Dopamins *in vivo* und die Konzentration im Extrazellulärraum hängen neben der Feuerrate, also der Frequenz an Aktionspotentialen, auch vom zeitlichen Muster der Freisetzung ab. So kann die DA-Freisetzung bei gleichbleibender Frequenz beträchtlich erhöht werden, wenn kurze Salven, gefolgt von Intervallen ohne Aktionspotentiale auftreten (Suaud-Chagny *et al.* 1992). Dieses tonische und phasische Signal der Dopamin-Freisetzung ist auf eine komplexe Art und Weise miteinander verbunden. Die Arbeitsgruppe um Grace (Grace *et al.* 2007) konnte am Beispiel des NAC zeigen, daß die Interaktion von phasischem und tonischem DA-Signal möglicherweise zu einer Selektion der Eingangssignale und folglich zu einer Auswahl der korrekten Antwortstrategie in Situationen führt, wo die optimal zielführende aus verschiedenen Strategien gewählt werden muß.

#### **4.5.5 DA-Rezeptorliganden**

Für Verhaltensmessungen ist es von großem Vorteil, Substanzen an der Hand zu haben, die entweder eine ähnliche Wirkung auf die DA-Rezeptoren haben wie DA selber, oder die Fähigkeit besitzen, mehr oder weniger spezifisch bestimmte Gruppen von DA-Rezeptoren zu blockieren.

##### **4.5.5.1 SCH23390**

SCH23390, (R-(+)-8-chloro-7-hydroxy-2,3,4,5-tetrahydro-3-methyl-5-phenyl-1H-3-benzazepin-ol), ist ein kompetitiver DA-Antagonist, der D1 -Rezeptoren blockiert. Er

ist äußerst selektiv und hat wenn überhaupt dann nur sehr geringen Einfluß auf die D2-Rezeptoren. Er wird auf Grund seiner hohen D1-Selektivität sehr häufig in Verhaltenstests, aber auch anderen tierexperimentellen Studien eingesetzt. Er löst dosisabhängig Katalepsien aus und ist in der Lage, die neurophysiologischen Wirkungen von indirekten DA-Agonisten wie Kokain zu antagonisieren, indem es in die intrazelluläre, Kokain -induzierte Genexpression eingreift und diese als Antwort auf die Drogenapplikation verhindert (Guan *et al.* 2009).

#### 4.5.5.2 *Racloprid/Eticloprid*

Racloprid, (3,5-dichloro-N-[[[(2S)-1-ethylpyrrolidin-2-yl]methyl]-2-hydroxy-6-methoxybenzamid), und Eticloprid, (3-chloro-5-ethyl-N-[[[(2S)-1-ethylpyrrolidin-2-yl]methyl]-6-hydroxy-2-methoxybenzamid), sind kompetitive Antagonisten der D2-Rezeptoren. Beide haben vergleichbare Eigenschaften und eine hohe Selektivität für die Rezeptoren der D2-Gruppe. Racloprid (<sup>11</sup>C-Racloprid) wird im humanmedizinischen Bereich oftmals für die PET-Bildgebung verwendet, um Erkrankungen zu identifizieren, die mit einer erhöhten DA-Transmission einhergehen (z.B. ADHD).

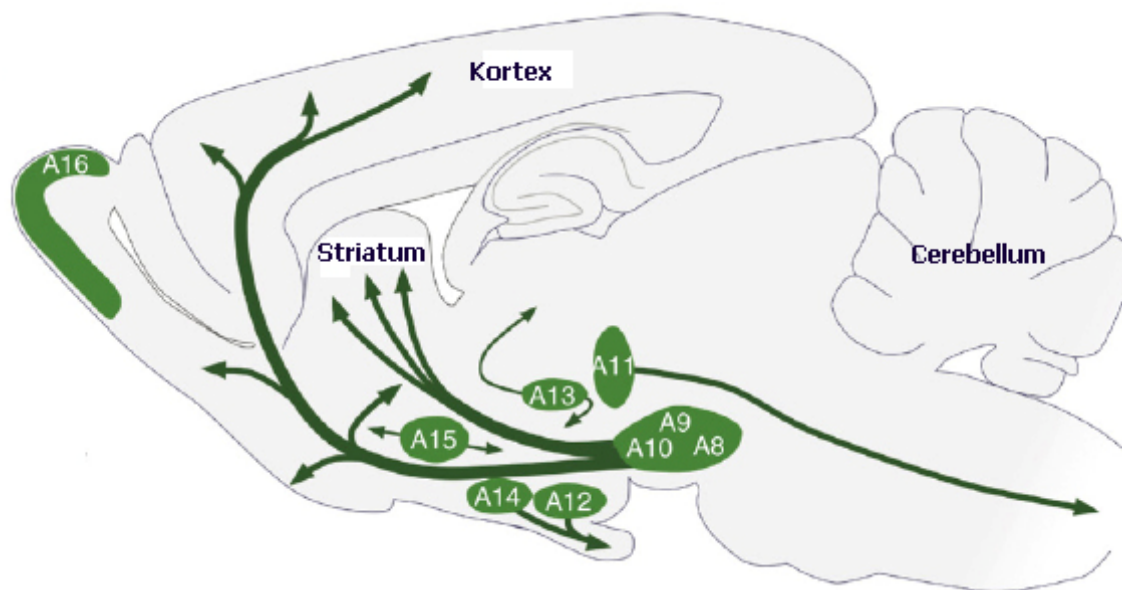
#### 4.5.5.3 *6-Hydroxydopamin*

6-Hydroxydopamin (6-OHDA) ist ein synthetisches Neurotoxin, das von Neurowissenschaftlern verwendet wird, um dopaminerge und noradrenerge Neurone selektiv zu zerstören. Ist die Zerstörung noradrenerger Neurone nicht gewünscht, läßt diese sich durch Gabe von selektiven Nordrenalin-Wiederaufnahmehemmern wie z.B. Desipramin verhindern. 6-OHDA wird als DA-Analagon über den DA-reuptake Transporter (DAT) in die Zelle aufgenommen, um dann intrazellulär durch die MAO und die COMT katabolisiert zu werden. Bei diesem Prozeß entstehen freie Sauerstoffradikale, die schließlich durch Hemmung der Atmungskette zur Apoptose des dopaminergen/noradrenergen Neurons führen.

6-OHDA wird häufig eingesetzt, um bei Mäusen und Ratten eine Parkinson-Symptomatik hervorzurufen.

#### 4.5.6 Dopamin-System und Lernen

Die Basalganglien werden hauptsächlich von drei Arealen aus dem Mittelhirn dopaminerg innerviert: der Substantia nigra pars compacta (SNc), dem ventralen Tegmentalen Areal (VTA) und dem Retrорubralen Areal (RRA). Axone dieser dopaminergen Neurone projizieren im medialen Vorderhirnbündel oder über die Capsula interna in verschiedene Regionen des Vorderhirns. Daher spricht man auch vom „aufsteigenden“ Dopamin-System (Fuxe *et al.* 1985) (Abbildung 6). Dabei wird zwischen dem nigrostriatalen System, das von der SNc ausgeht und in das dorsale Striatum (DS) projiziert, dem mesolimbischen System, das vom VTA zum ventralen Striatum projiziert und dem mesocorticalen System, das ausgehend von der VTA Areale des frontalen Kortex innerviert, unterschieden (Janhunen and Ahtee 2007). Eine strikte funktionelle Trennung ist jedoch unmöglich, da alle drei Systeme bei der Steuerung verschiedener kognitiver Prozesse massiv interagieren (Gonzalez-Burgos and Feria-Velasco 2008; Parent 1990).



**Abbildung 6:** Schematische Darstellung der DAergen Innervation des Gehirns. DA-Neurone konnten in 9 Arealen des Säugetiergehirns nachgewiesen werden. Die Numerierung der Areale wurde entsprechend einer Studie von Dahlström und Fuxe (1964) gewählt. (Abbildung modifiziert nach Bjorklund and Dunnett 2007). A8 = Retrорubrales Areal; A9 = Substantia nigra pars compacta; A10 = ventrales tegmentales Areal; A11 = posteriorer Hypothalamus; A12 = Nucleus arcuatus; A13 = subthalamischer Nucleus; A14 = anteriorer Hypothalamus; A15 = Rostraler Hypothalamus; A16 = bulbus olfactorius.

Trotz der relativen Seltenheit von DA-Neuronen im ZNS (<1%) im Vergleich zu anderen Neuronen des ZNS (z.B. Glutamat (~2%), GABA (~90%)) (Kandel *et al.* 2000), ist es an der Steuerung einer Vielzahl von Verhaltensweisen beteiligt. Verschiedenste neuropathologische Erkrankungen, die in einem dysfunktionalen DA-System begründet sind, äußern sich symptomatisch durch im Krankheitsverlauf immer gravierender werdende Ausfälle des motorischen Systems („restless-leg“-Syndrom, Morbus Parkinson, Chorea Huntington, AD(H)S) (Barbeau 1970; Fahn and Sulzer 2004; Nikolaus *et al.* 2009). Vor allem beim Morbus Parkinson kann dies bis zur völligen Bewegungslosigkeit führen. Daneben ist DA aber auch an der Steuerung von motivationalen und emotionalen Prozessen beteiligt (zur Übersicht siehe (Berridge and Robinson 1998) und spielt bei der Entstehung von Suchtverhalten eine wichtige Rolle (Dackis and Gold 1985; Wise and Bozarth 1987). Dies führte in der jüngeren Vergangenheit dazu, daß man sich verstärkt mit dem Neurotransmitter DA und den Funktionen beschäftigte, die DA bei der Vermittlung unterschiedlicher motorischer Abläufe, aber auch bestimmter Lern- und Gedächtnisinhalte erfüllt. Man erhofft sich, durch tiefere Einblicke in die Entstehung verschiedenster neurodegenerativer Erkrankungen die Früherkennung solcher Krankheiten zu verbessern und möglicherweise neue Therapieansätze entwickeln zu können. Der Fokus lag dabei zu Beginn primär auf den motorischen Defiziten (Barbeau 1972), die z.B. im Falle der Chorea Huntington, welche auf Defekten der striatofugalen, DA-rezeptortragenden Neuronen beruht, oder Morbus Parkinson, bei dem die DA-Neurone der SNr und VTA degenerieren, deutlich zu Tage traten (Abb. 2). Erst später entdeckte man, daß eine Degeneration des dopaminergen Systems auch gravierende Defizite im (Lern-)verhalten zur Folge hat (z.B. (Pirozzolo *et al.* 1982; Saint-Cyr *et al.* 1988). Einige wichtige Theorien zur Funktion von DA, die für diese Arbeit relevant sind, sollen hier kurz skizziert werden.

Zunächst vermutete man, daß DA hauptsächlich an der Steuerung von motorischen Funktionen beteiligt sei (Barbeau 1972). Koob erweiterte diese Überlegungen und stellte fest: „Das DA-System ist ein Motorsystem höherer Ordnung, nicht mehr und nicht weniger“ (Koob 1982, zitiert aus Wise 2008).

Bewegungsabläufe, wie das Durchlaufen eines Labyrinthes, das Drücken eines Hebels oder das Aufsuchen bestimmter Orte, können durch das Eintreten eines für das Tier positiven Ereignisses verstärkt werden. In verschiedenen Studien entfiel

diese Verhaltensverstärkung, sobald das dopaminerge System beeinträchtigt war (Bozarth and Wise 1981; Spyraki *et al.* 1982a; Spyraki *et al.* 1982b; Wise 1978). Aus diesen Beobachtungen entstand die Idee des „stamping in“, oder auch „positive reinforcement“. Diese Idee besagt, daß DA eine essentielle Rolle bei der initialen Verknüpfung eines Stimulus mit der entsprechenden Belohnung spielt. Diese Theorie ist, trotz der Einschränkungen, die Studien in neuerer Zeit brachten, allgemein als eine wichtige Hypothese zur Funktion von DA akzeptiert, obgleich nicht nur DA für die positive Verstärkung von Verhaltensweisen verantwortlich ist (Brown *et al.* 1997; Carlezon and Wise 1996; Jenner 2003).

Nahezu zeitgleich mit Koob konstatierte Wise, daß im NAC unter Beteiligung von DA der „Anreizwert“ einer Belohnung generiert wird (Wise 1980; Wise and Bozarth 1982). Wise vertrat die Hypothese, daß DA-Antagonisten die hedonische Wirkung von natürlichen Belohnungen auf das Verhalten blockierten (Wise 1978; Wise and Bozarth 1982). Sie wurde daher als „Anhedonie-Hypothese“ bezeichnet. In der folgenden Zeit kamen erste Zweifel an dieser Hypothese auf, so daß Wise in einer Arbeit von 1982 bereits eine Modifikation der ursprünglichen These vorschlug, indem er feststellte: *„dopaminergic impairment disrupts first and most strongly the motivational arousal function of external rather than internal stimuli“* (Wise 1978). Obwohl Wise 10 Jahre später selber Abstand von seiner ursprünglichen These (Wise 1994) nahm, ist die Anhedonie-Hypothese weiterhin Gegenstand aktueller Forschungsarbeiten. In zahlreichen Studien wurde eine starke Aktivierung des mesolimbischen DA-Systems als Antwort auf „pleasant rewards“, wie Essen, Sexualpartner oder Drogen gemessen (Aragona *et al.* 2006; Becker *et al.* 2001; Everitt and Robbins 2005; Fiorino *et al.* 1997; Koob 2006; Roitman *et al.* 2004; Small *et al.* 2003; Thut *et al.* 1997; Volkow *et al.* 2005). Außerdem wird DA in vielen wissenschaftlichen Artikeln als „brain`s pleasure neurotransmitter“ bezeichnet (Wickelgren 1997). Andere Studien widersprechen allerdings dem Bild von DA als „Quelle der Freude“ („liking“). Sie zeigen das DA-Signal vielmehr als „Quelle des Verlangens“ („wanting“). Berridge etwa zeigte an Ratten, bei denen er die Rezeptoren für DA blockiert hatte, daß sie zwar nicht mehr aus eigenem Antrieb fraßen, doch wenn man sie zur Aufnahme einer süßen Lösung zwang, sie deutliche Zeichen für Wohlempfinden zeigten. Sie mochten Süßes weiterhin („liking“), wollten es aber nicht mehr („wanting“) (Berridge 2000). Dem gegenüber stehen zahlreiche

Studien aus der jüngeren Vergangenheit, die versuchten nachzuweisen, daß DA das „*Liking*“ steuert (Cagniard *et al.* 2006; Pecina *et al.* 2003; Tindell *et al.* 2005; Wyvell and Berridge 2000). In allen durchgeführten Studien wurde allerdings nur das „*Wanting*“ beeinflusst, nicht aber das „*Liking*“. Weitere Hinweise dafür, daß nicht DA, sondern andere Neurotransmittersysteme an der Vermittlung der hedonischen Wirkung von Stimuli beteiligt sind, lieferten Studien, die eine Veränderung im „*Liking*“ und nicht im „*Wanting*“ nach Eingriffen in die Opioid-, Cannabinoid und GABA-Signaltransduktion sahen (Berridge and Pecina 1995; Jarrett *et al.* 2005; Kaczmarek and Kiefer 2000; Parker 1995; Parker *et al.* 1992). DA schien demnach also ausschließlich das „*Wanting*“ zu vermitteln und hatte keinen Einfluß auf das „*Liking*“. Berridge und Robinson prägten dafür den Begriff des „incentive salience“ (Berridge and Robinson 1998), als eine von Motivation und Belohnung zu unterscheidende Komponente der Verhaltenssteuerung. Mit anderen Worten: DA ist notwendig für das „Wollen“ einer Belohnung, nicht aber für das „Mögen“. Diese Erkenntnis ist auch für das Verständnis der Entstehung von Suchtverhalten von essentieller Bedeutung: Durch den Konsum suchtauslösender Substanzen, wie z.B. Kokain, das durch Blockade des DAT den DA-*reuptake* verhindert, oder Nikotin, das durch Bindung an ACh-Rezeptoren zu einer verstärkten DA-Ausschüttung führt oder auch Amphetamin, durch das die DA-Freisetzung stimuliert wird, wird die Konzentration von DA im synaptischen Spalt erhöht. Als Folge sind die Funktionen, die DA bei der Steuerung des Verhaltens vermittelt, deutlich verstärkt. Durch die pathologische Steigerung des „*incentive salience*“ im Laufe der fortdauernden Aufnahme der suchtauslösenden Substanz wird die Droge in der Folge trotz der immer stärker werdenden negativen Begleiterscheinungen immer stärker „gewollt“, aber immer weniger „gemocht“ (Robinson and Berridge 1993). Allein die Präsentation eines Stimulus, der prädiktiv für das erwartete Suchtmittel ist, reicht aus, um eine Aktivierung des dopaminergen Systems auszulösen (Übersicht in Schultz 1998). Der Anreizwert einer Belohnung, egal ob - wie zuvor beschrieben - einer Droge oder einer natürlichen Belohnung, geht auf den Stimulus über, der diese Belohnung sicher vorhersagt. In verschiedenen Lernversuchen wird dieses Phänomen untersucht. So verstärkt ein klassisch konditionierter Stimulus, der eine Belohnung, wie z.B. Futter vorhersagt, instrumentelle Verhaltensweisen, die ebenfalls zu diesem Futter führen. Dieses Phänomen wird als „pavlovian to instrumental transfer“ oder auch PIT bezeichnet

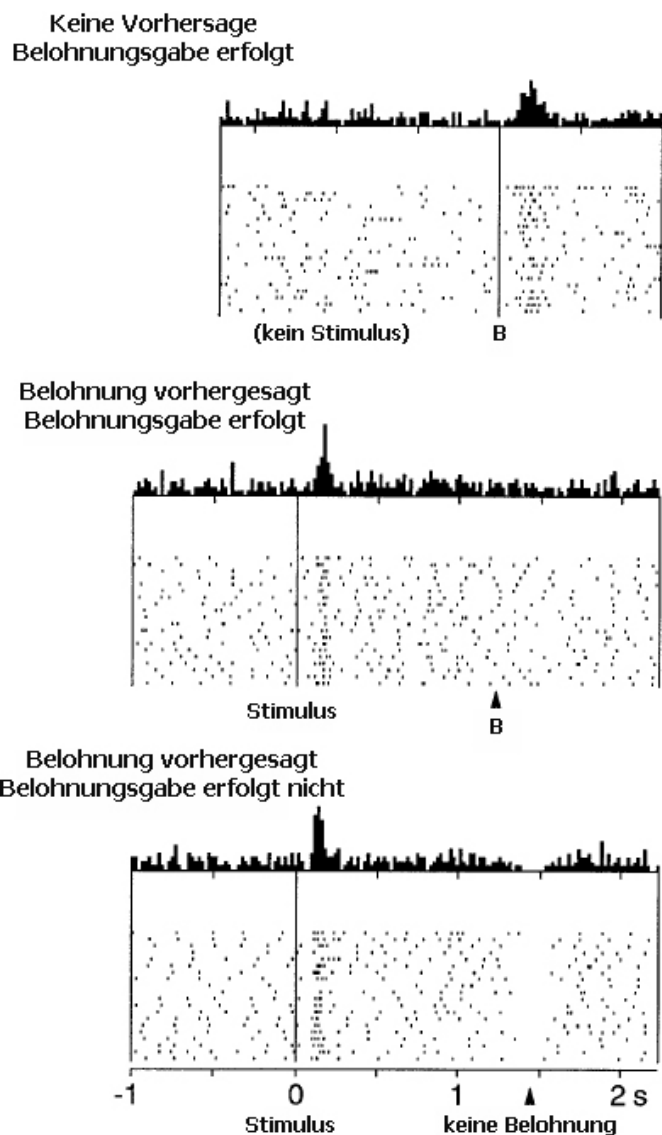


(Corbit and Janak 2007; Homayoun and Moghaddam 2009; Lex and Hauber 2008) (siehe auch 4.4).

Eine andere Hypothese zur Rolle von DA postuliert, daß DA-Signale für assoziative Lernvorgänge wichtig sind. Laut dieser Theorie spielt DA eine essentielle Rolle bei der Verknüpfung eines Stimulus mit einer entsprechenden Belohnung (z.B. Bassareo *et al.* 2007; Day *et al.* 2007; Yin and Knowlton 2006). Die Präsentation des konditionierten Stimulus kann Handlungen und Verhaltensweisen auslösen und verstärken, die zu der erwarteten Belohnung führen. Um allerdings diese Verhaltensweisen auslösen zu können, muß eine Repräsentation derjenigen Belohnung vorhanden sein, die nach Ausführen der instrumentellen Handlung erwartet wird. Tritt das „vorhergesagte“ Ergebnis (Belohnung) nicht ein, müssen die Repräsentationen aktualisiert und das Verhalten der geänderten Situation angepaßt werden. Elektrophysiologische Messungen zeigen, daß die Aktualisierung von Repräsentationen möglicherweise auf Signalen dopaminerger Neurone beruht (Schultz 1998; Schultz *et al.* 1997). In den Studien von Schultz und Kollegen wurde ein klassischer Stimulus (Ton) einige Zeit vor der Gabe einer Belohnung eingespielt. Zu Beginn des Experimentes zeigten die abgeleiteten Neurone eine Aktivierung auf die Belohnungsgabe hin. Im Laufe des Versuchs „wanderte“ diese Aktivierung hin zu dem Stimulus, der diese Belohnung vorhersagte. Erfolgte dann allerdings zu dem erwarteten Zeitpunkt keine Belohnungsgabe, zeigten die Neurone eine deutliche Aktivitätsverringerung (Abb. 6). Dies ließ Schultz vermuten, daß die Signale dieser Neurone, die er als DA-Neurone identifizierte (Schultz *et al.* 1997), eine „Vorhersage“ für bestimmte zukünftige Ereignisse repräsentierten. Daraus entwickelte er die sog. „Vorhersagefehlertheorie“. Diese besagt, daß DA-Neurone Änderungen am Zusammenhang zwischen Stimulus, Antwort und Belohnung registrieren und diese Informationen weitergeben, um Verhaltensweisen an geänderte Umgebungsbedingungen anzupassen. Diese neuronalen Signale konnten in den Ursprungsarealen des DAergen Systems wie der VTA und der Substantia nigra (Hollerman and Schultz 1998), aber auch den DAerg innervierten Zielgebieten, wie dem ventralen Striatum (Schultz *et al.* 1992), dem dorsalen Striatum (Lau and Glimcher 2007; Lauwereyns *et al.* 2002) und dem orbitofrontalen Kortex (Rolls 2000) beobachtet werden. Auch zeigen Verhaltensstudien an Ratten mit Beeinträchtigungen des dopaminergen Systems in verschiedenen Arealen des

Striatums (Haluk and Floresco 2009; O'Neill and Brown 2007), aber auch des Kortex (z.B. Floresco et al. 2006) eingeschränkte Fähigkeiten der Tiere, ihr Verhalten flexibel, entsprechend neuer Zuordnungsregeln, anzupassen. Diese Beobachtungen stehen in Einklang mit der Vorhersagefehlertheorie. Dabei ist aber nicht nur die Flexibilität des Verhaltens eingeschränkt, sondern auch die Fähigkeit, verschiedene Belohnungsqualitäten, -stärken und -wahrscheinlichkeiten auseinanderzuhalten (z.B. (Glimcher 2003; Stefani and Moghaddam 2006)).

**Abbildung 7:** DA-Neurone kodieren eine Belohnung entsprechend dem Fehler in der Belohnungserwartung. Oben: Eine Belohnungsgabe erfolgt ohne vorherigen Stimulus. Dies führt dazu, daß die Neurone durch den „positiven“ Vorhersagefehler mit einer Aktivitätssteigerung reagieren. Mitte: Ein Stimulus ist prädiktiv für die Belohnung und die Belohnungsgabe erfolgt entsprechend der Erwartung. Die DA-Neurone zeigen eine Aktivierung auf den prädiktiven Stimulus hin, ungeachtet dessen, ob eine Belohnungsgabe erfolgt oder nicht. Unten: Auf den belohnungsprädiktiven Stimulus hin reagieren die DA-Neurone mit einer Aktivitätserhöhung. Erfolgt zum vorhergesagten Zeitpunkt keine Belohnungsgabe antworten die Neurone mit einer deutlichen Aktivitätsminderung. (Modifiziert nach Schultz 1998).



So zeigten erstmals Tobler und Kollegen (Tobler *et al.* 2005) einen Zusammenhang zwischen dem DA-Signal und unterschiedlichen Belohnungsqualitäten/-stärken. Sie untersuchten Affen, denen als Belohnung unterschiedliche Konzentrationen einer

Zuckerlösung präsentiert wurden. Tobler wies durch elektrophysiologische Untersuchungen nach, daß die DA-Neurone des Mittelhirns durch Änderungen ihrer Aktivität dabei auch Informationen über die unterschiedlichen Belohnungsstärken kodierten. Dabei zeigte er auch, daß die DA-Neurone durch ihre Signale nicht die Information über die absolute Menge einer Belohnung kodierten, sondern das Verhältnis der aktuellen zur erwarteten Belohnungsstärke. Das DA-Signal scheint also nicht nur Informationen über den Zeitpunkt einer Belohnungsgabe zu kodieren, sondern auch Informationen über Belohnungsstärke und -qualität. Darüber hinaus scheint das DA-Signal auch die Wahrscheinlichkeit zu kodieren, mit der ein Stimulus zu einer Belohnung führt (Fiorillo *et al.* 2003; Nakahara *et al.* 2004; Schultz *et al.* 2008; Stefani and Moghaddam 2006). Daneben sind im DA-Signal Informationen über Assoziationen des aktuellen physiologischen Zustandes des Organismus - z.B. den Hungerstatus - mit dem biologischen Wert der zu erwartenden Belohnung - z.B. dem Nährwert - enthalten (Berridge and Robinson 2003). Leider ist derzeit noch wenig darüber bekannt, wie diese Informationen in den verschiedenen Zielgebieten der dopaminergen Projektionen verarbeitet werden und welchen Beitrag sie zur Steuerung des Verhaltens leisten (z.B. Berridge and Robinson 2003; Übersicht in Salamone 2009).

DA wirkt also auf vielfältige Art und Weise an der Steuerung sehr unterschiedlicher Verhaltensweisen mit. Dementsprechend gibt es eine große Anzahl verschiedener, sich teilweise widersprechender Hypothesen zu seiner Funktion. Dies ist zum einen die anfangs erwähnte „Anhedonie-Hypothese“, die jedoch in der Zwischenzeit mehrfach durch Studien, bei denen Eingriffe in das DAerge System nur das „Wanting“, nicht aber das „Liking“ beeinflussten, widerlegt wurde (Cagniard *et al.* 2006; Pecina *et al.* 2003; Tindell *et al.* 2005; Wyvell and Berridge 2000). Trotzdem findet diese Theorie heutzutage immer noch zahlreiche Anhänger. Zum anderen ist dies die Hypothese des „incentive salience“, die DA eine modulierende Funktion bei der Verarbeitung des Anreizwertes einer Belohnung zuspricht. Zuletzt soll die Theorie des Vorhersagefehlers Erwähnung finden. Laut dieser Theorie „vergleichen“ DA-Neurone Informationen über die aktuelle Situation mit der Vorhersage, um gegebenenfalls zukünftiges Verhalten anzupassen. Grundsätzlich läßt sich aber resümieren, daß DA bei unterschiedlichen Hirnfunktionen, unterschiedliche Rollen spielt.

Der Zeitverlauf DAerger Signale reicht von einigen ms bis hin zu größeren Perioden von mehreren Stunden. Kurzzeitige DA-Signale im Subsekunden-Bereich übermitteln Informationen über Belohnungen und belohnungsprädiktive Stimuli. Betrachtet man größere Zeitabschnitte im Minuten- bis Stundenbereich, ist der extrazelluläre DA-Spiegel oft konstant. Auch dieser konstante extrazelluläre DA-Spiegel scheint für zahlreiche Funktionen wichtig zu sein. Wird er geringer, kann dies zum Ausfall bestimmter kognitiver Funktionen wie z.B. der Aufmerksamkeit führen. Die Anwesenheit von DA führt dabei zu einer Modulation von Neuronen, die für solche kognitiven Leistungen essentiell sind. Dies bezeichnet man als die sogenannte „*Enabling*“-Funktion von DA. In anderen Zeitfenstern werden von DA-Neuronen weitere Informationen übertragen, wie z.B. die Vermittlung der Wahrscheinlichkeit, mit der eine Belohnungsgabe erfolgt (im Bereich von Sekunden), oder auch die Repräsentationen von belohnungsbezogenen Informationen, die über Mikrodialyse oder Voltametrie gemessen werden können (Sekunden bis Minuten).

## 4.6 Glutamat

Ein weiterer wichtiger Neurotransmitter der Basalganglien ist das Glutamat. L-Glutamat ist das unter physiologischen Bedingungen vorliegende Salz der Glutaminsäure ( $\alpha$ -Aminoglutarsäure). Es wird angenommen, daß mehr als die Hälfte aller Neuronen im Gehirn Glutamat freisetzen (Hanser 2001). Aus diesem Grund gilt Glutamat als wichtigster Neurotransmitter des Gehirns.

### **4.6.1 Anabolismus**

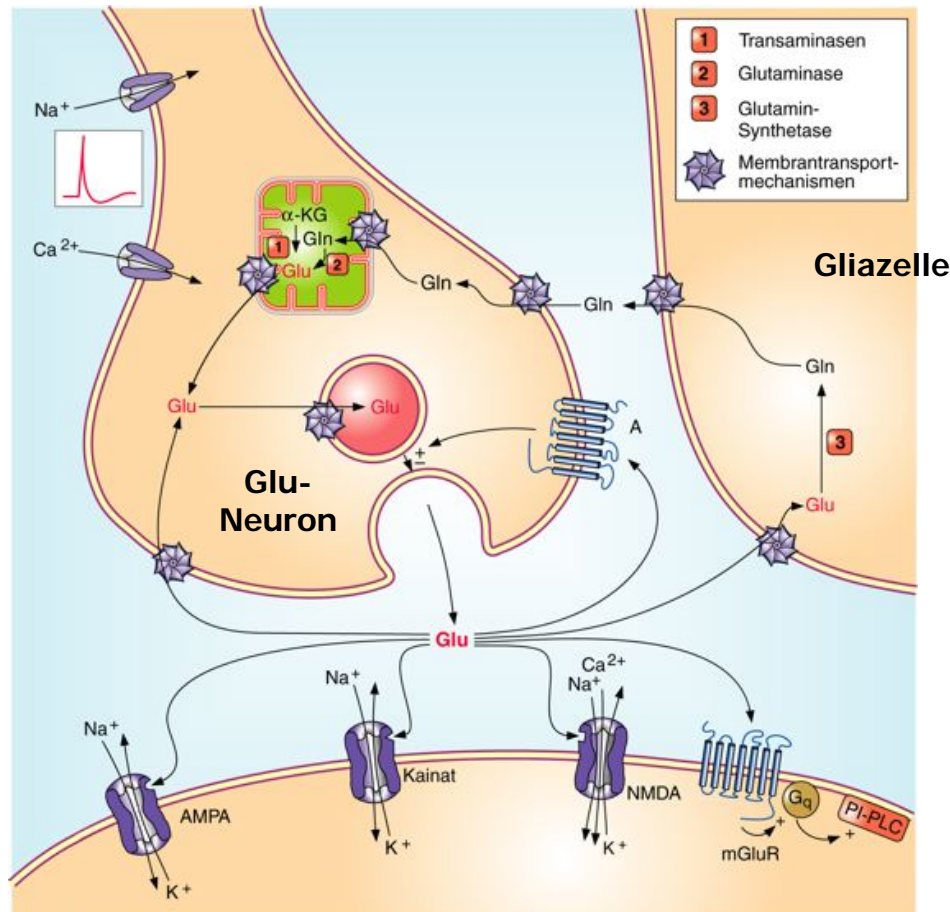
Die Biosynthese von L-Glutamat erfolgt durch eine von der Glutamatdehydrogenase katalysierte Transaminierung der  $\alpha$ -Ketoglutaratsäure, einem Zwischenprodukt des Citratzyklus (Berg *et al.* 2007). Dies geschieht im Organismus vorwiegend in den Zellen der Leber, der Lunge, der Niere und in den Neuronen des Zentralnervensystems. Da jedoch Glutamat die Blut-Hirn-Schranke nicht passieren kann, wird das gesamte im Zentralnervensystem vorkommende Glutamat ausschließlich in Neuronen und Gliazellen synthetisiert. Es kann in den Neuronterminalen auf zwei zusätzlichen Wegen synthetisiert werden. Zum einen entsteht es im Zitratzyklus durch Transaminierung von  $\alpha$ -Oxoglutarat, einer Reaktion,

die durch die Glutamat-Synthase katalysiert wird. Zum anderen wird es in den Nervenendigungen durch Hydrolysierung von Glutamin mit Hilfe der Glutaminase synthetisiert, das aus dem Extrazellularraum in das Neuron gelangt. Dieser Syntheseschritt wird durch die Aktivität der Glutaminase und der Glutamin-Aufnahme in die Nervenendigung reguliert. Ebenso wie bei anderen Neurotransmitter-Systemen - wie z.B. dem Acetylcholin- oder DA-System - findet hier eine Endprodukt-Hemmung der Synthese durch das Endprodukt Glutamat statt (Cooper *et al.* 2004). In einer weiteren Reaktion entsteht dann durch Decarboxylierung aus dem „erregenden“ Neurotransmitter Glutamat  $\gamma$ -Aminobuttersäure, ein Transmitter mit überwiegend „hemmenden“ Eigenschaften. Das synthetisierte Glutamat wird in synaptischen Vesikeln angereichert und wird nach einer Depolarisation der Axonterminale freigesetzt

#### **4.6.2 Katabolismus**

Aus dem synaptischen Spalt wird Glutamat wieder in das präsynaptische Neuron oder die Gliazellen aufgenommen (*reuptake*). Die Konzentration an extrazellulärem Glutamat wird dabei von metabotropen Glutamat-Rezeptoren kontrolliert (Hanser 2001). Es wird hauptsächlich durch einen hochaffinen, transmembranären Glutamat-Transporter (EAAT - *excitatory amino acid transporter*) wieder zurück in die Zellen transportiert, der überwiegend auf den umliegenden Gliazellen und nur in geringem Umfang auf den Neuronen selbst lokalisiert ist. Nach Kontakt mit dem erregenden Neurotransmitter Glutamat aktivieren die Gliazellen den Glutamat-Transporter, der das Glutamat durch einen  $\text{Na}^+$ -abhängigen Symport mit hoher Geschwindigkeit aus dem synaptischen Spalt entfernt. Nachfolgend können dann unterschiedliche Reaktionen ablaufen. Zum einen kann Glutamat in den Gliazellen mit Hilfe der Glutamin-Synthetase über eine Amidierung in Glutamin überführt werden, welches dann über einen Aminosäure-Transporter wieder in die umliegenden Neurone zurücktransportiert werden kann, wo es anschließend zur erneuten Glutamatsynthese zu Verfügung steht (Glutamat-Glutamin-Zyklus). Zum anderen besteht auch die Möglichkeit, daß Glutamin in den Gliazellen zu  $\alpha$ -Ketoglutarat oxidiert und zurück in die Axonterminalen transportiert wird, um das durch die Glutamat-Synthese verlorengegangene  $\alpha$ -Ketoglutarat zu ersetzen. Die wichtigste Funktion der

Wiederaufnahme ist in jedem Fall, die synaptische Übertragung rasch zu beenden, um die Erregungszeit des postsynaptischen Neurons zu begrenzen. Auf diese Weise sind Astrozyten an der Informationsverarbeitung an der Synapse beteiligt (Hanser 2001; Squire 2008).



**Abbildung 8:** Schematische Darstellung der glutamatergen Signaltransduktion. Glutamat wird im Gehirn in Gliazellen und Neuronen synthetisiert. Es entsteht dort durch Transaminierung von Glutamin. Nach der Synthese wird es in synaptische Vesikel verpackt und wird bei Eintreffen eines Aktionspotentials über die Verschmelzung des Vesikels mit der präsynaptischen Membran in den synaptischen Spalt freigesetzt. Die Aufnahme wird über einen hochaffinen transmembralen Glutamattransporter in die Gliazellen oder Neuronen zurücktransportiert und dort entweder direkt wieder in Vesikel verpackt, oder in Glutamin umgewandelt, um den Verlust an Glutamin durch die Glutamat-Synthese auszugleichen (aus Aktories *et al.* 2005).

### 4.6.3 Glutamat-Rezeptoren

#### 4.6.3.1 Metabotrope Glutamatrezeptoren

Metabotrope Glutamatrezeptoren sind G-Protein-gekoppelte Rezeptoren und spielen eine wichtige Rolle in der intrazellulären Signaltransduktionskaskade, indem sie verschiedene *second-messenger*-Systeme aktivieren und langsame synaptische

Antworten generieren (Gudermann *et al.* 1997; Nakanishi and Yamamoto 1991). Derzeit unterscheidet man 8 Klassen von metabotropen Rezeptoren mGluR1 bis mGluR8. Aufgrund von Ähnlichkeiten in der Aminosäuresequenz, in den pharmakologischen Eigenschaften und den intrazellulären Signalwegen, mit denen sie gekoppelt sind, werden diese in drei Gruppen eingeteilt. Die Gruppe I besteht aus mGluR1 und mGluR5. Sie aktivieren die intrazelluläre Signalkaskade über die Phospholipase C und induzieren darüber die Freisetzung verschiedener Metabolite. Die Gruppe II setzt sich aus mGluR2 und mGluR3 zusammen. Diese hemmen durch ihre Aktivierung die Adenylatcyclase und verhindern die Bildung des intrazellulären Botenstoffs cAMP. Alle übrigen, mGluR4, 6, 7 und 8, gehören auf Grund der im Vergleich zu Gruppe II unterschiedlichen Präferenz für bestimmte Agonisten zur Gruppe III. Auch sie hemmen die Bildung von cAMP durch negative Regulation der Adenylatcyclase. Metabotrope Glutamatrezeptoren können also je nach Subtyp exzitatorisch oder inhibitorisch wirken (Kandel *et al.* 2000).

#### 4.6.3.2 Iontrope Glutamatrezeptoren

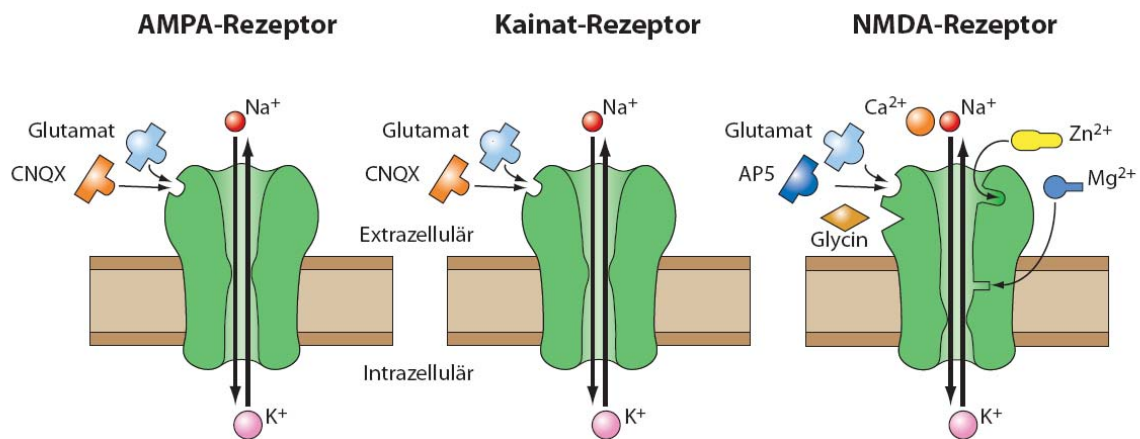
Die ionotropen Glutamatrezeptoren sind transmembrale Ionenkanäle und werden - abhängig von ihrer Präferenz für bestimmte Agonisten - in AMPA- ( $\alpha$ -Amino-3-hydroxy-5-methylisoxazol-4-propionsäure), NMDA- (N-methyl-D-aspartat) und Kainat-Rezeptoren eingeteilt. Alle Rezeptoren sind im Unterschied zu den metabotropen Glutamatrezeptoren für die schnelle Signaltransduktion ausgelegt. Die zeitliche Verzögerung (Latenz) für das Binden des Neurotransmitters bis zum Öffnen des Kanals beträgt dabei unter 5 ms.

Die NMDA-Rezeptoren sind sowohl spannungs-, als auch ligandenabhängig. Sie benötigen für ihre Aktivierung sowohl die Bindung von Glutamat oder einem anderen Agonisten, als auch die Entfernung des - den Kanal blockierenden Magnesiumions - nach der Depolarisation der postsynaptischen Membran. NMDA-Rezeptoren sind unselektive pentamere Kationenkanäle mit vielen unterschiedlichen Bindungsstellen, die letztlich die Kanalleitfähigkeit bestimmen können. Sie besitzen neben der Bindungsstelle für Glutamat darüber hinaus Bindungsstellen für Rezeptor-Antagonisten wie AP-5, Ketamin oder MK-801, aber auch Bindungsstellen für den Coagonisten Glycin (Cooper *et al.* 2004). Durch Aktivierung des Rezeptors strömen

Kationen in die Zelle ein und sorgen für eine Depolarisation der postsynaptischen Membran. Jedoch werden die NMDA-Rezeptoren erst bei ausreichender Depolarisierung der postsynaptischen Membran aktiv und tragen dann zur synaptischen Transmission bei (Collingridge 1987). Diese Eigenschaft, nur bei gleichzeitiger prä- und postsynaptischer Aktivität leitfähig zu sein, macht die NMDA-Rezeptoren zu idealen molekularen Koinzidenzdetektoren. Das gleichzeitige Eintreten beider Ereignisse - nämlich der prä- und postsynaptische Erregung - ist nicht der Regelfall und deutet darauf hin, daß die entsprechende Synapse zwischen zwei Nervenzellen besonders häufig benutzt wird. Man nimmt heute an, daß die Leitfähigkeitserhöhung des NMDA-Rezeptors eines der wesentlichen Elemente für die Induktion synaptischer Plastizität ist und damit einen molekularen Mechanismus für Lernen und Gedächtnis darstellt (Bliss and Collingridge 1993; Westbrook 1994).

AMPA-Rezeptoren sind pentamere Transmembranproteine, die selektiv den Transport von Calcium-, Natrium- und Kaliumionen steuern. Dabei hängt die Ionenspezifität des Transporters von der Kombination der fünf Proteinuntereinheiten GluR1, 2, 3, 4 und 5 ab (Pellegrini-Giampietro *et al.* 1997; Seeburg 1993). Im Unterschied zu NMDA-Rezeptoren sind die AMPA-Rezeptoren nur ligandenabhängig und öffnen ihren Ionenkanal nach Bindung von Glutamat innerhalb weniger Millisekunden. Dadurch tragen sie ebenso wie Kainat-Rezeptoren zur schnellen Signaltransduktion bei. Kainat-Rezeptoren ähneln in Aufbau und Eigenschaften den AMPA-Rezeptoren. Sie bestehen aus den Untereinheiten GluR6 und 7 sowie KA1 und KA2 (Hanser 2001). Diese zusammen bilden einen transmembralen Ionenkanal - der abhängig von der Kombination der Untereinheiten - selektiv für Calcium-, Natrium- und Kaliumionen ist. Eine Übersicht über die verschiedenen Glutamat-Rezeptoren liefert Abbildung 9.





**Abbildung 9:** Ionotrope Glutamatrezeptortypen. Es lassen sich drei verschiedene ionotrope Glutamat-Rezeptoren unterscheiden: AMPA- und Kainat-Rezeptoren öffnen nach der Bindung von Glutamat und sind im geöffneten Zustand permeabel für  $\text{Na}^+$  und  $\text{K}^+$ -Ionen. Der NMDA-Rezeptor öffnet erst nach der Bindung von Glutamat, sowie nach der Entfernung des  $\text{Mg}^{2+}$ -Blocks durch eine Depolarisation der postsynaptischen Membran und ist im geöffneten Zustand für  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ - und auch für  $\text{Ca}^{2+}$ -Ionen permeabel ist. CNQX ist ein kompetitiver Antagonist für die AMPA und Kainat-Glutamatrezeptoren und AP5 ist ein kompetitiver Antagonist für die NMDA-Glutamatrezeptoren. Modifiziert nach Giertler (2003).

#### 4.6.3.3 Glutamat-spezifische Pharmaka

##### 4.6.3.3.1 AP-5

AP-5 ((2R)-amino-5-phosphonovaleriansäure) ist ein kompetitiver Glutamatrezeptor-Antagonist, der spezifisch NMDA-Rezeptoren blockiert (Morris 1989). Er wirkt schon in sehr niedrigen Konzentrationen und hat bei einer intracranialen Applikation sehr gravierende Auswirkungen auf verschiedene Arten von Verhalten (z.B. Barker and Warburton 2008; Giertler *et al.* 2005; Tan 2008).

## 4.7 Ziele der Arbeit

Tiere lernen rasch den kausalen Zusammenhang zwischen Umgebungsreizen, Handlungen und den Ergebnissen ihrer Handlungen zu erfassen. Bei Ratten werden solche Lernleistungen oft in SKINNER-Boxen untersucht. Dabei zeigen Lichtsignale an, daß die Betätigung eines Hebels zu einer Belohnung wie Futter führt. Insbesondere erfassen Tiere Änderungen in den kausalen Zusammenhängen zwischen den Umweltsignalen, ihren Handlungen und dem Ergebnis ihrer Handlungen und passen ihr Verhalten entsprechend den neuen Zuordnungsregeln

an. Diese Flexibilität des Verhaltens beruht auf Lernvorgängen, die durch die zwei wichtigen Funktionsschleifen des Gehirns - der limbischen und der assoziativen Funktionsschleife - gesteuert werden. Wichtige Teilgebiete dieser Funktionsschleifen sind der NAC, der OFC (limbische Funktionsschleife) und das pDMS (assoziative Funktionsschleife).

Alle diese Strukturen werden durch das mesencephale DA-system moduliert. Durch DA-Signale erhalten der NAC, OFC und das pDMS vermutlich Informationen, die für die Steuerung von Lernvorgängen essentiell sind. Das DA-System steuert Lernvorgänge auf vielfältige Weise. Es gibt daher eine Reihe sich zum Teil widersprechender Hypothesen zur Funktion von DA. Unklar ist bislang, auf welche Weise DA-Signale im pDMS, NAC und OFC zur Steuerung des zielgerichteten Verhaltens beitragen und Lernvorgänge steuern, die eine flexible Anpassung des Verhaltens ermöglichen.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es daher, die Rolle DAerger Signale in verschiedenen Zielgebieten DAerger Projektionen, nämlich dem NAC, dem OFC und dem DMS bei der Steuerung kognitiver Leistungen besser zu verstehen. Dazu wurden Ratten vom Stamm *Lister Hooded* in 3 Experimenten in einer bereits erprobten Reaktionszeitaufgabe getestet (Giertler 2003). In dieser Aufgabe fungierten zwei Stimuli mit unterschiedlichen Lichthelligkeiten als instruktive Stimuli, die prädiktiv für unterschiedliche Belohnungsstärken waren. Ziel war es dabei, den Einfluß von Eingriffen in das DAerge System im NAC, im OFC und DMS auf das Erlernen, bzw. das Umlernen eines bereits gelernten Zusammenhangs zwischen einem Stimulus und einer empfangenen Belohnung zu untersuchen. Daraus konnten dann Rückschlüsse auf die Funktion die DA im untersuchten Hirnareal ausübt, gezogen werden. In Experiment 1 lag der Fokus auf der Rolle von DA im NAC bei der Anpassung des Verhaltens an geänderte Stimulus-Belohnungs-Assoziationen. In Experiment 2 wurde analog zu Experiment 1 die Rolle von DA im OFC untersucht. In Experiment 3 beschäftigten wir uns mit den Auswirkungen einer DAergen Läsion des pDMS auf das Erlernen dieser Reaktionszeitaufgabe.

## 5 Durchgeführte Arbeiten

Die in dieser Arbeit durchgeführten Versuche an Wirbeltieren wurden nach § 8 des Tierschutzgesetzes und die Mitwirkung von Carsten Calaminus nach § 9 Abs. 1 des Tierschutzgesetzes vom Regierungspräsidium Stuttgart genehmigt (Az. 35-9185.81/135).

Nachfolgend sind die zur Veröffentlichung eingereichten Manuskripte eingebunden. Die darin zitierte Literatur und verwendeten Abkürzungen sind im entsprechenden Anhang der jeweiligen Arbeit aufgeführt.

- 5.1 Intact discrimination reversal learning but slowed responding to reward-predictive cues after dopamine D1 and D2 receptor blockade in the nucleus accumbens of rats

**Seite 52-67**

- 5.2 Guidance of instrumental behaviour under reversal conditions requires dopamine D1 and D2 receptor activation in the orbitofrontal cortex

**Seite 68-77**

- 5.3 Modulation of behavior by expected reward magnitude depends on dopamine in the dorsomedial striatum

**Seite 78-91**

# Intact discrimination reversal learning but slowed responding to reward-predictive cues after dopamine D1 and D2 receptor blockade in the nucleus accumbens of rats

Carsten Calaminus · Wolfgang Hauber

Received: 16 February 2006 / Accepted: 24 July 2006  
© Springer-Verlag 2006

## Abstract

**Rationale** The prediction error hypothesis of dopamine action states that dopamine signals are necessary for the brain to update the predictive significance of cues. Yet, little is known whether D1 or D2 receptor-mediated signals in the nucleus accumbens core (AcbC) are required to learn a reversal of the predictive significance of cues.

**Objective** Here we examined the effects of a selective D1 or D2 receptor blockade in the AcbC on learning a reversal of previously acquired cue–reward magnitude contingencies.

**Materials and methods** Rats were trained on a reaction time (RT) task demanding conditioned lever release with discriminative visual cues signalling in advance the upcoming reward magnitude (one or five food pellets). After acquisition, RTs were guided by cue-associated reward magnitudes, i.e. RTs of responses were significantly shorter for expected high vs low reward. Thereafter, cue–reward magnitude contingencies were reversed. Reversal learning was tested for 12 daily sessions with intra-AcbC micro-infusions being given on sessions 1–6. Subjects received pre-trial infusions of the selective D1 or D2 receptor antagonists, SCH23390 (0.5, 2 µg per side) or raclopride (1, 4 µg per side), or vehicle (0.5 µl).

**Results** Intra-AcbC infusion of SCH23390 (0.5, 2 µg) or raclopride (1, 4 µg) did not inhibit discrimination reversal

learning, but the higher dose of each drug increased RTs of instrumental responses.

**Conclusions** In a visual discrimination task as used here, D1 and D2 receptor-mediated signals in the AcbC seem to be unnecessary in updating the reward-predictive significance of cues, rather, they serve to activate instrumental behaviour.

**Keywords** Instrumental conditioning · Reversal learning · Dopamine · Prediction error · Raclopride · SCH23390 · Rat

## Introduction

A growing body of evidence from studies in humans (Knutson and Cooper 2005) and experimental animals (Kelley et al. 2005) implicates the nucleus accumbens (Acb) in using information acquired by associative learning. Neurophysiological recordings in sub-human primates and rodents revealed that Acb neurons respond to learned cues that predict biologically significant outcomes and the outcomes themselves (Carelli et al. 2000; Schultz et al. 2003; Setlow et al. 2003; Woodward et al. 1999; Yun et al. 2004a). Likewise, behavioural studies suggest that the Acb plays a major role in the use of cues that predict the occurrence of biologically significant events to guide or modulate behaviour (Cardinal et al. 2002; Giertler et al. 2003; Hauber et al. 2000; Schoenbaum and Setlow 2003; Yun et al. 2004a).

Responding to reward-predictive cues critically depends on dopamine (DA) signalling in the Acb. For instance, studies using fast-scan cyclic voltammetry demonstrated that cues that signal the opportunity to respond for sucrose evoked a transient DA release in the Acb (Roitman et al. 2004). DA acts on at least five receptors classified as “D1-like” (D1/D5) or “D2-like” (D2, D3, D4) based on their

C. Calaminus  
Abteilung Tierphysiologie, Biologisches Institut,  
Universitaet Stuttgart,  
70550 Stuttgart, Germany

W. Hauber (✉)  
Biologisches Institut Abteilung Tierphysiologie,  
Universitaet Stuttgart,  
Pfaffenwaldring 57,  
70550 Stuttgart, Germany  
e-mail: hauber@bio.uni-stuttgart.de

pharmacological profiles (e.g. Sokoloff et al. 1992). To date, most studies were directed to the role of D1 and D2 receptors in responding to reward-predictive cues. For instance, Nicola and colleagues showed that an intra-Acb blockade of D1 or D2 receptors abolished the influence of reward-predictive cues on Acb neuronal activity and reduced behavioural responding to cues (Yun et al. 2004a, b). However, these reports examined how DA signalling in the Acb govern animals' performance and its guidance by learned reward-predictive cues, rather than the role of Acb DA signalling to acquire cue–outcome contingencies or to adapt behaviour according to changes in cue–outcome contingencies. One of the few available studies revealed that in discrimination tasks where subjects must learn to respond to a change of the original place–reward pairings, destruction of DA terminals in the Acb disrupted reversal learning (Louilot et al. 1989). Learning of appetitive predictions under reversal conditions probably requires a prediction error signal that indicates the discrepancy between actually received reward and its prediction as suggested by models of temporal difference learning (Schultz 2006; Sutton and Barto 1990). Recent studies suggest that DA neurons emit prediction error signals (Schultz 2006) and indicate the presence of such signals in target areas of DA neurons such as the Acb or the prefrontal cortex (McClure et al. 2003; O'Doherty 2003). These findings imply that Acb DA signals are necessary to update the predictive significance of cues during reversal learning.

The aim of the current study was to test this hypothesis and to explore whether D1 and D2 receptor-mediated signals in the core sub-region of Acb (Zahm 2000) are essential for reversal learning. To this end, rats were trained in a reaction time (RT) task demanding conditioned lever release with predictive cues signaling in advance the upcoming reward magnitude (one or five pellets) (Giertler et al. 2005). After acquisition of the task, RTs of responses with expectancy of a high vs low reward magnitude were significantly shorter indicating that instrumental responding was guided by reward-predictive cues. Thereafter, we reversed the cue–reward contingencies and rats received intra-AcbC infusions of saline or of selective D1 or D2 receptor antagonists. If D1 or D2 receptors in the AcbC transmit a prediction error signal that shapes reversal learning, we expected a learning impairment after DA receptor blockade.

Using several measures, this task allows a detailed analysis of drug effects on instrumental behavior guided by reward-predictive stimuli. Response latencies were measured by RT, a parameter that is sensitive to drug-induced motor effects on responses initiation. In addition, during learning RTs become shorter for expected high vs low reward. Therefore, the RT differences of responses for

expected low and high rewards are a sensitive index of discriminative learning of cue-associated reward values. The speed of response execution was measured by movement time (MT), a parameter that allows us to detect drug-induced motor effects. Response accuracy measured by the number of responses necessary to reach a fixed criterion of correct responses was used as an index of learning the instrumental contingency. Incorrect, i.e. premature or delayed responses, permitted to further assess drug effects on response preparation.

## Materials and methods

### Animals

Ninety-six Lister Hooded rats (Harlan Winkelmann, Borchon, Germany) were housed in transparent plastic cages (55×39×27 cm, Ferplast, Nürnberg, Germany). Temperature (20±2°C) and humidity (50–60%) in the animal house were kept constant and a 12:12-h light–dark schedule was used with lights on between 19:00 h and 7:00 h. Rats were given ad libitum access to water; food was restricted to 15 g per animal and day. On days without behavioral testing, rats received 15 g standard laboratory maintenance chow (Altromin, Lage, Germany). On days with behavioral tests, rats received in the testing apparatus 5.4 g food pellets as reward (45 mg pellets, Bioserv, Frenchtown, USA). On these days, the amount of standard laboratory chow given was reduced to 9.6 g per animal. Rats weighed 200–210 g on arrival and 250–270 g at the time of surgery. All animal experiments were conducted according to the German Law on Animal Protection and approved by the proper authorities in Stuttgart, Germany.

### Surgery

For stereotaxic surgery, animals were anaesthetized with ketamine (120 mg/kg i.m.) (Bela-Pharm GmbH, Vechta, Germany) and xylazine (4 mg/kg i.m.) (Bayer AG, Leverkusen, Germany) and secured in a Kopf stereotaxic apparatus (Kopf Instruments, Tujunga, USA). Bilateral 15 mm stainless steel guide cannulae with an outer diameter of 0.8 mm were aimed at the AcbC and implanted using standard stereotaxic procedures. The coordinates were: 3.4 mm anterior bregma, ±1.9 mm lateral to midline, and 5.3 mm ventral from the skull with the toothbar 5 mm above the interaural line. The guide cannulae were occluded by stainless steel stylets. Each rat was given at least 5 days to recover from surgery before behavioral testing was started.

### Drug injection

Animals received bilateral intra-AcbC injections of the D1 receptor antagonist R(+)-7-chloro-8-hydroxy-3-methyl-1-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1H-3-benzazepinhydro-chloride (SCH23390, Research Biochemicals, Natick, USA) (2 or 0.5  $\mu\text{g}$  in 0.5  $\mu\text{l}$  0.9% sterile saline), the D2 receptor antagonist raclopride (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Germany) (4 or 1  $\mu\text{g}$  in 0.5  $\mu\text{l}$  0.9% sterile saline) or vehicle (0.5  $\mu\text{l}$  0.9% sterile saline). The doses of SCH23390 and raclopride were based on pilot studies and data reported in the literature. The higher doses of both drugs used here were highly effective after intra-Acb micro-infusion, but largely devoid of gross motor effects (e.g. Hernandez et al. 2005; Nicola et al. 2005; Wakabayashi et al. 2004; Yun et al. 2004a).

On injection days, the stainless steel stylets were removed and the injection cannulae (outer diameter: 0.45 mm, length: 18 mm) were lowered to the final site of infusion and attached via polyvinylchloride tubing to microliter syringes controlled by a syringe pump (Med Associates, St. Albans, VT, USA). Drugs were delivered over a 1-min interval and the injection cannulae were left in position for a further minute to allow for diffusion. After injection, each rat remained in its home cage for an additional 10 min before being placed in the test chamber.

### Apparatus

Four experimental chambers (24 $\times$ 21 $\times$ 30 cm) (Med Associates, St. Albans, VT, USA) were used. Each chamber was supplied with a retractable lever, two cue lights (one above the retractable lever, the other above the food receptacle) and encased in a sound attenuating cubicle with a fan providing a constant low level of background noise. Each food receptacle was equipped with an infrared head entry detector. The experiments were controlled online by a Windows 98™ based computer system equipped with SmartControl®-Interfaces and the MedPC™-Software (Med Associates, St. Albans, VT, USA).

### RT task

A simple RT task as used in previous studies (Giertler et al. 2005) was employed. The task demands conditioned lever release with instructive cues indicating the reward magnitude to be obtained after a subsequent imperative cue. Rats had to press the lever and to wait for the imperative cue, which was provided by the cue light above the lever after a foreperiod of 0.3 s. The imperative cue signalled 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,

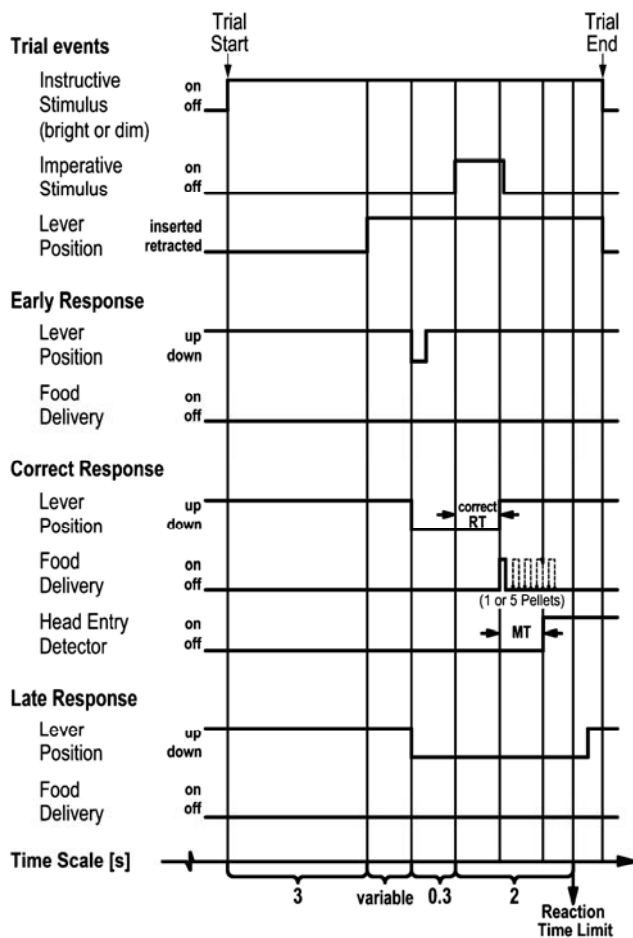
the rats received either one or five food pellets. The number of pellets for each trial was pseudo-randomly determined in advance and signalled to the rats by two distinct brightness levels of the cue lights (220 lx or 30 lx, 1 cm distance, measured by a light sensor FL A613-VL; Ahlborn, Holzkirchen, Germany with a data acquisition system Almeno 2290-8; Ahlborn, Holzkirchen, Germany), which provide the instructive cues. After the inter-trial interval of 3 s, the instructive cue was turned on at the beginning of each trial 3 s before lever insertion and remained present until delivery of the food reward. Brightness levels of instructive cues were balanced, i.e. for 50% of the rats a bright cue was associated with the delivery of five pellets and a dim cue was associated with the delivery of one pellet. For the other 50% of the rats, the opposite pattern was used.

Reaction time (RT) is defined as the latency from the onset of the imperative cue to lever release and movement time (MT) is defined as the latency from lever release to photobeam disruption in the food receptacle were recorded with an accuracy of <10 ms. For a correct trial, animals had to release the lever within RT<2 s after presentation of the imperative cue. Responses before the onset of the imperative cue presentation were defined as “early” responses, responses with RT $\geq$ 2 s were defined as “late” responses. A daily individual session demanded 40 correct trials, i.e. 20 correct trials for each reward magnitude (one and five pellets). A simplified scheme on the order of trial events is given in Fig. 1.

### Experimental procedure

Experiment 1 examined the effects of an intra-AcbC D1 receptor antagonism, experiment 2 the effects of an intra-AcbC D2 receptor antagonism on discrimination reversal learning. The design of both experiments was identical. Different groups of rats were trained in the RT task described above; acquisition was tested throughout 6 days with one daily session. Thereafter, cue–reward magnitude contingencies were reversed and reversal learning was analyzed throughout 12 days within one daily session; during the first 6 days animals received micro-injections of either vehicle, SCH23390 or raclopride.

1. *Pre-operative habituation.* In the first two sessions, the subjects were habituated to the experimental chamber with access to food pellets placed into the food receptacle. In the following five sessions, a habituation program with a fixed ratio-1 schedule commenced until a criterion of 20 consecutive lever responses was attained. Afterwards, rats were subjected to surgery.
2. *Acquisition.* After post-operative recovery the experiment was started with one daily session; data from the



**Fig. 1** Schematic representation of the order of trial events. First, an instructive stimulus was turned on at one of two brightness levels indicating the upcoming reward magnitudes (one or five pellets). Thereafter, the rat pressed the inserted lever spontaneously. After the foreperiod of 0.3 s, the imperative stimulus signalled the animal to release the lever. Responses with  $RT < 2$  s were considered as being correct and were rewarded. Early responses initiated before the onset of the imperative stimulus or late responses ( $RT \geq 2$  s) caused the trial to be repeated

initial session were not evaluated. During days 1–6 task acquisition was examined. In each session, animals received a sham injection procedure including handling procedure, insertion of injection cannulae dummies and operation of the injection pump (without running an injection) before the onset of individual behavioural testing.

3. *Reversal.* Subsequently, learning of reversed cue–reward magnitude contingencies was tested on days 7–18, i.e. rats had to learn that the cue formerly predicting high reward magnitude was associated with low reward magnitude and vice versa. On days 7–12, i.e. the first six out of 12 sessions under reversal conditions, rats received a drug or vehicle micro-injection (4  $\mu$ g raclopride,  $n=16$ , vehicle  $n=15$ ; 1  $\mu$ g

raclopride,  $n=8$ , vehicle,  $n=7$ ; 2  $\mu$ g SCH23390,  $n=16$ ; vehicle,  $n=16$ ; 0.5  $\mu$ g SCH23390,  $n=8$ , vehicle,  $n=8$ ) before the onset of behavioral testing. No drugs were given on days 13–18; to exclude an impact of the handling procedure used for micro-injections, all animals were exposed to the handling procedure in these latter sessions. Two animals of experiment 2 were excluded due to guide cannula occlusion.

#### Data analysis

In line with earlier studies (e.g. Bohn et al. 2003), the subjects perceived brightness levels of instructive cues equally, i.e. for a given reward magnitude level, the mean accuracy and RT/MT values obtained with a bright or a dim cue did not differ significantly (data not shown). Therefore, response measures for a given reward magnitude obtained with bright and dim instructive stimuli were collapsed.

Data are expressed as means from blocks of three sessions. Furthermore, the standard error of the differences (SED) was used for the presentation of descriptive statistics to provide an estimate of the population variance for between-group comparisons. The SED derived from the appropriate ANOVA term was calculated by using the formula provided in Cochran and Cox (1957).

The overall number of trials (early+correct+late responses) to reach the criterion of 40 correct responses (20 per reward magnitude) was used as an index of the accuracy of performance. The calculations on RT and MT performance were conducted with data from correct trials ( $RT < 2$  s). When averaging RT and MT data, a geometric mean was calculated for each rat and session, as the geometric mean is less influenced by outlying data points than the arithmetic mean. Overall, RT and MT means of responses associated with the high and low reward magnitudes represent the arithmetic average of the geometric means of individual rats (Brasted et al. 1997). In addition, we calculated RT differences of responses for expected low and high rewards ( $RT_{\text{low reward}} - RT_{\text{high reward}}$ ) as an index of discriminative learning of cue-associated reward values.

Data from experiments 1 and 2 were subjected to separate repeated measures analysis of variance (ANOVA). Numbers of correct and early responses, RTs and MTs of correct responses during acquisition (blocks 1–2) were compared using an ANOVA with group (groups to be treated with vehicle, raclopride or SCH23390 during reversal) as between-subjects factors, and reward magnitude and blocks as within-subjects (repeated measures) factors. Likewise, numbers of correct and early responses, RTs and MTs of correct responses during reversal were compared using separate ANOVA for treatment blocks

(3–4) and post-treatment blocks (5–6) with group (groups treated with vehicle, raclopride or SCH23390) as between-subjects factors, and reward magnitude and blocks as within-subjects factors. All statistical computations were carried out with STATISTICA™ (version 7.1, StatSoft®, Inc., Tulsa, OK, USA). The level of statistical significance ( $\alpha$ -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, 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 (30  $\mu$ m) were cut with a cryostat (Reichert & Jung, Heidelberg, Germany), mounted on coated slides and stained with cresyl violet. The locations of the micro-infusion cannulae tips are presented in Fig. 2. No animal had to be excluded due to cannulae misplacement. The possibility that some of the effects observed in our study may be due to drug diffusion into the adjacent shell sub-region cannot be discounted. However, the exact amount of spread of drugs from the site of infusion in the AcbC is not known as studies with radiolabeled SCH23390 and raclopride would be required. Previous studies comparing core vs shell micro-infusions of SCH23390 and raclopride revealed relatively small differences in the effects on lever pressing (Nowend et al. 2001). Thus, from these data it is difficult to delineate whether one or both Acb sub-regions contribute to the observed behavioural effects and to assess the role of drug diffusion. However, other studies showed differential behavioural effects after core and shell micro-injections of glutamate receptor antagonists in the same volume as used here (Di Ciano and Everitt 2001) suggesting that the spread of drugs appears to be rather limited.

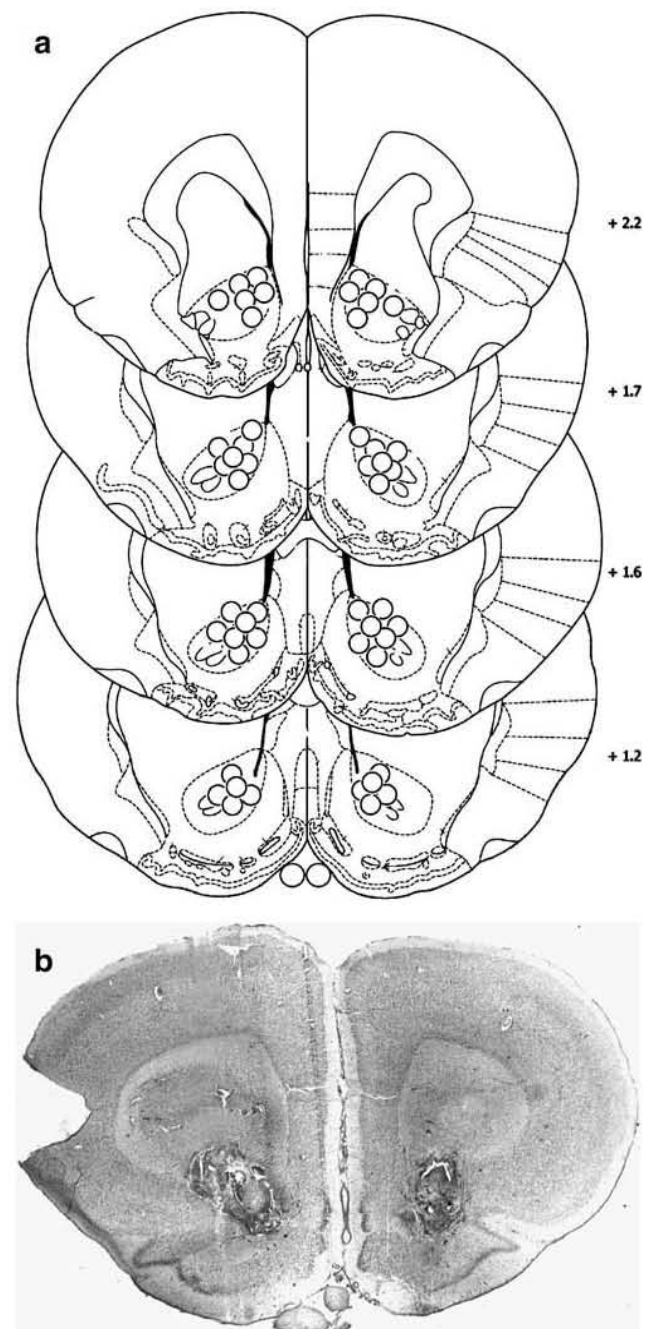
## Results

In all experiments, the animals were divided into two treatment groups to be treated with vehicle or drugs according to their performance during acquisition. The groups were chosen so that no significant difference of RT was detectable during acquisition ( $F < 1$ ).

Experiment 1: effects of an intra-AcbC D1 receptor blockade

### Reaction times

**SCH23390 (0.5  $\mu$ g)** During acquisition, RTs significantly decreased over blocks (main effect of blocks;  $F_{(1,14)} =$

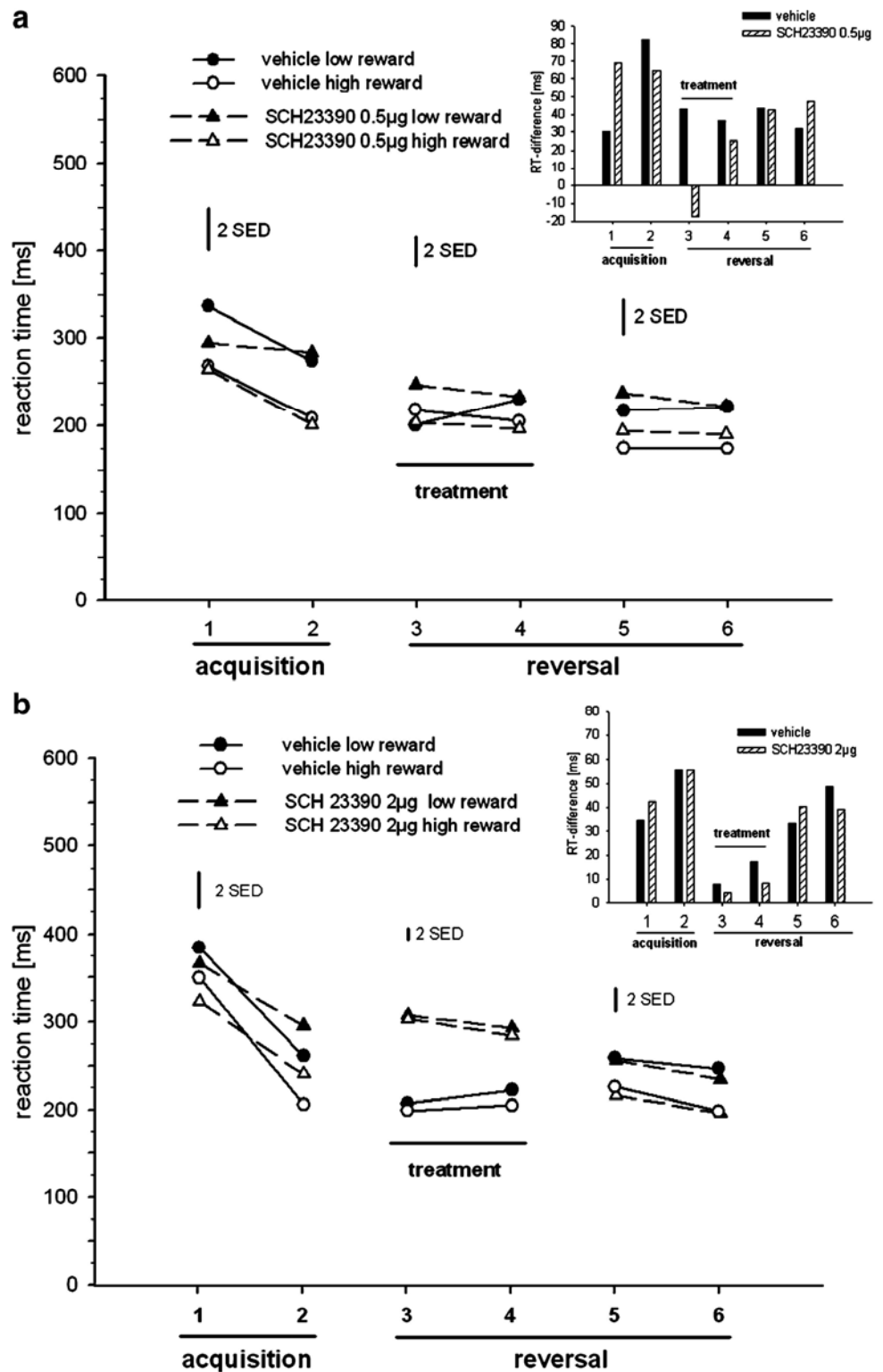


**Fig. 2** (a) The schematics depicts the location of the micro-injection cannulae tips (outer diameter 0.45 mm; • symbols are drawn to scale) in the AcbC. The number of symbols does not match the total number of rats included in the behavioural analyses because numerous cannulae tip placements were overlapping and one symbol thus represents more than one cannula tip placement. Plates are adaptations from the atlas of Paxinos and Watson (1997). Numbers beside each plate correspond to millimeters anterior to bregma. (b) Nissl stain of a coronal section indicating the cannulae tip placement

12.44,  $p < 0.01$ ) and were guided by the expected reward magnitude (main effect of reward magnitude;  $F_{(1,14)} = 41.87$ ,  $p < 0.0001$ ) in animals to be treated with vehicle or SCH23390 (Fig. 3a). During reversal learning, RTs were



**Fig. 3** Effects of intra-AcbC infusion of SCH23390 on RT. Mean RTs of correct responses in blocks of three sessions are given; SED bars represent two SEDs of the means. Insets: RT differences ( $RT_{low\ reward} - RT_{high\ reward}$ ); i.e. positive values denote faster responding for expected high reward. **(a)** 0.5  $\mu$ g SCH23390 ( $n=8$ ) or vehicle ( $n=8$ ) was given on blocks 3–4. RTs were significantly guided by expected reward on blocks 1–2, 3–4 and 5–6. Infusion of SCH2330 did not increase RTs on blocks 3–4. **(b)** 2  $\mu$ g SCH23390 ( $n=16$ ) or vehicle ( $n=16$ ) was given on blocks 3–4. RTs were significantly guided by expected reward on blocks 1–2 and 5–6. In addition, infusion of SCH2330 produced a significant increase in RTs on blocks 3–4



guided by the expected reward magnitude on treatment blocks (main effect of reward magnitude;  $F_{(1,14)}=8.21$ ,  $p<0.01$ ; block $\times$ treatment $\times$ reward magnitude interaction

( $F_{(1,14)}=5.35$ ,  $p=0.04$ ), but there was no main effect of treatment. On post-treatment blocks, RTs depended on the expected reward magnitude ( $F_{(1,14)}=10.87$ ,  $p<0.01$ ).

Accordingly, during reversal learning starting on block 4, RT differences in both groups became positive, i.e. were faster for expected high reward (Fig. 3a, inset).

*SCH23390* (2  $\mu$ g) RTs significantly decreased over blocks 1–2 (main effect of blocks;  $F_{(1,30)}=43.84$ ,  $p<0.0001$ ) and were guided by the expected reward magnitude (main effect of reward magnitude;  $F_{(1,30)}=55.28$ ,  $p<0.0001$ ) in animals to be treated with vehicle or *SCH23390* (Fig. 3b). RTs were no longer guided by the expected reward magnitude on blocks 3–4 in both treatment groups and increased in rats which received micro-injections of *SCH23390*. ANOVA revealed a significant main effect of treatment ( $F_{(1,30)}=16.69$ ,  $p<0.0001$ ) and a significant block $\times$ treatment interaction ( $F_{(1,30)}=10.27$ ,  $p<0.004$ ), but no reward magnitude $\times$ treatment interaction. On blocks 5–6, RTs were guided by the expected reward magnitude in both groups. ANOVA revealed significant main effects of reward magnitude ( $F_{(1,30)}=36.18$ ,  $p<0.0001$ ) and blocks ( $F_{(1,30)}=6.69$ ,  $p<0.02$ ). During reversal learning, RT differences in both groups became increasingly positive (Fig. 3b, inset).

#### Movement times

*SCH23390* (0.5  $\mu$ g) MTs decreased during acquisition (main effect of blocks;  $F_{(1,14)}=9.39$ ,  $p<0.01$ ) in both groups as shown in Fig. 4a. On blocks 3–4, there was no main effect of treatment.

*SCH23390* (2  $\mu$ g) MTs decreased during acquisition (main effect of blocks;  $F_{(1,30)}=52.21$ ,  $p<0.0001$ ) in animals to be treated with vehicle or *SCH23390* (Fig. 4b). There were no significant main effects of treatment on blocks 3–4.

#### Accuracy of performance

*SCH23390* (0.5  $\mu$ g) In line with previous studies with similar tasks (Giertler et al. 2005), rats needed approx. 50–60 trials to achieve the criterion of 40 correct responses (20 responses with RT<2 s for each reward magnitude). ANOVA on the number of trials to reach criterion on blocks 1–2 indicated no main effects of group. Also, there was no main effect of treatment on blocks 3–4. Likewise, ANOVA on the number of early responses indicated no significant group/treatment effects on blocks 1–2 and 3–4 (Fig. 5a).

*SCH23390* (2  $\mu$ g) ANOVA on the number of trials to reach criterion indicated no main effects of group on blocks 1–2 and treatment on blocks 3–4 (Fig. 5b). ANOVA on the number of early responses indicated a

trend for a significant treatment effect on blocks 3–4 ( $F_{(1,30)}=3.45$ ,  $p=0.07$ ), while on blocks 1–2 no significant group effect was detected.

#### Experiment 2: effects of intra-AcbC D2 receptor blockade

##### Reaction times

*Raclopride* (1  $\mu$ g) RTs significantly decreased over blocks 1–2 (main effect of blocks;  $F_{(1,14)}=19.42$ ,  $p<0.001$ ) and were guided by the expected reward magnitude (main effect of reward magnitude;  $F_{(1,14)}=51.96$ ,  $p<0.0001$ ) in animals to be treated with vehicle or *raclopride*. On blocks 3–4, RTs were not guided by the expected reward magnitude in both treatment groups. In addition, ANOVA revealed no significant main effect of treatment. On post-treatment blocks 5–6, RTs were guided by the expected reward magnitude in both groups. ANOVA revealed significant main effects of reward magnitude ( $F_{(1,14)}=18.03$ ,  $p<0.001$ ) and blocks ( $F_{(1,14)}=11.79$ ,  $p<0.01$ ). RT differences in both groups are shown in Fig. 6a (inset).

*Raclopride* (4  $\mu$ g) As shown in Fig. 6b, RTs significantly decreased over blocks 1–2 (main effect of blocks;  $F_{(1,29)}=7.17$ ,  $p<0.02$ ) and were guided by the expected reward magnitude (main effect of reward magnitude;  $F_{(1,29)}=62.65$ ,  $p<0.0001$ ) in animals to be treated with vehicle or *raclopride*. On blocks 3–4, RTs were guided by the expected reward magnitude in both treatment groups (main effects of reward magnitude;  $F_{(1,29)}=14.21$ ,  $p<0.0001$ , no reward magnitude $\times$ treatment interaction), but increased in rats which received micro-injections of *raclopride* (main effect of treatment;  $F_{(1,29)}=11.32$ ,  $p<0.003$ ). On blocks 5–6, RTs were also guided by the expected reward magnitude in both groups. ANOVA revealed significant main effects of reward magnitude ( $F_{(1,29)}=24.28$ ,  $p<0.0001$ ) and blocks ( $F_{(1,29)}=14.30$ ,  $p<0.0001$ ). Furthermore, results show that RT differences in both groups became increasingly positive during reversal learning (Fig. 6b, inset).

##### Movement times

*Raclopride* (1  $\mu$ g) MTs significantly decreased during acquisition (main effect of blocks;  $F_{(1,14)}=7.15$ ,  $p<0.02$ ) in animals to be treated with vehicle or *raclopride* as shown in Fig. 7a. On treatment blocks 3–4, there was no significant main effect of treatment.

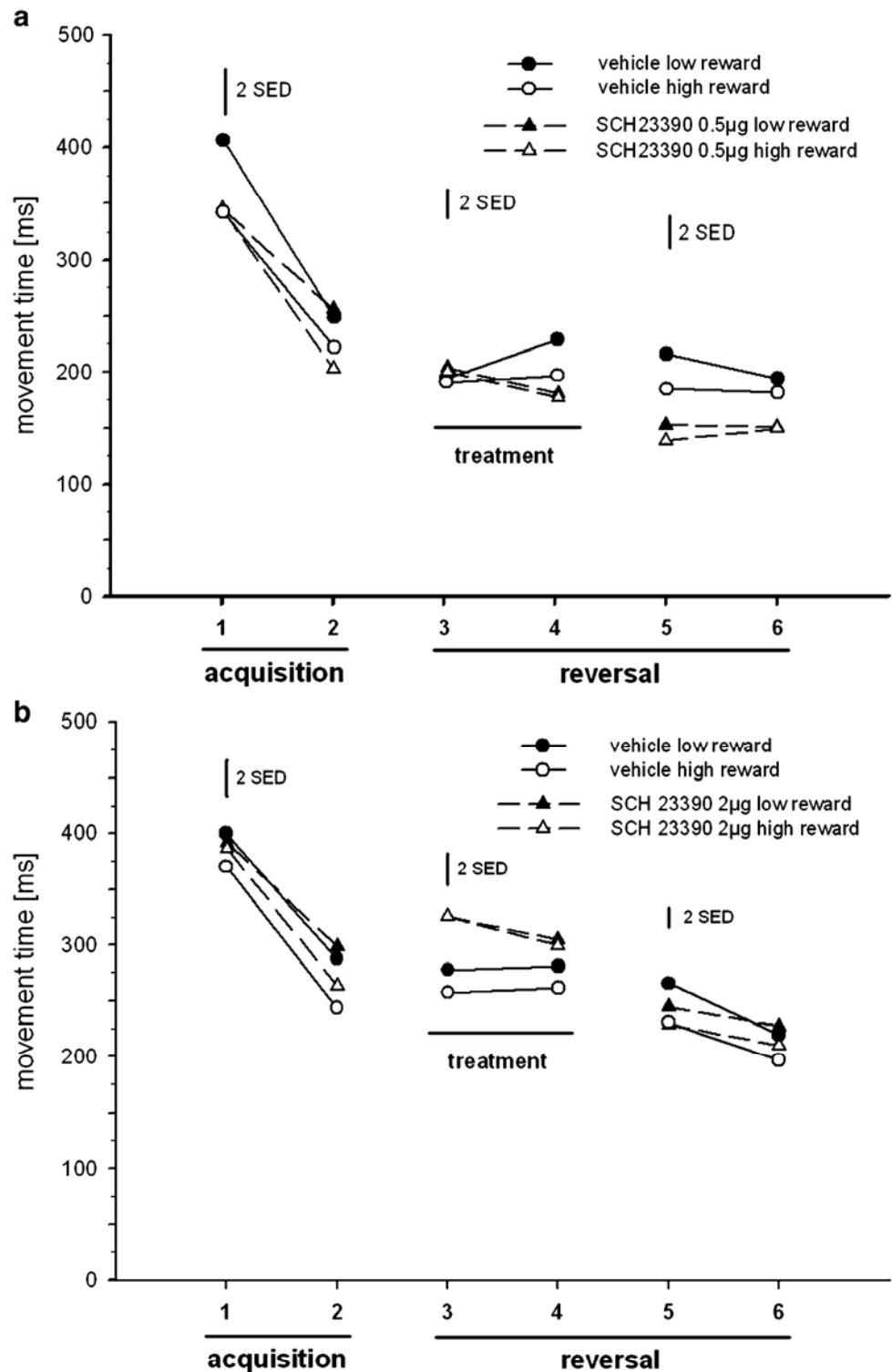
*Raclopride* (4  $\mu$ g) MTs significantly decreased on blocks 1–2 (main effect of blocks;  $F_{(1,29)}=20.25$ ,  $p<0.0001$ ) in

animals to be treated with vehicle or raclopride as shown in Fig. 7b. On treatment blocks 3–4, there was no significant main effect of treatment.

Accuracy of performance

*Raclopride (1 μg)* ANOVA on the number of trials to reach criterion revealed a significant effect of blocks (main effect of blocks;  $F_{(1,14)}=5.77$ ,  $p=0.03$ ), but indicated no main effects of group on blocks 1–2. Likewise, there were no

**Fig. 4** Effects of intra-AcbC infusion of SCH23390 on MTs. Mean MTs of correct responses in blocks of three sessions are given; SED bars represent two SEDs of the means. **(a)** 0.5 μg SCH23390 ( $n=8$ ) or vehicle ( $n=8$ ) and **(b)** 2 μg SCH23390 ( $n=16$ ) or vehicle ( $n=16$ ) was given on blocks 3–4. Infusion of SCH23390 did not significantly affect MTs on blocks 3–4



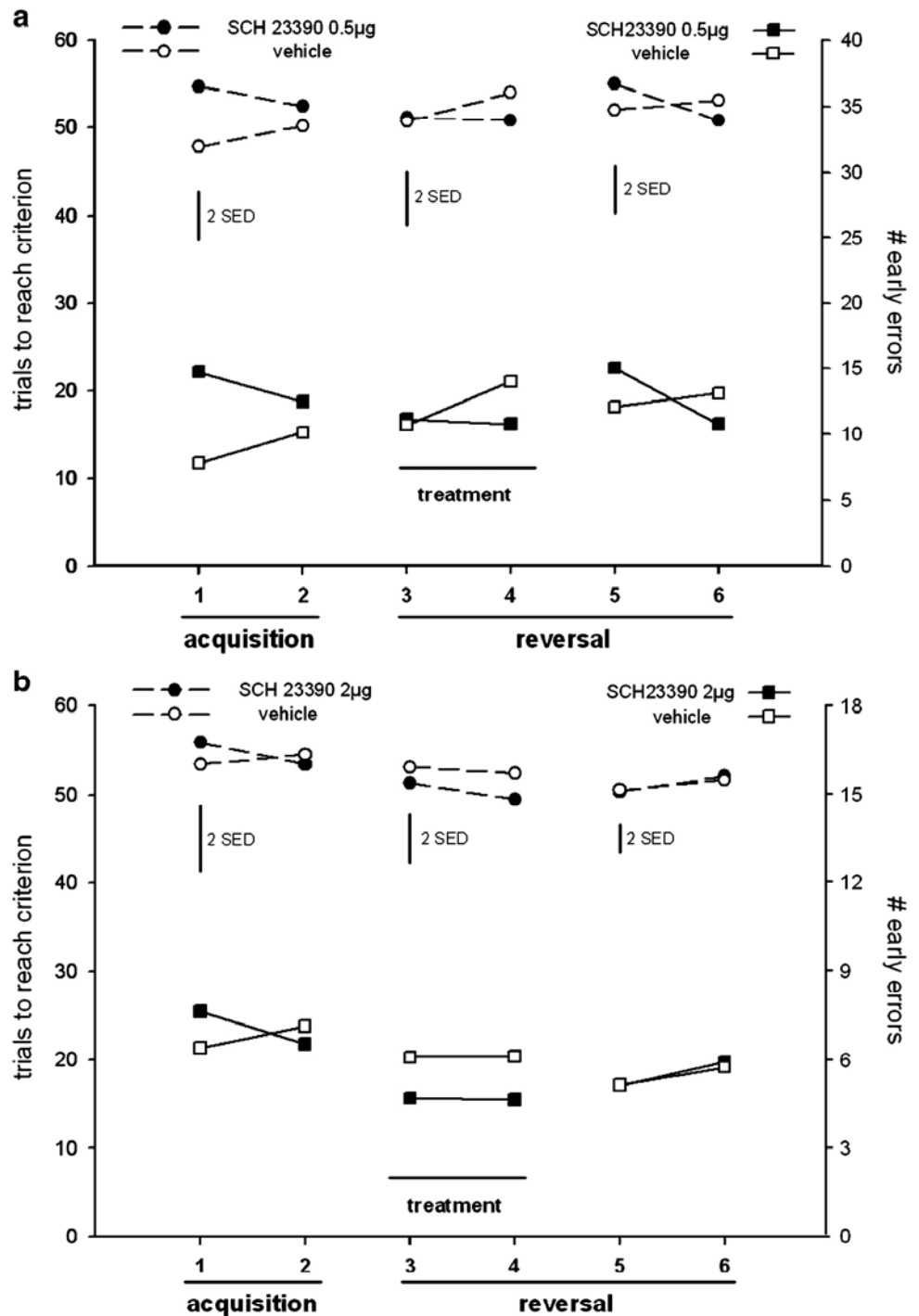
Psychopharmacology

main effects of treatment on blocks 3–4 (Fig. 8a). Furthermore, ANOVA on the number of early responses revealed a significant effect of group ( $F_{(1,14)}=5.77, p=0.03$ ) on blocks 1–2, while on blocks 3–4 no significant treatment effects were detected.

*Raclopride* (4  $\mu\text{g}$ ) ANOVA on the number of trials to reach criterion on blocks 1–2 indicated no main effects of group. On blocks 3–4, there was a significant main effect of

treatment. In addition, ANOVA on the number of early responses indicated a significant treatment effect ( $F_{(1,29)}=7.67, p<0.01$ ) on reversal blocks 3–4, while on blocks 1–2 and 5–6 no significant group effects were detected (Fig. 8b).

**Fig. 5** Effects of intra-AcbC infusion of SCH23390 on the accuracy of responding. Mean trials to reach criterion (40 correct trials; 20 for low and high reward, respectively)(left ordinate) and mean number of early responses (right ordinate) in blocks of three sessions are given; SED bars represents two SEDs of the means (no SEDs were given for early errors). **(a)** 0.5  $\mu\text{g}$  SCH23390 ( $n=8$ ) or vehicle ( $n=8$ ) was given on blocks 3–4; infusion of SCH23390 had no significant effects on either variable. **(b)** 2  $\mu\text{g}$  SCH23390 ( $n=16$ ) or vehicle ( $n=16$ ) were given on blocks 3–4; infusion of SCH23390 had no significant effects on either variable. Early responses tended to be lower in SCH23390 treated animals on blocks 3–4

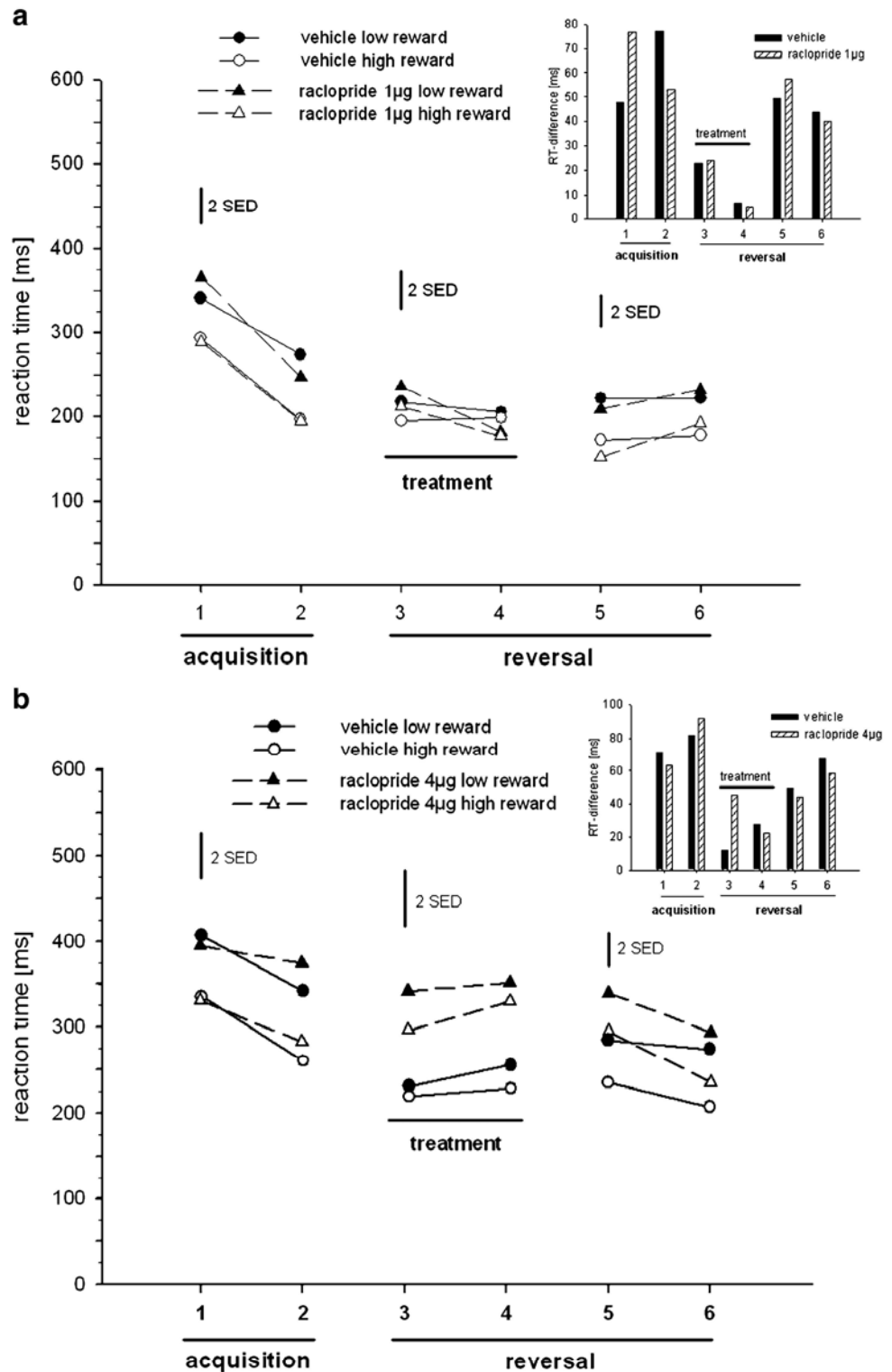


**Discussion**

This study demonstrates that a blockade of D1 or D2 receptors in the AcbC did not inhibit learning a reversal of previously acquired cue–reward magnitude contingencies, but can increase RTs of instrumental responses. In a visual

discrimination task as used here, intra-AcbC D1 and D2 receptor-mediated signals seem, therefore, unnecessary to update the reward-predictive significance of cues, rather, they serve to activate instrumental behaviour.

**Fig. 6** Effects of intra-AcbC infusion of raclopride. Mean RTs of correct responses in blocks of three sessions are given; SED bars represent two SEDs of the means. Insets: RT differences ( $RT_{low\ reward} - RT_{high\ reward}$ ); i.e. positive values denote faster responding for expected high reward. **(a)** 1  $\mu$ g raclopride ( $n=8$ ) or vehicle ( $n=7$ ) were given on blocks 3–4. RTs were significantly guided by expected reward on blocks 1–2 and 5–6. Infusion of raclopride did not significantly increase RTs on blocks 3–4. **(b)** 4  $\mu$ g raclopride ( $n=16$ ) or vehicle ( $n=15$ ) was given on blocks 3–4. RTs were significantly guided by expected reward on blocks 1–2, 3–4 and 5–6. In addition, infusion of raclopride produced a significant increase in RTs on blocks 3–4



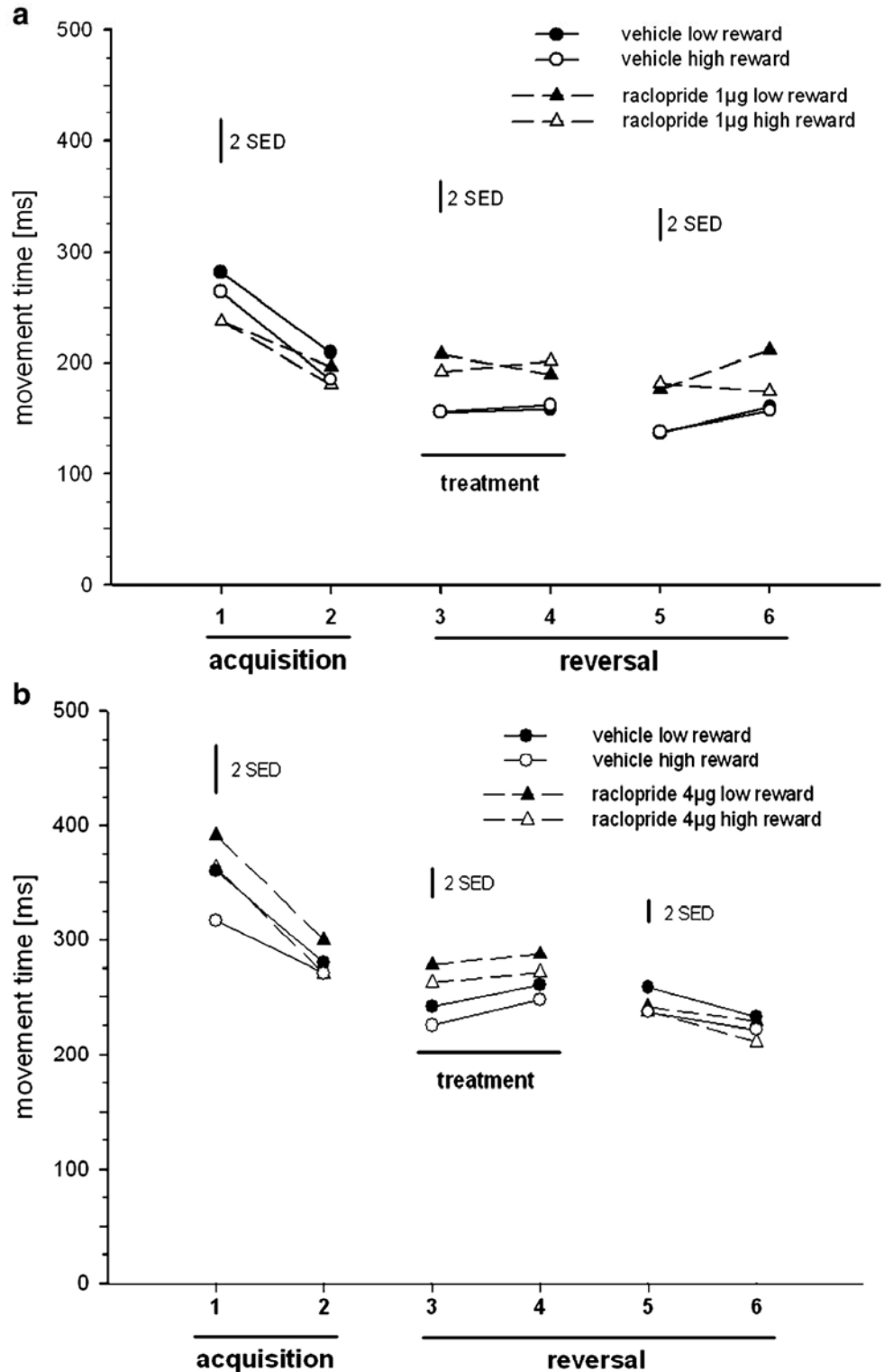
Psychopharmacology

Acquisition of the RT task

In numerous tasks in rats (Brown and Bowman 1995; Hauber et al. 2000), sub-human primates (Hollerman et al. 1998; Kawagoe et al. 1998) and humans (Galvan et al. 2005; O'Doherty et al. 2006), RTs of instrumental

responses were related to the expected reward magnitude. In addition, in a number of other settings (Holland and Straub 1979; Sage and Knowlton 2000; Watanabe et al. 2001), response latencies depend on the attractiveness of the outcomes signalled in advance by cues. Likewise, RTs measured here were probably guided by signalled reward

**Fig. 7** Effects of intra-AcbC infusion of raclopride. MTs of correct responses in blocks of three sessions are given; SED bars represent two SEDs of the means. **(a)** 1 µg raclopride ( $n=8$ ) or vehicle ( $n=7$ ) and **(b)** 4 µg raclopride ( $n=16$ ) or vehicle ( $n=15$ ) was given on blocks 3–4. Raclopride did not significantly affect MTs on blocks 3–4



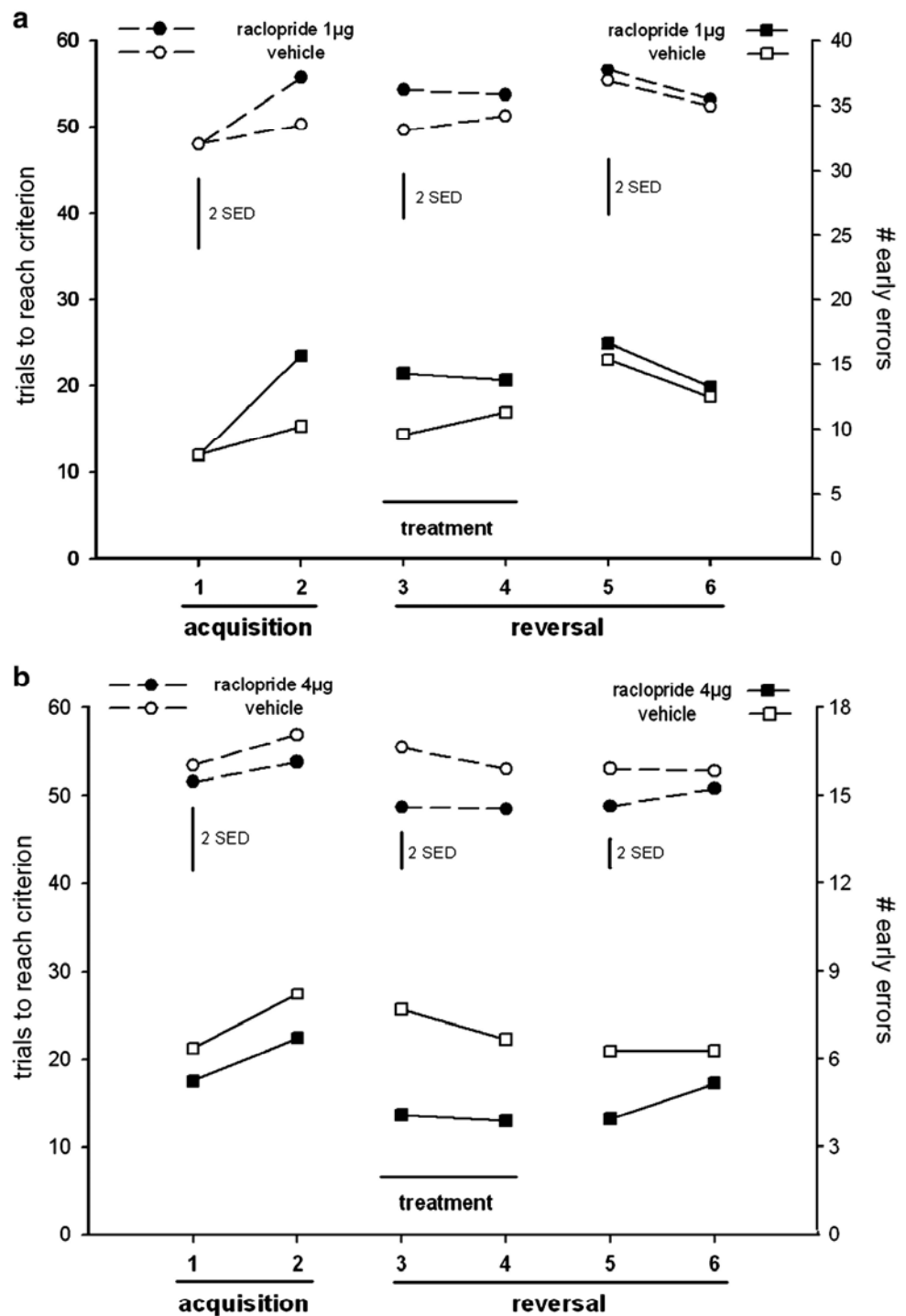
magnitudes and the point in time at which RTs significantly diverge for each reward magnitude might indicate learning of cue-associated reward values. During acquisition, RTs became generally shorter and guided by cue-associated reward magnitudes. In different treatment groups, RTs of responses to expected high vs low reward were about 50–100 ms shorter on the second acquisition block demonstrating rapid discrimination learning as already shown in

earlier studies using similar tasks (Brown and Bowman 1995; Gierler et al. 2005).

Likewise, MT became shorter during acquisition. MT is a less appropriate parameter for reward expectancy in rats (Gierler et al. 2003) and primates (Hollerman et al. 1998) and was used here as a sensitive parameter to control for gross drug-induced motor effects (Gierler et al. 2003).

The accuracy of responding measured here was similar to comparable tasks (Brown and Bowman 1995; Hauber

**Fig. 8** Effects of intra-AcbC infusion of raclopride on the accuracy of responding. Mean trials to reach criterion (40 correct trials, 20 for low and high reward, respectively)(left ordinate) and mean number of early responses (right ordinate) in blocks of three sessions during acquisition and reversal learning are given. SED bars represent two SEDs of the means (no SEDs were given for early errors). **(a)** 1  $\mu$ g raclopride ( $n=8$ ) or vehicle ( $n=7$ ) was given on blocks 3–4, raclopride had no significant effect on either variable. **(b)** 4  $\mu$ g raclopride ( $n=16$ ) or vehicle ( $n=15$ ) was given on blocks 3–4. Trials to reach criterion and early responses were significantly lower in raclopride treated animals on blocks 3–4



et al. 2000; Laubach et al. 2000) indicating correct learning of the instrumental contingency. Notably, the number of trials to reach criterion often increased during acquisition. This largely reflects the fact that with progressive learning, animals responded faster and made more erroneous early responses, in particular for expected high reward, (Gierler et al. 2005) suggesting that reward magnitude expectation interferes with response preparation.

#### D1 and D2 receptor blockade did not inhibit discrimination reversal learning

RT differences of responses for expected low and high rewards were used as an index of discriminative learning of current cue-associated reward values. Results indicate discriminative guidance of RTs during reversal learning in SCH23390-treated and vehicle-treated rats as RTs were guided according to the reversed cue–reward magnitude contingencies within a similar number of reversal blocks. This finding suggests that an intra-AcbC D1 receptor blockade did not inhibit reversal learning. Inspection of RT differences indicates that in all treatment groups RTs became shorter for expected high vs low reward on treatment blocks (blocks 3–4) and were significantly guided by reward magnitude on subsequent post-treatment blocks (blocks 5–6). Likewise, raclopride-treated and vehicle-treated animals adapted responding to reversed cue–reward magnitude contingencies within similar number of reversal blocks. In all treatment groups, RTs were shorter for expected high vs low reward on treatment blocks and significantly guided by the expected reward magnitude on post-treatment blocks implying that an AcbC D2 blockade did not affect reversal learning. Accordingly, RT differences became increasingly positive during reversal learning. Some groups, e.g. those treated with a high dose of raclopride and respective vehicle controls already displayed marked reversal learning during blocks 3–4. One variable that accounts for rapid reversal learning seems to be the high proportion of subjects with superior reversal learning capabilities in these groups. A detailed analysis of single sessions from reversal blocks revealed that a great majority of subjects used here can be classified post hoc in high and low performers. High performers displayed rapid reversal learning, i.e. they responded faster to the cue, which now predicts high reward in the first reversal session; low performers in later reversal sessions. Apparently, in groups exhibiting fast reversal learning the proportion of high performers was markedly higher than in other treatment groups, which could account in part for the differences in reversal learning speed (data not shown).

Taken together, our findings suggest that D1 and D2 receptor-mediated signals in the AcbC are not required for reversal learning in an instrumental task as used here.

#### D1 and D2 receptor blockade slowed responding

Intra-AcbC blockade of D1 and D2 receptors with high drug doses caused a general slowing of responding as indicated by significant increases of RTs and less prominent increases of MTs. These drug-induced changes cannot be easily explained in terms of gross performance deficits. First, SCH23390-induced and raclopride-induced slowing of response execution measured by MTs was moderate. Second, the accuracy of performance was intact in SCH23390-treated and raclopride-treated animals indicating that instrumental contingency was not disrupted by either treatment. Notably, relative to their respective vehicle controls, animals treated with high doses of SCH23390 and raclopride needed fewer trials to reach the criterion number of correct responses. This effect was due to the tendency of drug-treated animals to respond slower and, therefore, to produce fewer early responses.

Previous studies further demonstrated that interference with Acb DA transmission did not substantially reduce primary motivation for natural reward or induce impairments that are caused by gross motor deficits (Salamone et al. 2005). For instance, intra-AcbC infusion of SCH23390 and raclopride in similar doses as used here did not affect locomotor activity, free food consumption or lever pressing under a fixed ratio-1 schedule (Yun et al. 2004a). Likewise, intra-Acb infusions of SCH23390 or raclopride did not alter the temporal characteristics of individual lever presses in an operant task (Nowend et al. 2001). Thus, a gross motor dysfunction or a reduced motivation to eat is unlikely to account for the slowed responding observed here.

#### Role of accumbens DA in reversal learning and behavioural activation

The involvement of the Acb and its DA input in the multifactorial process of reversal learning is poorly understood. Behavioural studies in rats demonstrated that cell body lesions of the Acb caused reversal learning impairments in spatial tasks (Annett et al. 1989) and some (Ferry et al. 2000), but not all non-spatial (Brown and Bowman 1995) tasks requiring the discrimination of cues predictive of distinct outcomes. Electrophysiological studies using an olfactory go/no go-task that required rats to learn to discriminate two odors, which predicted distinct outcomes revealed that a subset of Acb neurons encoded the cues' learned motivational significance and these neurons reversed their firing selectivity after a reversal of cue–outcome contingencies (Setlow et al. 2003). These and other findings suggest that changes in the neuronal activity of subsets of Acb neurons could assist in adapting existing reward prediction and behaviors to changing environmental conditions (Schultz et al. 2003).



Mesolimbic DA neurons are supposed to play a critical role in these processes. The prediction error hypothesis of DA action assumes that DA signals are necessary to update the predictive significance of cues (Schultz 2006). For instance, if a cue is presented that is normally associated with reward, but reward is withheld, a pause in the tonic firing of DA neurons occurs at the time reward would have been expected. In turn, if a reward exceeds cue-induced expectation, a phasic burst in firing is observed. Such positive (“better than expected”) and negative (“worse than expected”) prediction error signals are likely to play a crucial role in reversal learning. To our knowledge, there are few studies, if any, investigating the role of AcbC D1 or D2 receptors in learning a reversal of cue–outcome pairings. If DA in the AcbC transmits a prediction error signal that shapes reversal learning, we would expect a pronounced impairment after a DA receptor blockade as, theoretically, the AcbC would have repeatedly received the signal “worse than expected”. At variance with this view, our findings indicate that D1 and D2 receptor-mediated signals in AcbC may not be necessary for learning a reversal of cue–reward magnitude contingencies. We cannot exclude that the training during acquisition was not long enough for error prediction mechanisms to be engaged during reversal learning. However, this possibility is less likely because DA cells are capable of signaling negative prediction errors already early during cue–reward learning (Pan et al. 2005). Thus, DA signaling in other DA terminal fields such as the orbitofrontal cortex could play a critical role in this type of reversal learning (see Robbins 2005, for a recent review), particularly because this prefrontal sub-region was found to be important for reversal learning in the task used here (Bohn et al. 2003; Calaminus and Hauber, unpublished observations).

In line with previous evidence (Yun et al. 2004a,b), we observed that intra-Acb D1 and D2 receptor blockade can increase response latencies. These findings support the general notion that the Acb and its DA input amplifies responsiveness to discrete cues predictive of rewarding outcomes (see Cardinal et al. 2002; Salamone et al. 2005, for recent reviews). However, DA depletions or micro-infusion of DA antagonists into the Acb do not always interfere with response latencies; as in some tasks rats were still capable of responding rapidly to reward-predictive cues (Amalric and Koob 1987; Cole and Robbins 1989; Hauber et al. 2000; Robbins 2005) but not in others (Di Ciano and Everitt 2001; Wakabayashi et al. 2004; Yun et al. 2004a,b). The experimental design including task complexity, stimulus predictability or the amount of pre-training varies considerably across these studies and might influence the extent to which intra-AcbC DA antagonism affects response latencies. For instance, contrasting with our present results an intra-Acb blockade of D2 receptors did

not impair RT in animals extensively pre-trained on a similar task as used here (Hauber et al. 2000). Furthermore, in some tasks, predictive cues inform animals that reward can be obtained contingent on the performance of a specific behaviour (e.g. Robbins et al. 1990), while in tasks used here, correct identification of reward-predictive cues was not instrumental for correct responding, but served to invigorate responding.

Several DA mediated mechanisms in the AcbC could account for invigorating responses to reward-predictive cues. In instrumental tasks, discriminative cues that predict rewards are an integral component of conditional cue–response–outcome relations (Colwill and Rescorla 1990), but also serve as pavlovian cues (Colwill and Rescorla 1988). Appetitive pavlovian cues can elevate instrumental responding, an effect known as pavlovian to instrumental transfer (PIT) that critically depends on the Acb (Balleine and Killcross 1994; Corbit et al. 2001; de Borchgrave et al. 2002; Hall et al. 2001; Parkinson et al. 2000) and its DA input. For instance, intra-AcbC amphetamine enhanced (Wyvell and Berridge 2000) PIT, while systemic DA receptor blockade (Dickinson et al. 2000) and transient inactivation of the VTA, the origin of the major DA input to the Acb, abolished PIT (Murschall and Hauber 2005). Micro-dialysis studies further revealed that presentation of a pavlovian appetitive cue elevates AcbC DA (Bassareo and Di Chiara 1999; Ito et al. 2000). Likewise, voltammetric analysis demonstrated that reward-predictive cues stimulated Acb DA release on a sub-second scale and that this neurochemical change promoted an instrumental response for reward (Roitman et al. 2004). Furthermore, fMRI studies indicate that the higher VTA activity to a predictive cue, the more the associated food stimulus was preferred (O’Doherty et al. 2006). Thus, reward-predictive cues used here may serve as pavlovian cues, which produce—as a function of the relative attractiveness of the associated outcome—distinct DA-dependent PIT effects. Accordingly, one possibility to explain intact reversal learning but slowed responding is that an intra-AcbC DA receptor antagonism reduced the reward magnitude-specific, excitatory effects of predictive cues on instrumental responding to a similar extent thereby increasing RTs for the expected high and low rewards. Alternatively, cues other than explicit reward magnitude-predictive cues, e.g. cues permanently available in the operant box, might serve as non-specific pavlovian cues, which predict an appetitive outcome thereby speeding RTs of responses both to high and low rewards through AcbC DA mechanisms. If so, the general increase of RTs caused by an intra-AcbC DA D1 and D2 receptor blockade could reflect a reduced invigorating impact of such non-specific pavlovian cues. Interference with Acb DA transmission may not only reduce the vigor of responses to reward-predictive cues. For instance,

Acb DA depletions impaired instrumental performance in ratio schedules, but not in a fixed ratio-1 schedule (Aberman and Salamone 1999; Correa et al. 2002; Ishiwari et al. 2004) and reduced the preference for the high cost-high reward response option when having the choice to obtain a low reward with little effort (e.g. Salamone 1994). Taken together, these and other findings suggest that Acb DA is critically involved in several important activational aspects of reward-directed behavior, e.g. to modulate response speed, vigor and persistence of instrumental behavior (see Salamone et al. 2005 for a review).

In summary, in the visual discrimination task used here, D1 and D2 receptor-mediated signals in the AcbC seem to be unnecessary in updating the reward-predictive significance of cues, rather, these signals serve to activate instrumental responding to reward-predictive cues.

**Acknowledgements** This research was supported by a grant of the DFG (HA2340/8-1). We would like to thank S. Weigel for her help with the data evaluation.

## References

- Aberman JE, Salamone JD (1999) Nucleus accumbens dopamine depletions make rats more sensitive to high ratio requirements but do not impair primary food reinforcement. *Neuroscience* 92:545–552
- Amalric M, Koob GF (1987) Depletion of dopamine in the caudate nucleus but not in nucleus accumbens impairs reaction-time performance in rats. *J Neurosci* 7:2129–2134
- Annett LE, McGregor A, Robbins TW (1989) The effects of ibotenic acid lesions of the nucleus accumbens on spatial learning and extinction in the rat. *Behav Brain Res* 31:231–242
- Balleine B, Killcross S (1994) Effects of ibotenic acid lesions of the nucleus accumbens on instrumental action. *Behav Brain Res* 65:181–193
- Bassareo V, Di Chiara G (1999) Differential responsiveness of dopamine transmission to food-stimuli in nucleus accumbens shell/core compartments. *J Neurosci* 19:637–641
- Bohn I, Gierler C, Hauber W (2003) NMDA receptors in the rat orbital prefrontal cortex are involved in guidance of instrumental behaviour under reversal conditions. *Cereb Cortex* 13:968–976
- 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
- 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
- Carelli RM, James SG, Crumling AJ (2000) Evidence that separate neural circuits in the nucleus accumbens encode cocaine versus “natural” (water and food) reward. *J Neurosci* 20:4255–4266
- Cochran WG, Cox GM (1957) *Experimental Designs*. Second Edition. Wiley & Sons, New York, pp 71–73
- Cole BJ, Robbins TW (1989) Effects of 6-hydroxydopamine lesions of the nucleus accumbens septi on performance of a 5-choice serial reaction time task in rats: implications for theories of selective attention and arousal. *Behav Brain Res* 33:165–179
- Colwill R, Rescorla R (1988) Associations between the discriminative stimulus and the reinforcer in instrumental learning. *J Exp Psychol Anim Behav Processes* 14:155–164
- Colwill RM, Rescorla RA (1990) Effect of reinforcer devaluation on discriminative control of instrumental behavior. *J Exp Psychol Anim Behav Processes* 16:40–47
- Corbit LH, Muir JL, Balleine BW (2001) The role of the nucleus accumbens in instrumental conditioning: evidence of a functional dissociation between accumbens core and shell. *J Neurosci* 21:3251–3260
- Correa M, Carlson BB, Wisniecki A, Salamone JD (2002) Nucleus accumbens dopamine and work requirements on interval schedules. *Behav Brain Res* 137:179–187
- de Borchgrave R, Rawlins JN, Dickinson A, Balleine BW (2002) Effects of cytotoxic nucleus accumbens lesions on instrumental conditioning in rats. *Exp Brain Res* 144:50–68
- Di Ciano P, Everitt BJ (2001) Dissociable effects of antagonism of NMDA and AMPA/KA receptors in the nucleus accumbens core and shell on cocaine-seeking behavior. *Neuropsychopharmacology* 25:341–360
- Dickinson A, Smith J, Mirenowicz J (2000) Dissociation of Pavlovian and instrumental incentive learning under dopamine antagonists. *Behav Neurosci* 114:468–483
- Ferry AT, Lu XC, Price JL (2000) Effects of excitotoxic lesions in the ventral striatopallidal–thalamocortical pathway on odor reversal learning: inability to extinguish an incorrect response. *Exp Brain Res* 131:320–335
- Galvan A, Hare TA, Davidson M, Spicer J, Glover G, Casey BJ (2005) The role of ventral frontostriatal circuitry in reward-based learning in humans. *J Neurosci* 25:8650–8656
- Gierler C, Bohn I, Hauber W (2003) The rat nucleus accumbens is involved in guiding of instrumental responses by stimuli predicting reward magnitude. *Eur J Neurosci* 18:1993–1996
- Gierler C, Bohn I, Hauber W (2005) Involvement of NMDA and AMPA/KA receptors in the nucleus accumbens core in instrumental learning guided by reward-predictive cues. *Eur J Neurosci* 21:1689–1702
- Hall J, Parkinson JA, Connor TM, Dickinson A, Everitt BJ (2001) Involvement of the central nucleus of the amygdala and nucleus accumbens core in mediating Pavlovian influences on instrumental behaviour. *Eur J Neurosci* 13:1984–1992
- Hauber W, Bohn I, Gierler C (2000) NMDA, but not dopamine D2, receptors in the rat nucleus accumbens are involved in guidance of instrumental behavior by stimuli predicting reward magnitude. *J Neurosci* 20:6282–6288
- Hernandez PJ, Andrzejewski ME, Sadeghian K, Panksepp JB, Kelley AE (2005) AMPA/kainate, NMDA, and dopamine D1 receptor function in the nucleus accumbens core: a context-limited role in the encoding and consolidation of instrumental memory. *Learn Mem* 12:285–295
- Holland PC, Straub JJ (1979) Differential effects of two ways of devaluing the unconditioned stimulus after Pavlovian appetitive conditioning. *J Exp Psychol Anim Behav Processes* 5:65–78
- Hollerman JR, Tremblay L, Schultz W (1998) Influence of reward expectation on behaviour-related neuronal activity in primate striatum. *J Neurophysiol* 80:947–963
- Ishiwari K, Weber SM, Mingote S, Correa M, Salamone JD (2004) Accumbens dopamine and the regulation of effort in food-seeking behavior: modulation of work output by different ratio or force requirements. *Behav Brain Res* 151:83–91
- Ito R, Dalley JW, Howes SR, Robbins TW, Everitt BJ (2000) Dissociation in conditioned dopamine release in the nucleus

- accumbens core and shell in response to cocaine cues and during cocaine-seeking behavior in rats. *J Neurosci* 20:7489–7495
- Kawagoe R, Takikawa Y, Hikosaka O (1998) Expectation of reward modulates cognitive signals in the basal ganglia. *Nat Neurosci* 1:411–416
- Kelley AE, Baldo BA, Pratt WE, Will MJ (2005) Corticostriatal–hypothalamic circuitry and food motivation: integration of energy, action and reward. *Physiol Behav* 86:773–795
- Knutson B, Cooper JC (2005) Functional magnetic resonance imaging of reward prediction. *Curr Opin Neurol* 18:411–417
- Laubach M, Wessberg J, Nicolelis MA (2000) Cortical ensemble activity increasingly predicts behaviour outcomes during learning of a motor task. *Nature* 405:567–571
- Louilot A, Taghzouti K, Simon H, Le Moal M (1989) Limbic system, basal ganglia, and dopaminergic neurons. Executive and regulatory neurons and their role in the organization of behavior. *Brain Behav Evol* 33:157–161
- McClure SM, Daw ND, Read Montague P (2003) A computational substrate for incentive salience. *Trends Neurosci* 26:423–428
- Murschall A, Hauber W (2005) Effects of a systemic AMPA/KA and NMDA receptor blockade on pavlovian–instrumental transfer. *Psychopharmacology (Berl)* 182:290–296
- Nicola SM, Taha SA, Kim SW, Fields HL (2005) Nucleus accumbens dopamine release is necessary and sufficient to promote the behavioral response to reward-predictive cues. *Neuroscience* 135:1025–1033
- Nowend KL, Arizzi M, Carlson BB, Salamone JD (2001) D1 or D2 antagonism in nucleus accumbens core or dorsomedial shell suppresses lever pressing for food but leads to compensatory increases in chow consumption. *Pharmacol Biochem Behav* 69:373–382
- O’Doherty J (2003) Can’t learn without you: predictive value coding in orbitofrontal cortex requires the basolateral amygdala. *Neuron* 39:731–733
- O’Doherty JP, Buchanan TW, Seymour B, Dolan RJ (2006) Predictive neural coding of reward preference involves dissociable responses in human ventral midbrain and ventral striatum. *Neuron* 49:157–166
- Pan WX, Schmidt R, Wickens JR, Hyland BI (2005) Dopamine cells respond to predicted events during classical conditioning: evidence for eligibility traces in the reward-learning network. *J Neurosci* 25:6235–6242
- Parkinson JA, Cardinal RN, Everitt BJ (2000) Limbic cortical–ventral striatal systems underlying appetitive conditioning. *Prog Brain Res* 126:263–285
- Paxinos G, Watson C (1997) *The rat brain in stereotaxic coordinates*. Academic, New York
- Robbins TW (2005) Chemistry of the mind: neurochemical modulation of prefrontal cortical function. *J Comp Neurol* 493:140–146
- Robbins TW, Giardini V, Jones GH, Reading P, Sahakian BJ (1990) Effects of dopamine depletion from the caudate-putamen and nucleus accumbens septi on the acquisition and performance of a conditional discrimination task. *Behav Brain Res* 38:243–261
- Roitman MF, Stuber GD, Phillips PE, Wightman RM, Carelli RM (2004) Dopamine operates as a subsecond modulator of food seeking. *J Neurosci* 24:1265–1271
- Sage JR, Knowlton BJ (2000) Effects of US devaluation on win-stay and win-shift radial maze performance in rats. *Behav Neurosci* 114:295–306
- Salamone JD (1994) The involvement of nucleus accumbens dopamine in appetitive and aversive motivation. *Behav Brain Res* 61:117
- Salamone JD, Correa M, Mingote SM, Weber SM (2005) Beyond the reward hypothesis: alternative functions of nucleus accumbens dopamine. *Curr Opin Pharmacol* 5:34–41
- Schoenbaum G, Setlow B (2003) Lesions of nucleus accumbens disrupt learning about aversive outcomes. *J Neurosci* 23:9833–9841
- Schultz W (2006) Behavioral theories and the neurophysiology of reward. *Annu Rev Psychol* 57:87–115
- Schultz W, Tremblay L, Hollerman JR (2003) Changes in behavior-related neuronal activity in the striatum during learning. *Trends Neurosci* 26:321–328
- Setlow B, Schoenbaum G, Gallagher M (2003) Neural encoding in ventral striatum during olfactory discrimination learning. *Neuron* 38:625–636
- Sokoloff P, Andrieux M, Besancon R, Pilon C, Martres MP, Giros B, Schwartz JC (1992) Pharmacology of human dopamine D3 receptor expressed in a mammalian cell line: comparison with D2 receptor. *Eur J Pharmacol* 225:331–337
- Sutton RS, Barto AG (1990) Time derivative models of Pavlovian reinforcement. In: M. Gabriel and J. Moore (eds) *Learning and computational neuroscience: foundations of adaptive networks*. MIT Press, Cambridge, MA, pp 497–537
- Wakabayashi KT, Fields HL, Nicola SM (2004) Dissociation of the role of nucleus accumbens dopamine in responding to reward-predictive cues and waiting for reward. *Behav Brain Res* 154:19–30
- Watanabe M, Cromwell HC, Tremblay L, Hollerman JR, Hikosaka K, Schultz W (2001) Behavioral reactions reflecting differential reward expectations in monkeys. *Exp Brain Res* 140:511–518
- Woodward DJ, Chang JY, Janak P, Azarov A, Anstrom K (1999) Mesolimbic neuronal activity across behavioral states. *Ann N Y Acad Sci* 877:91–112
- Wyvell CL, Berridge KC (2000) Intra-accumbens amphetamine increases the conditioned incentive salience of sucrose reward: enhancement of reward “wanting” without enhanced “liking” or response reinforcement. *J Neurosci* 20:8122–8130
- Yun IA, Nicola SM, Fields HL (2004a) Contrasting effects of dopamine and glutamate receptor antagonist injection in the nucleus accumbens suggest a neural mechanism underlying cue-evoked goal-directed behavior. *Eur J Neurosci* 20:249–263
- Yun IA, Wakabayashi KT, Fields HL, Nicola SM (2004b) The ventral tegmental area is required for the behavioral and nucleus accumbens neuronal firing responses to incentive cues. *J Neurosci* 24:2923–2933
- Zahm DS (2000) An integrative neuroanatomical perspective on some subcortical substrates of adaptive responding with emphasis on the nucleus accumbens. *Neurosci Biobehav Rev* 24:85–105

Neuroscience 154 (2008) 1195–1204

## GUIDANCE OF INSTRUMENTAL BEHAVIOR UNDER REVERSAL CONDITIONS REQUIRES DOPAMINE D1 AND D2 RECEPTOR ACTIVATION IN THE ORBITOFRONTAL CORTEX

C. CALAMINUS AND W. HAUBER\*

Abteilung Tierphysiologie, Biologisches Institut, Universität Stuttgart, Pfaffenwaldring 57, D-70550, Stuttgart, Germany

**Abstract**—The orbitofrontal cortex (OFC) plays a critical role in learning a reversal of stimulus–reward contingencies. Dopamine (DA) neurons probably support reversal learning by emitting prediction error signals that indicate the discrepancy between the actually received reward and its prediction. However, the role of DA receptor-mediated signaling in the OFC to adapt behavior to changing stimulus–reward contingencies is largely unknown. Here we examined the effects of a selective D1 or D2 receptor blockade in the OFC on learning a reversal of previously acquired stimulus–reward magnitude contingencies. Rats were trained on a reaction time (RT) task demanding conditioned lever release with discriminative visual stimuli signaling in advance the upcoming reward magnitude (one or five food pellets). After acquisition, RTs were guided by stimulus-associated reward magnitudes, i.e. RTs of responses were significantly shorter for expected high versus low reward. Thereafter, stimulus–reward magnitude contingencies were reversed and learning was tested under reversal conditions for three blocks after pre-trial infusions of the selective D1 or D2 receptor antagonists R(+)-7-chloro-8-hydroxy-3-methyl-1-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1H-3-benzazepinhydrochloride (SCH23390), eticlopride, or vehicle. For comparisons, we included intra-OFC infusions of the selective *N*-methyl-D-aspartate receptor antagonist AP5. Results revealed that in animals subjected to intra-OFC infusions of SCH23390 or eticlopride learning a reversal of previously acquired stimulus reward-magnitude contingencies was impaired. Thus, in a visual discrimination task as used here, D1 and D2 receptor-mediated signaling in the OFC seems to be necessary to update the reward-predictive significance of stimuli. © 2008 IBRO. Published by Elsevier Ltd. All rights reserved.

**Key words:** prefrontal, glutamate, SCH23390, eticlopride, AP5.

Behavioral studies in humans and animals demonstrated that different subregions of the prefrontal cortex (PFC) mediate distinct types of behavioral flexibility. For instance, lesion studies in rats suggest that the medial prefrontal cortex (mPFC) appears necessary for the acquisition of novel strategies or rules and the inhibition of a previously

learned strategy (e.g. Birrell and Brown, 2000; Ghods-Sharifi et al., 2008; Ragozzino et al., 1999). By contrast, subjects with lesions of the orbital region of the PFC (OFC) had difficulties in adapting behavioral responding when previously established contingencies between stimuli and outcomes were reversed (Ferry et al., 2000; Izquierdo et al., 2004; Mishkin, 1964; Schoenbaum et al., 2002, 2003). Therefore, the OFC appears to be fundamental in adapting behavior to changing stimulus–reward contingencies (see Brown and Bowman, 2002; Murray et al., 2007 for review). Correspondingly, electrophysiological recordings revealed that OFC neurons were activated in anticipation of outcomes after sampling of predictive stimuli and changed their stimulus-selective firing during a reversal of stimulus–outcome contingencies (Thorpe et al., 1983; Schoenbaum et al., 1999).

While a fundamental role of the OFC for using stimulus–outcome learning to guide action selection is well established, little is known about neurochemical substrates in the OFC mediating reversal learning. Behavioral studies in rodents implicated *N*-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor activity in the mPFC in associative learning and cognitive flexibility (Baldwin et al., 2002; Stefani and Moghaddam, 2003), however, the involvement of NMDA receptors in reversal learning is still poorly defined. A recent study suggests that NMDA receptor-mediated signaling in the OFC seems to be critical in guiding instrumental behavior under reversal conditions (Bohn et al., 2003a). Also, the role of OFC DA receptor activity in reversal learning is largely unexplored. This fact is surprising for several reasons. First, the OFC receives a prominent dopamine (DA) input from mesocorticolimbic fibers (Berger et al., 1991). Second, models of temporal difference learning (Schultz, 2006; Sutton and Barto, 1990) suggest that learning of predictions under reversal conditions requires a prediction error signal that indicates the discrepancy between actually received reward and its prediction. Accordingly, empirical studies show that DA neurons emit prediction error signals (Schultz, 2006; Roesch et al., 2007) and indicate the presence of such signals in target areas of DA neurons such as the OFC (McClure et al., 2003; O'Doherty, 2003). These findings imply that DA signals in the OFC could be necessary to update the predictive significance of stimuli in response to changing stimulus–reward contingencies. However, contrasting with this account, DA depletion of the OFC did not affect serial discrimination reversal learning (Clarke et al., 2007).

The aim of the current study was to further analyze the role of OFC DA in behavioral flexibility and to explore

\*Corresponding author. Tel: +49-711-685-65003; fax: +49-711-685-65090. E-mail address: hauber@bio.uni-stuttgart.de (W. Hauber).

**Abbreviations:** ANOVA, analysis of variance; AP5, DL-2-amino-5-phosphonovaleric acid; BLA, basolateral amygdala; DA, dopamine; mPFC, medial prefrontal cortex; MT, movement time; NMDA, *N*-methyl-D-aspartate; OFC, orbitofrontal cortex; PFC, prefrontal cortex; RT, reaction time; SCH23390, R(+)-7-chloro-8-hydroxy-3-methyl-1-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1H-3-benzazepinhydrochloride.

whether D1 and D2 receptor-mediated signals in the OFC are essential for adapting instrumental behavior to changing stimulus–reward magnitude contingencies. To this end, rats were trained in a reaction time (RT) task demanding conditioned lever release with a predictive stimulus signaling in advance the upcoming reward magnitude (five or one pellet) (Calaminus and Hauber, 2006; Gierler et al., 2005). After acquisition of the task, RTs of responses to expected high versus low reward were significantly shorter indicating that instrumental responding was guided by reward-predictive stimuli. Thereafter, we reversed stimulus–reward contingencies and rats received intra-OFC infusions of selective D1 or D2 receptor antagonists or of vehicle. For comparisons, we included intra-OFC infusions of the selective NMDA receptor antagonist AP5, a drug that has been shown to impair guidance of instrumental behavior under reversal conditions in this task (Bohn et al., 2003a). If D1 or D2 receptors in the OFC transmit a prediction error signal that shapes learning a reversal of stimulus–reward contingencies, we expected an impairment after a DA receptor blockade.

## EXPERIMENTAL PROCEDURES

### Animals

Eighty-four Lister-Hooded rats (Harlan-Winkelmann, Borcheln, Germany) were housed in transparent plastic cages (55×39×27 cm, Ferplast, Nürnberg, Germany). Temperature (20±2 °C) and humidity (50–60%) in the animal house were kept constant and a 12-h light/dark schedule was used with lights on between 7:00 h and 19:00 h. Rats were given *ad libitum* access to water; food was restricted to 15 g per animal and day. On days without behavioral testing, rats received 15 g standard laboratory maintenance chow (Altromin, Lage, Germany). On days with behavioral tests, rats received in the testing apparatus 5.4 g food pellets as reward (45 mg pellets, Bioserv, Frenchtown, NJ, USA). On these days, the amount of standard laboratory chow given was reduced to 9.6 g per animal. Rats weighed 200–210 g on arrival and 250–270 g at the time of surgery. All animal experiments were conducted according to the European Communities Council Directive of 24 November 1986 (86/609/EEC) as well as the German Law on Animal Protection and were approved by the proper authorities in Stuttgart, Germany. All efforts were made to minimize the number of animals used and their suffering.

### Surgery

For stereotaxic surgery, animals were anesthetized with ketamine (120 mg/kg i.m.) (Bela-Pharm GmbH, Vechta, Germany) and xylazine (4 mg/kg i.m.) (Bayer AG, Leverkusen, Germany) and secured in a Kopf stereotaxic apparatus (Kopf Instruments, Tujunga, USA). Bilateral 15 mm stainless steel guide cannulae with an outer diameter of 0.7 mm were aimed at the OFC and implanted using standard stereotaxic procedures. The coordinates were 3.2 mm anterior bregma, 2.4 mm lateral to midline, and 4.0 mm ventral from the skull with the tooth bar –3.3 mm under the interaural line. Coordinates were determined from the atlas of Paxinos and Watson (1997). The guide cannulae were occluded by stainless steel stylets. Each rat was given at least 7 day to recover from surgery before behavioral testing was started.

### Drug injection

Animals received bilateral intra-OFC injections of the selective D1 receptor antagonist R(+)-7-chloro-8-hydroxy-3-methyl-1-phenyl-

2,3,4,5-tetrahydro-1H-3-benzazepinhydrochloride (SCH23390, Research Biochemicals, Natick, USA) (1 µg in 0.5 µl 0.9% sterile saline), the D2 receptor antagonist eticlopride (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Germany) (1 µg in 0.5 µl 0.9% sterile saline), the NMDA receptor antagonist DL-2-amino-5-phosphonvaleric acid (AP5) (5 µg in 0.5 µl 0.9% sterile saline) or vehicle (0.5 µl 0.9% sterile saline). The doses of AP5, SCH23390 and eticlopride were based on previous studies (e.g. Bohn et al., 2003; Capriles et al., 2003; Schweimer and Hauber, 2006). On injection days, stainless steel stylets were removed and injection cannulae (outer diameter: 0.45 mm, length: 17 mm) were lowered to the final site of infusion and attached via polyvinylchloride tubing to microliter syringes controlled by a syringe pump (Med Associates, St. Albans, VT, USA). Drugs were delivered over a 1-min interval and injection cannulae were left in position for a further minute to allow for diffusion. After injection, each rat remained in its home cage for an additional 10 min before being placed in the test chamber.

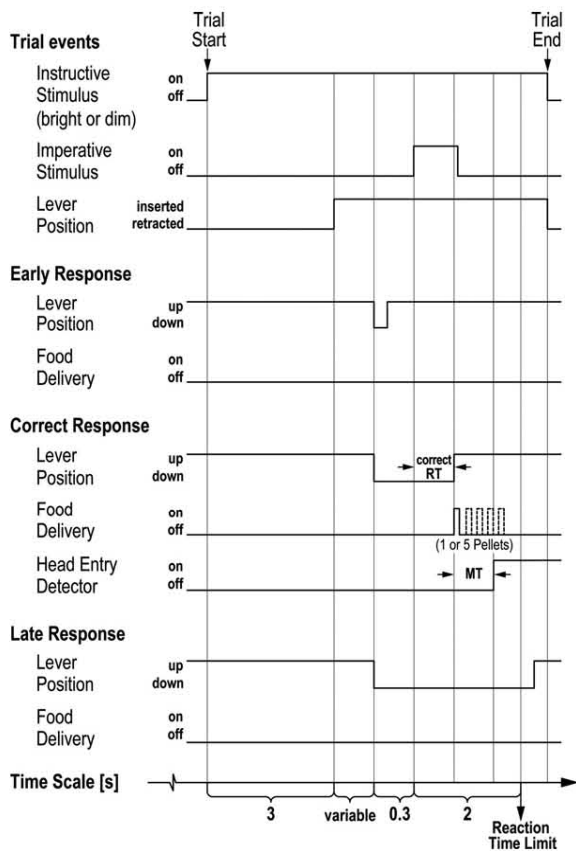
### Apparatus

Six experimental chambers (24×21×30 cm) (Med Associates) were used. Each chamber was supplied with a retractable lever, two stimulus lights (one above the retractable lever, the other above the food receptacle) and encased in a sound attenuating cubicle with a fan providing a constant low level of background noise. Each food receptacle was equipped with an infrared head entry detector. The experiments were controlled online by a Windows 98™-based computer system equipped with SmartControl®-Interfaces and the MedPC™-Software (Med Associates).

### RT task

A simple RT task as used in previous studies (e.g. Gierler et al., 2004; Calaminus and Hauber, 2006) was employed. A simplified scheme on the order of trial events is given in Fig. 1. First, an instructive stimulus above the food receptacle was turned on at one of two brightness levels indicating the upcoming reward magnitudes (one or five pellets, 45 mg pellets, Bioserv), 3 s later the lever was inserted. Thereafter, a trained rat pressed the inserted lever spontaneously. After a foreperiod of 0.3 s, an imperative stimulus provided by a stimulus light above the lever signaled the animal to release the lever. Responses with RT <2 s were considered as being correct and were rewarded. Early responses initiated before the onset of the imperative stimulus or late responses (RT ≥2 s) caused the trial to be repeated. After an inter-trial interval of 3 s, the instructive stimulus was turned on again thereby signaling the beginning of a new trial. The reward magnitude (low/high) for each trial was pseudo-randomly determined in advance. Brightness levels of instructive stimuli were balanced, i.e. for 50% of the rats a bright stimulus was associated with low reward and a dim stimulus was associated with high reward. For the other 50% of the rats, the opposite pattern was used. A daily session demanded 40 correct trials, i.e. 20 correct trials for low and high reward.

RT was defined as latency from the onset of the imperative stimulus to lever release, movement time (MT) was defined as latency from lever release to photobeam disruption in the food receptacle. Both measures were recorded with an accuracy of <10 ms and calculations on RT and MT values were conducted with data from correct trials (RT <2 s). Furthermore, the overall number of trials (early+correct+late responses) to reach the criterion of 40 correct responses was counted and used as an index of the accuracy of performance. These measures allow a detailed analysis of the guidance of instrumental behavior by reward-predictive stimuli. Response latencies measured by RTs become shorter for expected high versus low reward. Therefore, the RT differences of responses for expected low and high reward are a sensitive index of discriminative learning of stimulus-associated



**Fig. 1.** Schematic representation of the order of trial events. First, an instructive stimulus was turned on at one of two brightness levels indicating the upcoming reward magnitudes (one or five pellets). Thereafter, the rat pressed the inserted lever spontaneously. After a foreperiod of 0.3 s, the imperative stimulus signaled the animal to release the lever. Responses with  $RT < 2$  s were considered as being correct and were rewarded. Early responses initiated before the onset of the imperative stimulus or late responses ( $RT \geq 2$  s) caused the trial to be repeated.

reward values. The speed of response execution was measured by MTs. MTs became also generally shorter during task acquisition, however, unlike RTs MTs are influenced by a number of parameters such as body position relative to the manipulandum. Therefore, MT is a less appropriate parameter for reward expectancy (Gierler et al., 2003; Hollerman et al., 1998) and was used here as a sensitive parameter to control for gross drug-induced motor effects (Gierler et al., 2003). Response accuracy measured by the number of responses necessary to reach a fixed criterion of correct responses was used as an index of learning the instrumental contingency. Incorrect, i.e. early and late responses, permitted further assessment of drug effects on response preparation.

### Experimental procedures

Experiment 1 examined the effects of an intra-OFC D1 receptor antagonism, experiment 2 the effects of an intra-OFC D2 receptor antagonism, experiment 3 the effects of an intra-OFC NMDA receptor antagonism on a reversal of discrimination learning. The design of all three experiments was identical. Different groups of rats were trained in the RT task described above. Acquisition was tested throughout 8 days with one daily session. Thereafter stimulus–reward magnitude contingencies were reversed and instru-

mental learning was analyzed throughout 6 days within one daily session. During reversal, different groups of animals received microinjections of either SCH23390, eticlopride or AP5; respective control groups received microinjections of vehicle.

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

(2) *Acquisition.* After postoperative recovery the experiment was started with one daily session; data from the initial session were not evaluated. During days 1–8, task acquisition was examined. On days 6, 7 and 8, animals received a sham injection procedure including handling procedure, insertion of injection cannulae dummies and operation of the injection pump (without running an injection) before the onset of individual behavioral testing.

(3) *Reversal.* Subsequently, learning of reversed stimulus–reward magnitude contingencies was tested on days 9–14, i.e. rats had to learn that the stimulus formerly predicting high reward was associated with low reward and vice versa. During reversal rats received a drug or vehicle microinjection (1  $\mu$ g eticlopride,  $n=17$ /vehicle  $n=13$ ; 1  $\mu$ g SCH23390,  $n=14$ /vehicle,  $n=13$ ; 5  $\mu$ g AP5,  $n=14$ /vehicle,  $n=13$ ) before the onset of behavioral testing.

### Data analysis

In line with earlier studies (e.g. Bohn et al., 2003), subjects perceived brightness levels of instructive stimuli equally, i.e. for a given reward magnitude level mean accuracy and RT values obtained with a bright or a dim stimulus did not differ significantly (data not shown). Therefore, response measures for a given reward magnitude obtained with bright and dim instructive stimuli were collapsed.

Data are expressed as means from blocks of two sessions  $\pm$  standard error of the mean (S.E.M.). When averaging RT data, a geometric mean was calculated for each rat and session, as the geometric mean is less influenced by outlying data points than is the arithmetic mean. Overall, RT means of responses associated with the high and low reward magnitude represent the arithmetic average of the geometric means of individual rats (Brasted et al., 1997).

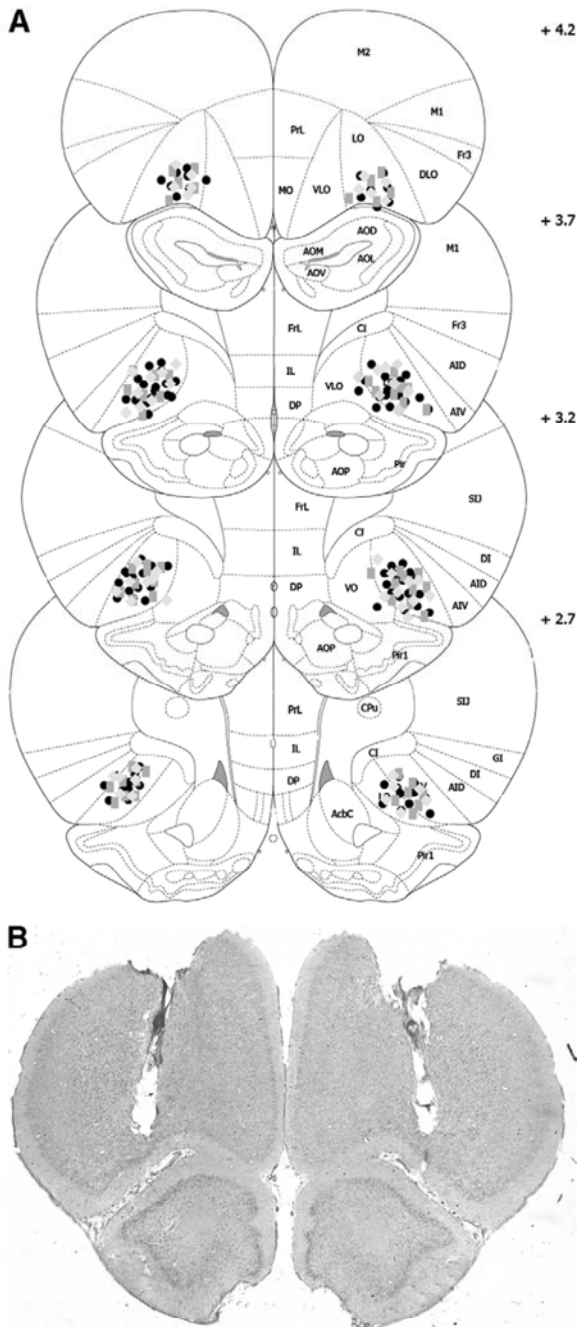
Data from all experiments were subjected to separate repeated measures analysis of variance (ANOVA). Numbers of correct and early responses of correct responses during acquisition (blocks 1–4) and reversal (blocks 5–7) were compared using an ANOVA with group (groups to be treated or treated with vehicle, eticlopride, SCH23390 or AP5) as between-subjects factor and reward magnitude and blocks as within-subjects (repeated measures) factors. RTs of correct responses for high and low reward during acquisition and reversal were subjected to a planned contrast analysis, i.e. for each block and group, mean  $RT_{low\ reward}$  versus mean  $RT_{high\ reward}$  were compared separately by linear contrasts. All statistical computations were carried out with Statistica™ (version 7.1, StatSoft®, Inc., Tulsa, OK, USA). The level of statistical significance ( $\alpha$ -level) was set at  $P < 0.05$ .

### Histology

After completion of behavioral testing, animals were killed by an overdose of sodium pentobarbital (150 mg/kg, i.p.) (Sigma-Aldrich, 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 (30  $\mu$ m) were cut with a cryostat (Reichert & Jung, Heidelberg, Germany), mounted on coated slides and stained with Cresyl Violet. The location of cannulae tips is shown in Fig. 2. No rat was excluded from analysis due to cannulae misplacements.

1198

C. Calaminus and W. Hauber / Neuroscience 154 (2008) 1195–1204



**Fig. 2.** (A) Location of microinjection cannulae tips in rats of experiments 1–3 (● experiment 1, ◆ experiment 2, ■ experiment 3). Plates are adaptations from the atlas of Paxinos and Watson (1997)s. Numbers beside each plate correspond to millimeters anterior to bregma. (B) Nissl stain of a coronal section showing the cannulae tracks.

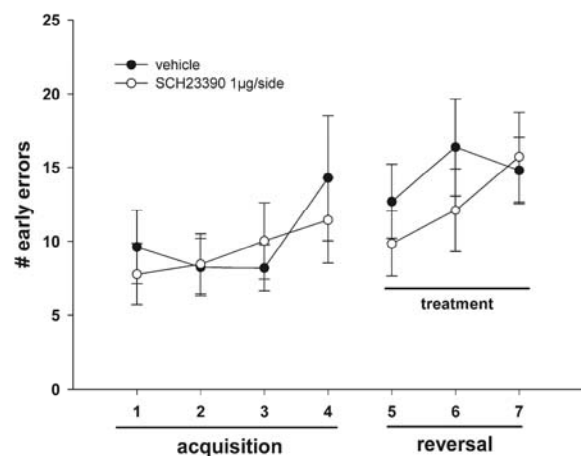
**RESULTS**

According to their performance during acquisition, animals in experiments 1–3 were divided in two groups to be treated with vehicle or drug during reversal. The groups were chosen that no significant difference of RT was detectable during acquisition ( $F < 1$ ).

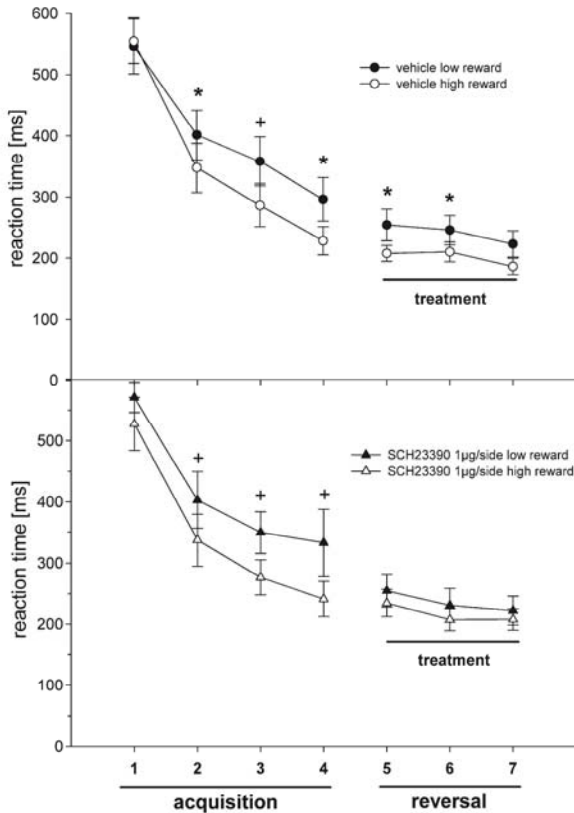
**Experiment 1: Effects of an intra-OFC D1 receptor blockade**

*Accuracy of performance.* As observed in previous studies (Gierler et al., 2005), rats needed approx. 50–60 trials to achieve the criterion of 40 correct responses (20 responses with RT < 2 s for each reward magnitude). As incorrect trials largely reflected early errors, only this type of errors was given. Intra-OFC infusion of SCH23390 had no prominent effects on the number of early errors (Fig. 3) and the number of trials to reach criterion. Three-way ANOVAs on the number of early responses with group/treatment (vehicle, SCH23390) as between-subject factors and reward magnitude (low, high) and block as within-subjects factor revealed no main effects of group during acquisition (blocks 1–4) and reversal (blocks 5–7), but a main block effect during acquisition ( $F_{(3,72)} = 2.82, P = 0.04$ ) as well as reversal ( $F_{(2,48)} = 3.21, P = 0.05$ ). Similarly, an ANOVA on the trials to reach criterion during acquisition and reversal indicated no main effects of group, but a main block effect during acquisition ( $F_{(3,72)} = 2.82, P = 0.04$ ) and reversal ( $F_{(2,48)} = 3.21, P = 0.05$ ) (data not shown).

*RTs.* As shown in Fig. 4 during acquisition, RTs of animals to be treated with SCH23390 and vehicle significantly decreased over blocks ( $F_{(3,69)} = 62.71, P < 0.0001$ ) and were guided by expected reward magnitude ( $F_{(1,23)} = 24.59, P < 0.0001$ ). Planned contrast analysis revealed that in both groups RTs for expected high reward were shorter on blocks 2–4. For reversal, an ANOVA indicated a main effect of reward magnitude ( $F_{(1,23)} = 6.93, P < 0.02$ ), but no main effect of treatment and treatment × reward magnitude interaction. Planned contrast analysis revealed that in vehicle-treated rats RT for expected low and high reward differed significantly on blocks 5 and 6, whereas on block 7 there was a trend for a significant difference ( $P = 0.07$ ). By contrast, in SCH23390-treated animals, no significant differences between RT for expected low and high reward were detected on blocks 5–7.

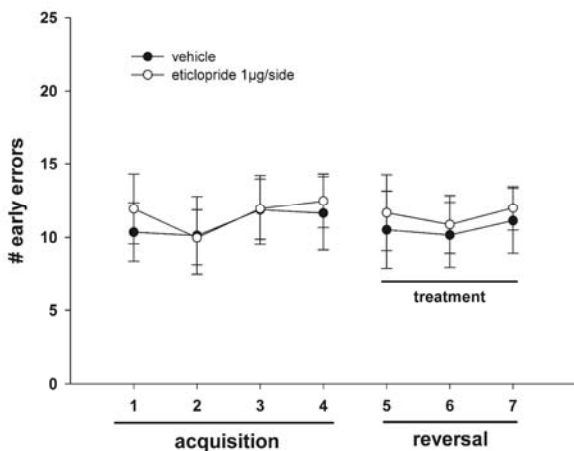


**Fig. 3.** Effects of intra-OFC infusion of SCH23390 on accuracy of responding. Mean number of early responses (± S.E.M.) in blocks of two sessions are given. SCH23390 at 1 µg ( $n = 14$ ) or vehicle ( $n = 13$ ) was given during blocks 5–7. Infusion of SCH23390 did not alter the number of early errors significantly.

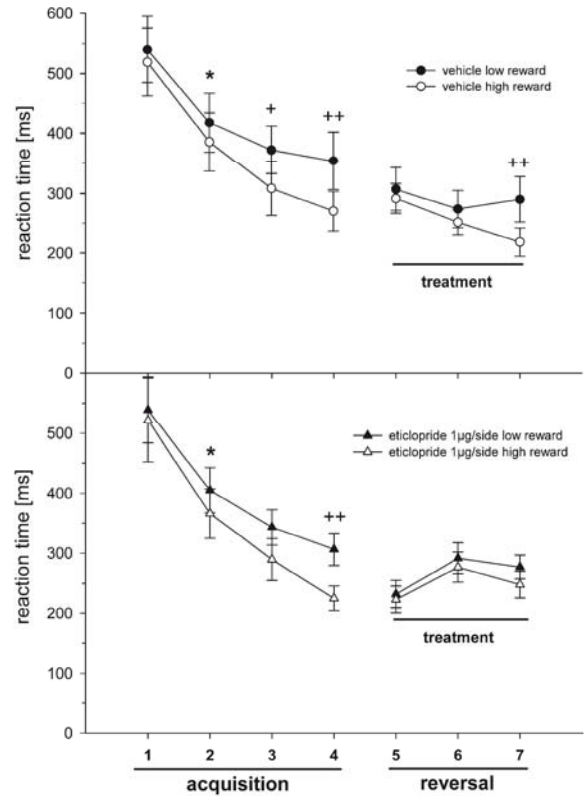


**Fig. 4.** Effects of intra-OFC infusion of SCH23390 on RT. Mean RTs ( $\pm$ S.E.M.) of correct responses in blocks of two sessions are given. SCH23390 at 1  $\mu$ g ( $n=14$ ) or vehicle ( $n=13$ ) was given during blocks 5–7. \*  $P<0.05$ , +  $P<0.01$  (planned contrasts; RT<sub>low reward</sub> versus RT<sub>high reward</sub>).

**MTs.** Intra-OFC infusion of SCH23390 had no effects on MTs (data not shown). During acquisition and reversal, MT for responses for expected high and low reward did not differ significantly as analyzed by planned contrasts. Sep-



**Fig. 5.** Effects of intra-OFC infusion of eticlopride on accuracy of responding. Mean number of early responses ( $\pm$ S.E.M.) in blocks of two sessions are given. Eticlopride at 1  $\mu$ g ( $n=17$ ) or vehicle ( $n=13$ ) was given during blocks 5–7. Infusion of eticlopride did not alter the number of early errors significantly.



**Fig. 6.** Effects of intra-OFC infusion of eticlopride on RT. Mean RTs ( $\pm$ S.E.M.) of correct responses in blocks of two sessions are given. Eticlopride at 1  $\mu$ g ( $n=17$ ) or vehicle ( $n=13$ ) was given during blocks 5–7. \*  $P<0.05$ , +  $P<0.01$ , ++  $P<0.001$  (planned contrasts; RT<sub>low reward</sub> versus RT<sub>high reward</sub>).

arate ANOVAs on respective blocks revealed no significant main effects of reward magnitude or treatment and no significant reward magnitude  $\times$  treatment interactions.

**Experiment 2: Effects of an intra-OFC D2 receptor blockade**

**Accuracy of performance.** As with experiment 1, rats needed approx. 50–60 trials to achieve the criterion of 40 correct responses. Intra-OFC infusion of eticlopride did not significantly alter the number of early responses (Fig. 5) or the number of trials to reach criterion. Separate ANOVAs on the number of early responses during acquisition and reversal indicated no main effect of group/treatment and no effect of block. Likewise, an ANOVA on the trials to reach criterion during acquisition and reversal indicated no main effects of group/treatment (data not shown) and no effect of block.

**RTs.** RTs of animals to be treated with eticlopride and vehicle significantly decreased over acquisition blocks ( $F_{(3,84)}=24.86$ ,  $P<0.0001$ ) and were guided by expected reward magnitude ( $F_{(1,28)}=29.68$ ,  $P<0.0001$ ). Planned contrast analysis showed that in both groups RT for expected high reward became increasingly shorter on blocks 2–4 as shown in Fig. 6. However, on block 3, animals to be treated with eticlopride showed only a trend for a significant RT difference ( $P=0.051$ ).



1200

C. Calaminus and W. Hauber / Neuroscience 154 (2008) 1195–1204

An ANOVA on reversal blocks showed a main effect of reward magnitude ( $F_{(1,28)}=9.93, P<0.01$ ), blocks ( $F_{(2,56)}=5.55, P<0.01$ ) and a significant block $\times$ magnitude $\times$ treatment interaction ( $F_{(2,56)}=4.11, P<0.05$ ), but no main effect of treatment and no two-way interactions. Planned contrast analysis revealed that in vehicle-treated rats RT for expected low and high reward differed significantly on block 7, whereas in eticlopride-treated animals, no significant differences between RT for expected low and high reward were detected on blocks 5–7.

**MTs.** Intra-OFC infusion of eticlopride produced no effects on MTs (data not shown). During acquisition and reversal, MT for responses for expected high and low reward did not differ significantly as analyzed by planned contrasts. Separate ANOVAs on respective blocks revealed no significant main effects of reward magnitude or treatment and no significant reward magnitude $\times$ treatment interactions.

**Experiment 3: Effects of an intra-OFC NMDA receptor blockade**

**Accuracy of performance.** Intra-OFC infusion of AP5 increased the number of early errors (Fig. 7). An ANOVA on the number of early responses revealed an effect of treatment ( $F_{(1,26)}=7.37, P=0.01$ ) and blocks ( $F_{(2,52)}=4.39, P=0.02$ ) during reversal, but not during acquisition. Consequently, the number of trials to reach criterion was higher in animals that received microinfusion of AP5 and an ANOVA on the trials to reach criterion found main block ( $F_{(2,52)}=4.39, P=0.02$ ) and treatment effects ( $F_{(1,26)}=7.37, P=0.01$ ) during reversal, but no main block and treatment effects during acquisition (data not shown).

**RTs.** Animals to be treated with vehicle or AP5 showed a significant decrease in RT over acquisition blocks ( $F_{(3,69)}=36.56, P<0.0001$ ) and a guidance by expected reward magnitude ( $F_{(1,23)}=11.18, P<0.01$ ) (Fig. 8).

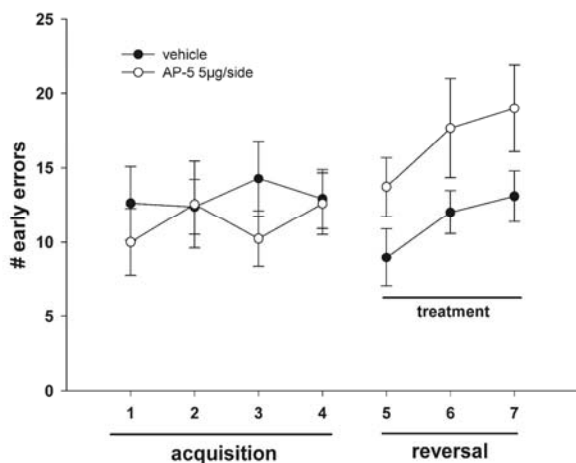


Fig. 7. Effects of intra-OFC infusion of AP5 on accuracy of responding. Mean number of early responses ( $\pm$ S.E.M.) in blocks of two sessions are given. AP5 at 5  $\mu$ g ( $n=14$ ) or vehicle ( $n=13$ ) was given during blocks 5–7. Infusion of AP5 increased the number of early errors significantly.

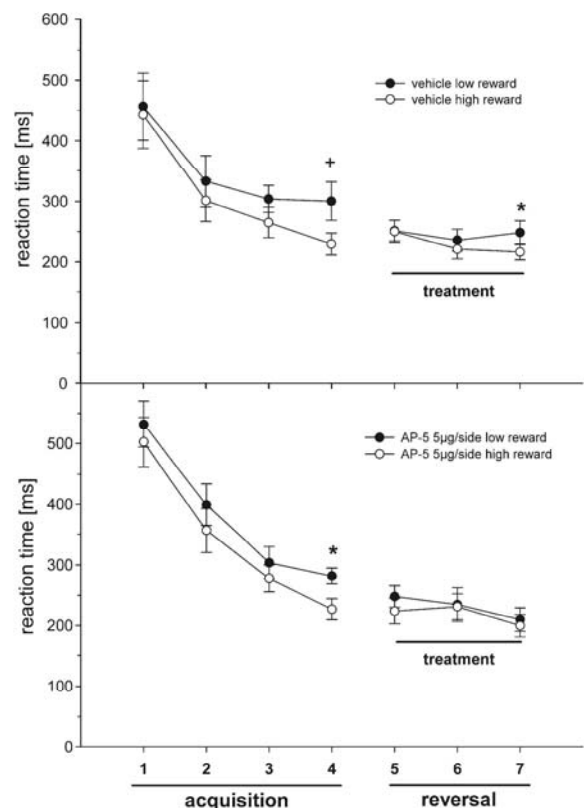


Fig. 8. Effects of intra-OFC infusion of AP5 on RT. Mean RTs ( $\pm$ S.E.M.) of correct responses in blocks of two sessions are given. AP5 at 5  $\mu$ g ( $n=14$ ) or vehicle ( $n=13$ ) was given during blocks 5–7. \*  $P<0.05$ , +  $P<0.01$  (planned contrasts; RT<sub>low reward</sub> versus RT<sub>high reward</sub>).

Planned contrast analysis revealed that in both groups RT for expected high reward were significantly shorter on block 4. Over reversal blocks, an ANOVA indicated a main effect of reward magnitude ( $F_{(1,22)}=6.61, P<0.02$ ), but no main effect of treatment and no two-way interactions. Planned contrast analysis revealed that in vehicle-treated rats RT for expected low and high reward differed significantly on block 7, whereas in AP5-treated animals, no significant differences between RT for expected low and high reward were detected on blocks 5–7.

**MTs.** Intra-OFC infusion of AP5 had no effects on MTs (data not shown). During acquisition and reversal, MT for responses for expected high and low reward did not differ significantly as analyzed by planned contrasts. Separate ANOVAs on respective blocks revealed no significant main effects of reward magnitude or treatment and no significant reward magnitude $\times$ treatment interactions.

**DISCUSSION**

The present study demonstrates dissociable effects of a D1 and D2 receptor blockade versus an NMDA receptor blockade in the OFC on adapting instrumental behavior to changing stimulus–reward contingencies. A blockade of intra-OFC D1 or D2 receptors during reversal did not alter the number of early responses, but slowed learning to

discriminate the current stimulus–reward magnitude contingencies. As previously shown (Bohn et al., 2003a), blockade of intra-OFC NMDA receptor increased the number of early responses and impaired learning to discriminate the current stimulus–reward magnitude contingencies. These findings suggest that D1/D2 and NMDA receptor-mediated signaling in the OFC plays an important and partially overlapping role in adapting responding to changing stimulus–reward contingencies.

The possibility that drug diffusion from the OFC to adjacent regions contributes to behavioral effects cannot be discounted as little is known about the exact spread of each drug from the site of infusion. However, Granon et al. (2000) demonstrated that a substantial amount of radiolabeled SCH23390 injected into the mPFC in the same volume as used here remained in the vicinity of the injection site even 1 h after injection. Furthermore, a considerable number of studies showed that microinfusion of various drugs into adjacent prefrontal subregions such as OFC, prelimbic or infralimbic cortex produced dissociable behavioral effects (e.g. Capriles et al., 2003; De Bruin et al., 2000) suggesting that the functional spread of drugs was relatively limited. Therefore, behavioral effects seen here may primarily arise from drug actions within the OFC.

#### D1 and D2 receptor activity and learning under reversal conditions

Under reversal conditions, RTs of vehicle controls were guided by expected reward magnitude on block 3 or earlier. Notably, vehicle controls of experiment 1 adapted to changing stimulus–reward contingencies already on the first block. Such inter-group variability already observed in previous studies (Calaminus and Hauber, 2006) may reflect a sampling problem, i.e. some groups involve a high ratio of individuals rapidly responding to contingency changes, while most groups consist of about similar proportions of rapid and slow responders (data not shown). In addition, in an earlier study (Bohn et al., 2003a) adaption of RTs to reversed stimulus–reward magnitudes required more days as observed here and on initial reversal days RTs for low reward were even shorter than RTs for high reward. It is likely that faster reversal seen here is related to a shorter acquisition phase of 8 days (four blocks) in the present as compared with 15 days in our previous study (Bohn et al., 2003a).

Most importantly, results show that intra-OFC infusion of SCH23390 and eticlopride impaired rats' ability to adapt instrumental behavior to changing stimulus–reward magnitude contingencies. The doses of SCH23390 and eticlopride used here were based on pilot studies and data reported in the literature (Floresco et al., 2006; Ragozzino, 2002; Schweimer and Hauber, 2006; Seamans et al., 1998; Sun and Rebec, 2005). As the relative densities of prefrontal D1 and D2 receptors are different (Lidow et al., 1991; Goldman-Rakic et al., 1992; Gaspar et al., 1995; Sesack et al., 1995), we cannot rule out that, in behavioral terms, the doses of SCH23390 and eticlopride (1  $\mu$ g, respectively) were not fully equipotent. However, this possibility is unlikely as this dose, but not a lower dose, of

SCH23390 (Ragozzino, 2002) or eticlopride (Floresco et al., 2006) microinjected into the mPFC impaired set-shifting of rats. Moreover, motor execution was intact in SCH23390 and eticlopride-treated animals as shown by unaffected MTs suggesting that drug-induced nonspecific motor effects may not account for learning impairments seen here. Consistent with this view, OFC lesion studies provide no indications of nonspecific motor symptoms (Boulougouris et al., 2007; Ferry et al., 2000; Kim and Ragozzino, 2005; Mobini et al., 2002; Schoenbaum et al., 2002; Stalnaker et al., 2007). Furthermore, an impaired reward magnitude processing may not contribute to reversal deficits as OFC lesions did not affect the ability to discriminate large from small rewards (Bohn et al., 2003b). Notably, the number of early errors remained constant or even increased during the course of acquisition and reversal in vehicle controls and drug-treated animals. This observation corresponds with previous findings (e.g. Gierler et al., 2005) and largely reflects the fact that with progressive learning animals responded faster and thus made more erroneous early responses, in particular for expected high reward, suggesting that reward magnitude expectation interferes with response preparation (Gierler et al., 2005).

Our observation that a blockade of intra-OFC D1 and D2 receptors impaired the ability to modify behavior to changing stimulus–reward magnitude contingencies supports the general notion that the OFC is critical to facilitating rapid reversal learning (Bohn et al., 2003c; Brown and Bowman, 2002; Chudasama and Robbins, 2003; Dias et al., 1996; Schoenbaum et al., 2003; see Murray et al., 2007, for a recent overview). However, a recent primate study by Clarke et al. (2007) implicated 5-HT, not DA, neurotransmission in the OFC in reversal learning. They observed that OFC DA depletion did not increase the number of errors to criterion to discriminate a rewarded and a non-rewarded stimulus during serial reversals. Yet, it is important to note that reversal learning tasks used in this and our present study differ considerably and results of experimental manipulation of OFC function on reversal learning are therefore difficult to compare. For instance, Clarke et al. (2007) determined the error rate to criterion during reversal learning in a visual discrimination task using reward predictive and non-reward predictive stimuli. By contrast, in the task used here discrimination learning is not instrumental in that reinforcement is contingent on the subject's choosing between the stimuli and the task examined whether animals can discriminate stimuli predictive of different reward magnitudes. In addition, it is possible that discrimination of stimuli predictive of high versus low reward as used here is more difficult than discrimination of reward-predictive and nonreward-predictive stimuli. Preliminary data from our task provide support to this notion (Calaminus and Hauber, unpublished observations). Furthermore, subtle effects of OFC DA depletions on guidance of response vigor by reward stimuli may be easier to detect by using RT measures than error counts, i.e. RTs of responses to expected high versus low reward measured here may provide a more sensitive index of the motiva-

tional effects of predictive stimuli. Thus, by analyzing response vigor to discriminative stimuli, our results suggest that an OFC DA depletion impaired guidance of instrumental behavior under reversal conditions possibly by affecting discrimination of the incentive value of the stimuli.

Other task differences, i.e. the use of simple versus serial reversals, may be relevant as well, in particular because the role of prefrontal DA in simple and serial reversal learning seems to be distinct. Using *in vivo* microdialysis, van der Meulen et al. (2007) examined mPFC DA efflux in rats during serial reversals in an instrumental learning task. Importantly, they found that prefrontal DA activity was increased during the execution of an instrumental discrimination task and that this increase was only detected during the first, but not during later reversals. This observation indicates that prefrontal DA plays a critical role limited to initial reversal learning. However, our microinfusions were placed more laterally (about 0.5 mm) than microdialysis probes in the study by van der Meulen et al. (2007) and the extent to which they capture OFC DA may be relatively low (Rice et al., 1985; Nicholson, 2005). Yet, it is possible that DA not only in the mPFC but also in the OFC mediates initial adaptation to changing task contingencies, whereas serial reversal learning involves additional learning mechanisms sensitive to 5-HT depletion as shown by Clarke et al. (2007). Additional studies involving different types of reversal learning tasks will be required to provide a more detailed characterization of the role of OFC DA in this type of learning.

Electrophysiological studies demonstrate that OFC neurons modify their responses to reward predictive stimuli to reflect changes in their current incentive value (Critchley and Rolls, 1996; Schoenbaum et al., 1999; Tremblay and Schultz, 1999). Thus, through signaling the current value of the expected outcome, the OFC is critical to facilitating rapid reversal learning (Murray et al., 2007). Recent studies provide evidence that DA neurons emit prediction error signals necessary to update the predictive significance of stimuli (Schultz, 2006; Roesch et al., 2007) and that such signals are present in the OFC, a target area of DA neurons (McClure et al., 2003; O'Doherty, 2003). The current findings are consistent with these findings and further suggest that D1 and D2 receptor activity in the OFC could support discriminative guidance of reward-directed behavior. Several open questions may be addressed in future studies. First, it is possible that not only reversal, but acquisition of this task also requires OFC D1 and D2 receptor activity. Second, a behavioral analysis of a combined intra-OFC D1 and D2 receptor blockade during reversal may provide further insights, e.g. additive deleterious effects could indicate that OFC D1 and D2 receptors mediate distinct behavioral functions.

DA has been implicated in a number of other aspects of OFC-mediated reward processing, e.g. delay discounting and evaluation of reinforcer magnitudes (Kheramin et al., 2004; Winstanley et al., 2005). For instance, DA depletion of the OFC increased the sensitivity to the relative size of reinforcers (Kheramin et al., 2004), however, such an effect is unlikely to account for the behavioral results

seen here. Furthermore, intra-OFC infusion of considerably higher doses of D1 and D2 antagonists as used here decreased breaking points on a progressive ratio schedule suggesting a role for OFC DA in translating motivation into action (Cetin et al., 2004). Our data provide no evidence consistent with this idea because the overall level of RT—which may be viewed as an index of general motivation—was not markedly increased after DA receptor blockade. Notably, after a D1 or D2 receptor blockade in the nucleus accumbens we obtained the opposite pattern of behavioral effects as seen here, i.e. during reversal the overall level of RTs was increased, but RTs were rapidly guided by the current reward magnitude (Calaminus and Hauber, 2006) indicating a specific role for mesoaccumbal DA systems in mediating general motivation.

#### **NMDA receptor activity and learning under reversal conditions**

Animals that received intra-OFC AP5 infusions not only had an increased number of early responses but responded with similar latencies to expected high and low reward indicating a failure to discriminate the current incentive values of reward-predictive stimuli. These results largely replicate earlier data (Bohn et al., 2003a) and suggest a role for OFC NMDA receptors in response inhibition and adapting instrumental responses under changing stimulus–reward contingencies. As in AP5-treated animals MTs were not altered relative to controls, it is unlikely that drug-induced nonspecific motor effects account for these deficits. Likewise, in our earlier study the same dose of AP5 had no nonspecific effects (Bohn et al., 2003a). Our observations that a blockade of intra-OFC NMDA receptors delayed adaptation to reversed contingencies are consistent with the view that the OFC is critical to facilitating rapid reversal learning (Murray et al., 2007). Notably, in OFC neurons encoding of predicted outcome depends on input from the basolateral amygdala (BLA) (Schoenbaum et al., 2003). Thus, it is possible that an NMDA receptor blockade inhibited a BLA-mediated update of the value of reward predictive stimuli represented in the OFC.

Our results further demonstrate an increased rate of early responses in AP5-treated animals. As AP5 did not reduce RTs in parallel, this effect may not be simply a manifestation of a general tendency to respond quickly. Instead, this increased rate of early errors may be tentatively interpreted to reflect impaired response inhibition. Whether reduced response inhibition accounts for impaired reversal learning is questionable. Chudasama et al. (2007) reported that OFC lesions do not always produce a failure to inhibit previously successful responses suggesting that an inability to inhibit prepotent responses may not provide a general explanation for reversal learning deficits associated with OFC dysfunction.

#### **The role of OFC DA and glutamate in behavioral flexibility**

There is consistent evidence from human, primate and rodent studies that central DA systems modulate reversal learning (Cools et al., 2002; Kruzich and Grandy, 2004;

Mehta et al., 2001; Ridley et al., 1981). Computational (Frank and Claus, 2006) and empirical studies (Taghzouti et al., 1985, but see Collins et al., 2000) implicated striatal DA in reversal learning. Our data suggest that OFC D1 and D2 receptor activity may contribute to guidance of instrumental behavior under reversal conditions, possibly by enhancing discrimination of the current incentive values of reward-predictive stimuli.

In line with our previous study (Bohn et al., 2003a), the present data further indicate that learning of reversed stimulus-outcome contingencies requires NMDA receptor activity in the OFC. Notably, only NMDA, not D1 and D2 receptor activity is critical in inhibition of early responses under reversal conditions. Together, these findings suggest that D1/D2 and NMDA receptor-mediated signaling in the OFC plays an important and partially overlapping role in behavioral flexibility as examined here.

*Acknowledgments*—This research was supported by the DFG (Ha2340/8-1).

## REFERENCES

- 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.
- Berger B, Gaspar P, Vemey C (1991) Dopaminergic innervation of the cerebral cortex: unexpected differences between rodents and primates. *Trends Neurosci* 14:21–27.
- Birrell JM, Brown VJ (2000) Medial frontal cortex mediates perceptual attentional set shifting in the rat. *J Neurosci* 20:4320–4324.
- Bohn I, Gierler C, Hauber W (2003a) NMDA receptors in the rat orbital prefrontal cortex are involved in guidance of instrumental behaviour under reversal conditions. *Cereb Cortex* 13:968–976.
- Bohn I, Gierler C, Hauber W (2003b) Orbital prefrontal cortex and guidance of instrumental behavior of rats by visuospatial stimuli predicting reward magnitude. *Learn Mem* 10:177–186.
- Bohn I, Gierler C, Hauber W (2003c) Orbital prefrontal cortex and guidance of instrumental behaviour in rats under reversal conditions. *Behav Brain Res* 143:49–56.
- Boulougouris V, Dalley JW, Robbins TW (2007) Effects of orbitofrontal, infralimbic and prelimbic cortical lesions on serial spatial reversal learning in the rat. *Behav Brain Res* 179:219–228.
- 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 (2002) Rodent models of prefrontal cortical function. *Trends Neurosci* 25:340–343.
- Calaminus C, Hauber W (2006) Intact discrimination reversal learning but slowed responding to reward-predictive cues after dopamine D1 and D2 receptor blockade in the nucleus accumbens of rats. *Psychopharmacology (Berl)* 191:551–566.
- Capriles N, Rodaros D, Sorge RE, Stewart J (2003) A role for the prefrontal cortex in stress- and cocaine-induced reinstatement of cocaine seeking in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 168:66–74.
- Cetin T, Freudenberg F, Fuchtemeier M, Koch M (2004) Dopamine in the orbitofrontal cortex regulates operant responding under a progressive ratio of reinforcement in rats. *Neurosci Lett* 370:114–117.
- Chudasama Y, Kralik JD, Murray EA (2007) Rhesus monkeys with orbital prefrontal cortex lesions can learn to inhibit prepotent responses in the reversed reward contingency task. *Cereb Cortex* 17:1154–1159.
- Chudasama Y, Robbins TW (2003) Dissociable contributions of the orbitofrontal and infralimbic cortex to pavlovian autoshaping and discrimination reversal learning: further evidence for the functional heterogeneity of the rodent frontal cortex. *J Neurosci* 23:8771–8780.
- Clarke HF, Walker SC, Dalley JW, Robbins TW, Roberts AC (2007) Cognitive inflexibility after prefrontal serotonin depletion is behaviorally and neurochemically specific. *Cereb Cortex* 17:18–27.
- Collins P, Wilkinson LS, Everitt BJ, Robbins TW, Roberts AC (2000) The effect of dopamine depletion from the caudate nucleus of the common marmoset (*Callithrix jacchus*) on tests of prefrontal cognitive function. *Behav Neurosci* 114:3–17.
- Cools R, Clark L, Owen AM, Robbins TW (2002) Defining the neural mechanisms of probabilistic reversal learning using event-related functional magnetic resonance imaging. *J Neurosci* 22:4563–4567.
- Critchley HD, Rolls ET (1996) Hunger and satiety modify the responses of olfactory and visual neurons in the primate orbitofrontal cortex. *J Neurophysiol* 75:1673–1686.
- De Bruin JP, 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) Primate analogue of the Wisconsin Card Sorting Test: effects of excitotoxic lesions of the prefrontal cortex in the marmoset. *Behav Neurosci* 110:872–886.
- Ferry AT, Lu XC, Price JL (2000) Effects of excitotoxic lesions in the ventral striatopallidal-thalamocortical pathway on odor reversal learning: inability to extinguish an incorrect response. *Exp Brain Res* 131:320–335.
- Floresco SB, Magyar O, Ghods-Sharifi S, Vexelman C, Tse MT (2006) Multiple dopamine receptor subtypes in the medial prefrontal cortex of the rat regulate set-shifting. *Neuropsychopharmacology* 31:297–309.
- Frank MJ, Claus ED (2006) Anatomy of a decision: striato-orbitofrontal interactions in reinforcement learning, decision making, and reversal. *Psychol Rev* 113:300–326.
- Gaspar P, Bloch B, Le Moine C (1995) D1 and D2 receptor gene expression in the rat frontal cortex: cellular localization in different classes of efferent neurons. *Eur J Neurosci* 7:1050–1063.
- Ghods-Sharifi S, Haluk DM, Floresco SB (2008) Differential effects of inactivation of the orbitofrontal cortex on strategy set-shifting and reversal learning. *Neurobiol Learn Mem* 89:567–573.
- Gierler C, Bohn I, Hauber W (2003) The rat nucleus accumbens is involved in guiding of instrumental responses by stimuli predicting reward magnitude. *Eur J Neurosci* 18:1993–1996.
- Gierler C, Bohn I, Hauber W (2004) Transient inactivation of the rat nucleus accumbens does not impair guidance of instrumental behaviour by stimuli predicting reward magnitude. *Behav Pharmacol* 15:55–63.
- Gierler C, Bohn I, Hauber W (2005) Involvement of NMDA and AMPA/KA receptors in the nucleus accumbens core in instrumental learning guided by reward-predictive cues. *Eur J Neurosci* 21:1689–1702.
- Goldman-Rakic PS, Lidow MS, Smiley JF, Williams MS (1992) The anatomy of dopamine in monkey and human prefrontal cortex. *J Neural Transm Suppl* 36:163–177.
- Granon S, Passetti F, Thomas KL, Dalley JW, Everitt BJ, Robbins TW (2000) Enhanced and impaired attentional performance after infusion of D1 dopaminergic receptor agents into rat prefrontal cortex. *J Neurosci* 20:1208–1215.
- Hollerman JR, Tremblay L, Schultz W (1998) Influence of reward expectation on behaviour-related neuronal activity in primate striatum. *J Neurophysiol* 80:947–963.
- Izquierdo A, Suda RK, Murray EA (2004) Bilateral orbital prefrontal cortex lesions in rhesus monkeys disrupt choices guided by both reward value and reward contingency. *J Neurosci* 24:7540–7548.
- Kheramin S, Body S, Ho MY, Velazquez-Martinez DN, Bradshaw CM, Szabadi E, Deakin JF, Anderson IM (2004) Effects of orbital pre-

- frontal cortex dopamine depletion on inter-temporal choice: a quantitative analysis. *Psychopharmacology (Berl)* 175:206–214.
- Kim J, Ragozzino ME (2005) The involvement of the orbitofrontal cortex in learning under changing task contingencies. *Neurobiol Learn Mem* 83:125–133.
- Kruzich PJ, Grandy DK (2004) Dopamine D2 receptors mediate two-odor discrimination and reversal learning in C57BL/6 mice. *BMC Neurosci* 5:12.
- Lidow MS, Goldman-Rakic PS, Gallager DW, Rakic P (1991) Distribution of dopaminergic receptors in the primate cerebral cortex: quantitative autoradiographic analysis using [<sup>3</sup>H]raclopride, [<sup>3</sup>H]spiperone and [<sup>3</sup>H]SCH23390. *Neuroscience* 40:657–671.
- McClure SM, Daw ND, Montague PR (2003) A computational substrate for incentive salience. *Trends Neurosci* 26:423–428.
- Mehta MA, Swanson R, Ogilvie AD, Sahakian J, Robbins TW (2001) Improved short-term spatial memory but impaired reversal learning following the dopamine D(2) agonist bromocriptine in human volunteers. *Psychopharmacology (Berl)* 159:10–20.
- Mishkin S (1964) The interdependence of clinical neurology and neurophysiology. An historical review of the vestibulo-ocular reflex. *Mcgill Med J* 33:80–97.
- 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.
- Murray EA, O'Doherty JP, Schoenbaum G (2007) What we know and do not know about the functions of the orbitofrontal cortex after 20 years of cross-species studies. *J Neurosci* 27:8166–8169.
- Nicholson C (2005) Factors governing diffusing molecular signals in brain extracellular space. *J Neural Transm* 112:29–44.
- O'Doherty J (2003) Can't learn without you: predictive value coding in orbitofrontal cortex requires the basolateral amygdala. *Neuron* 39:731–733.
- Paxinos G, Watson C (1997) The rat brain in stereotaxic coordinates. New York: Academic Press.
- Ragozzino ME, Wilcox C, Raso M, Kesner RP (1999) Involvement of rodent prefrontal cortex subregions in strategy switching. *Behav Neurosci* 113:32–41.
- Ragozzino ME (2002) The effects of dopamine D(1) receptor blockade in the prefrontal-infralimbic areas on behavioral flexibility. *Learn Mem* 9:18–28.
- Rice ME, Gerhardt GA, Hierl PM, Nagy G, Adams RN (1985) Diffusion coefficients of neurotransmitters and their metabolites in brain extracellular fluid space. *Neuroscience* 15:891–902.
- Ridley RM, Haystead TA, Baker HF (1981) An analysis of visual object reversal learning in the marmoset after amphetamine and haloperidol. *Pharmacol Biochem Behav* 14:345–351.
- Roesch MR, Calu DJ, Schoenbaum G (2007) Dopamine neurons encode the better option in rats deciding between differently delayed or sized rewards. *Nat Neurosci* 10:1615–1624.
- 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, 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, Nugent SL, Saddoris MP, Gallagher M (2003) Lesions of orbitofrontal cortex and basolateral amygdala complex disrupt acquisition of odor-guided discriminations and reversals. *Learn Mem* 10:129–140.
- Schultz W (2006) Behavioral theories and the neurophysiology of reward. *Annu Rev Psychol* 57:87–115.
- Schweimer J, Hauber W (2006) Dopamine D1 receptors in the anterior cingulate cortex regulate effort-based decision making. *Learn Mem* 13:777–782.
- Seamans JK, Floresco SB, Phillips AG (1998) D1 receptor modulation of hippocampal-prefrontal cortical circuits integrating spatial memory with executive functions in the rat. *J Neurosci* 18:1613–1621.
- Sesack SR, Snyder CL, Lewis DA (1995) Axon terminals immunolabeled for dopamine or tyrosine hydroxylase synapse on GABA-immunoreactive dendrites in rat and monkey cortex. *J Comp Neurol* 363:264–280.
- Stalnaker TA, Franz TM, Singh T, Schoenbaum G (2007) Basolateral amygdala lesions abolish orbitofrontal-dependent reversal impairments. *Neuron* 54:51–58.
- Stefani MR, Moghaddam B (2003) Distinct contributions of glutamate receptor subtypes to cognitive set-shifting abilities in the rat. *Ann N Y Acad Sci* 1003:464–467.
- Sun W, Rebec GV (2005) The role of prefrontal cortex D1-like and D2-like receptors in cocaine-seeking behavior in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 177:315–323.
- Sutton RS, Barto AG (1990) Time derivative models of pavlovian reinforcement. In: *Learning and computational neuroscience: foundations of adaptive networks* (Gabriel M, Moore J, eds), pp 49–537. Cambridge, MA: MIT Press.
- Taghzouti K, Louilot A, Herman JP, Le Moal M, Simon H (1985) Alternation behavior, spatial discrimination, and reversal disturbances following 6-hydroxydopamine lesions in the nucleus accumbens of the rat. *Behav Neural Biol* 44:354–363.
- Thorpe SJ, Rolls ET, Maddison S (1983) The orbitofrontal cortex: neuronal activity in the behaving monkey. *Exp Brain Res* 49:93–115.
- Tremblay L, Schultz W (1999) Relative reward preference in primate orbitofrontal cortex. *Nature* 398:704–708.
- van der Meulen JA, Joosten RN, de Bruin JP, Feenstra MG (2007) Dopamine and noradrenaline efflux in the medial prefrontal cortex during serial reversals and extinction of instrumental goal-directed behavior. *Cereb Cortex* 17:1444–1453.
- Winstanley CA, Theobald DE, Dalley JW, Robbins TW (2005) Interactions between serotonin and dopamine in the control of impulsive choice in rats: therapeutic implications for impulse control disorders. *Neuropsychopharmacology* 30:669–682.

Neurotox Res (2009) 15:97–110  
DOI 10.1007/s12640-009-9009-1

## Modulation of Behavior by Expected Reward Magnitude Depends on Dopamine in the Dorsomedial Striatum

Carsten Calaminus · Wolfgang Hauber

Received: 12 November 2008 / Revised: 20 January 2009 / Accepted: 26 January 2009 / Published online: 12 February 2009  
© Springer Science+Business Media, LLC 2009

**Abstract** Reward-predictive cues are important to guide behavioral responding. In a series of experiments, we sought to characterize the role of dopamine in the dorsomedial striatum in modulation of reward-directed responding by visual cues. Different groups of rats subjected to infusion of 6-hydroxydopamine or vehicle into the posterior part of the dorsomedial striatum (pDMS) were tested in three experiments. In *experiment 1*, rats were examined in an operant task demanding a lever release response. In intact rats, reaction times of responding were reliably shorter on cued large reward trials than on cued small reward trials. Results showed that pDMS dopamine depletion impaired reward-dependent modulation of reaction times, if visual cues predict large versus small reward, but not if visual cues predict reward versus no reward. These observations suggest that dopamine signaling in the pDMS contributes to a process through which reward-directed responses become guided by cues associated with distinct reward magnitudes. *Experiment 2* revealed that pDMS dopamine depletion did not compromise the acquisition of a conditional visual discrimination task in an operant box that required learning a rule of the type “if the cue light is bright press left lever for reward, if dim press right lever”. Furthermore, *experiment 3* showed that pDMS dopamine depletion did not impair the acquisition of a cross maze task that required learning a visual cue discrimination strategy to obtain food reward. Together results of experiments 2 and 3 indicate that dopamine signaling in the pDMS does not subserve stimulus discrimination per se and stimulus-response learning.

**Keywords** Dorsal striatum · Reward · Dopamine · Rat · Lesion · Learning

### Introduction

Environmental cues predictive of reward powerfully influence the vigor of reward-seeking responses (Gold 2003). For example, in addicts cues predictive of drug reward can elicit craving, support compulsive drug use or precipitate relapse to drug-seeking behavior (O’Brien et al. 1998; Volkow et al. 2006). Considerable evidence suggests that the dorsal striatum is important in mediating the impact of reward-predictive stimuli on behavior. For example, electrophysiological studies demonstrated that the dorsal striatum is involved in the acquisition of stimulus-reward (Aosaki et al. 1994) and stimulus-response associations (Barnes et al. 2005; Brasted and Wise 2004; Jog et al. 1999; Yin and Knowlton 2004) as well as in stimulus-guided performance (Adams et al. 2001; Bailey and Mair 2006; Cromwell and Schultz 2003; Hassani et al. 2001; Kawagoe et al. 1998; Samejima et al. 2005; Tremblay et al. 1998). Different subregions of the dorsal striatum play distinct roles in the modulation of behavior by reward-predictive cues. Lesion studies in rats suggest that the sensorimotor subregion of the dorsal striatum, i.e., the dorsolateral striatum, is critically involved in stimulus-response learning (Yin and Knowlton 2004) and in mediating excitatory effects of reward-predictive cues on responding (Corbit and Janak 2007). By contrast, the associative subregion of the dorsal striatum, i.e., the dorsomedial striatum (DMS), mediates the influence of specific stimulus-outcome associations to produce selective responding (Corbit and Janak 2007). Furthermore, recent findings indicate a functional dissociation of the anterior and posterior part of the DMS.

C. Calaminus · W. Hauber (✉)  
Abteilung Tierphysiologie, Biologisches Institut, Universität  
Stuttgart, Pfaffenwaldring 57, 70550 Stuttgart, Germany  
e-mail: hauber@bio.uni-stuttgart.de

(Yin et al. 2005a, b) demonstrated that the posterior DMS (pDMS), but not the anterior DMS, is crucial for encoding the outcomes associated with actions. Relatively little is known about the role of pDMS in behavioral modulation by reward-predictive cues. Therefore, we set out to examine how the pDMS modulates reward-seeking responses that are guided by visual cues. In particular, we were interested how dopamine (DA) influences these processes. There is substantial evidence that DA signals carry information about the reward predicted by distinct cues (Schultz 2007; Tobler et al. 2005). Hence, it is possible that this phasic activity of DA neurons represents a teaching signal conveyed to the dorsal striatum, including the pDMS, which is critical for reward-dependent modulation of behavior by visual cues. In this study, we tested rats subjected to a pDMS DA depletion (i) in an operant task demanding a lever release response that was guided by visual cues predictive of reward, (ii) in a conditional visual discrimination task in an operant box that required learning a rule of the type “if the cue light is bright press left lever for reward, if dim press right lever”, and, (iii) in a cross maze task that required learning a visual cue discrimination strategy to obtain food reward.

## Materials and Methods

All animal experiments were conducted according to the European Communities Council Directive of November 24, 1986 (86/609/EEC) as well as the German Law on Animal Protection and were approved by the proper authorities in Stuttgart, Germany. All efforts were made to minimize the number of animals used and their suffering.

### Experiment 1A

This experiment examined the effects of a pDMS DA depletion on acquisition of a reaction time (RT) task that required a lever release response to obtain high or low reward as signaled in advance.

### Animals

Fifteen Lister-Hooded rats (Harlan-Winkelmann, Borcheln, Germany) were housed in transparent plastic cages (55 × 39 × 27 cm, Ferplast, Nürnberg, Germany). Temperature (20 ± 2°C) and humidity (50–60%) in the animal house were kept constant and a 12:12-h light–dark schedule was used with lights on between 19:00 h and 7:00 h. Rats were given ad libitum access to water; food was restricted to 15 g per animal and day. On days without behavioral testing, rats received 15 g standard laboratory maintenance chow (Altromin, Lage, Germany). On days

with behavioral tests, rats received in the testing apparatus food pellets as reward (45 mg pellets, Bioserv, Frenchtown, USA). On these days, the amount of standard laboratory chow given was reduced to 12 g. Rats weighed 200–210 g on arrival and 250–270 g at the time of surgery.

### Surgery

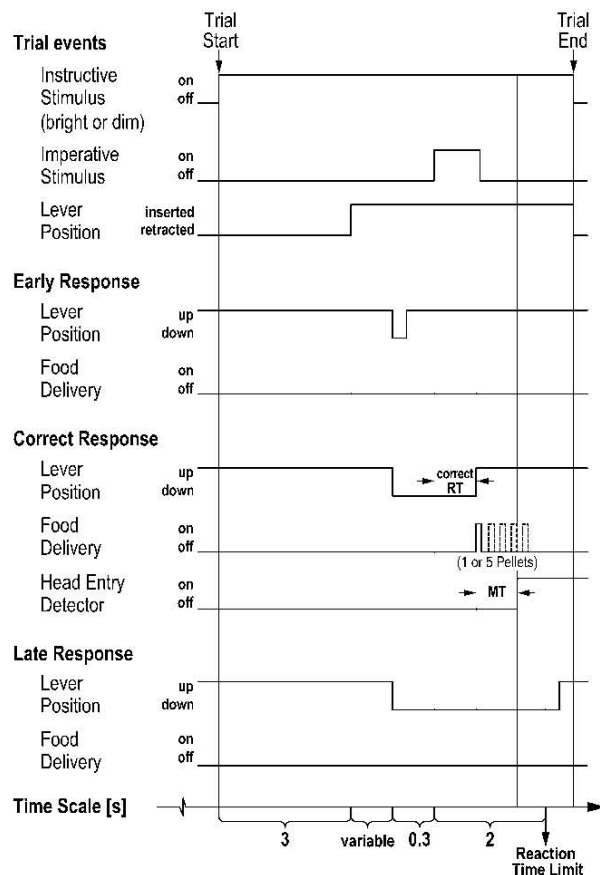
For stereotaxic surgery, animals were pretreated with atropine (0.2 mg/kg i.p.; WDT, Garbsen, Germany), anaesthetized with sodium pentobarbital (60 mg/kg i.p.; Medial GmbH, Hallbergmoos, Germany) and xylazine (4 mg/kg i.m.; Bayer AG, Leverkusen, Germany) and secured in a Kopf stereotaxic apparatus (Kopf Instruments, Tujunga, USA). Rats received either bilateral dopamine lesions ( $n = 7$ ) by injecting 6 µg 6-hydroxydopamine (6-OHDA) in 0.4 µl 0.01% ascorbic acid or sham lesions ( $n = 8$ ) into the pDMS using a blunt stainless steel cannula with an outer diameter of 0.4 mm. The coordinates were 0.4 mm posterior bregma, 2.6 mm lateral to midline, and 5.0 mm ventral from the skull with the toothbar –3.3 mm below the interaural line. Coordinates were determined from the atlas of Paxinos and Watson (1997). Each rat was given at least 7 days to recover from surgery before behavioral testing was started.

### Apparatus

Six experimental chambers (24 × 21 × 30 cm) (Med Associates, St. Albans, VT, USA) were used. Each chamber was supplied with a retractable lever, two stimulus lights (one above the retractable lever, the other above the food receptacle) and encased in a sound attenuating cubicle with a fan providing a constant low level of background noise. Each food receptacle was equipped with an infrared head entry detector. The experiments were controlled online by a Windows 98™ based computer system equipped with SmartControl®-Interfaces and the MedPC™-Software (Med Associates, St. Albans, VT, USA).

### RT Task

A simplified schematic of the order of trial events is given in Fig. 1. First, an instructive stimulus above the food receptacle was turned on at one of two brightness levels indicating the upcoming reward magnitudes (one or five pellets, 45 mg pellets, Bioserv, Frenchtown, USA), 3 s later the lever was inserted. Thereafter, a trained rat pressed the inserted lever spontaneously. After a foreperiod of 0.3 s, an imperative stimulus provided by a stimulus light above the lever signaled the animal to release the lever. Responses with RT < 2 s were considered as being correct and were rewarded. Early responses initiated before the



**Fig. 1** Schematic representation of the order of trial events. First, an instructive stimulus was turned on at one of two brightness levels indicating the upcoming reward magnitudes (one or five pellets). Thereafter, the rat pressed the inserted lever spontaneously. After a foreperiod of 0.3 s, the imperative stimulus signaled the animal to release the lever. Responses with  $RT < 2$  s were considered as being correct and were rewarded. Early responses initiated before the onset of the imperative stimulus or late responses ( $RT \geq 2$  s) caused the trial to be repeated

onset of the imperative stimulus or late responses ( $RT \geq 2$  s) caused the trial to be repeated. After an inter-trial interval of 3 s, the instructive stimulus was turned on again thereby signaling the beginning of a new trial. The reward magnitude (low/high) for each trial was pseudo-randomly determined in advance. Brightness levels of instructive stimuli were counterbalanced, i.e., for 50% of the rats a bright stimulus was associated with low reward and a dim stimulus was associated with high reward. For the other 50% of the rats, the opposite pattern was used. A daily session demanded 40 correct trials, i.e., 20 correct trials for low and high reward.

Reaction time was defined as latency from the onset of the imperative stimulus to lever release, movement time (MT) was defined as latency from lever release to photo-beam disruption in the food receptacle. Both measures

were recorded with an accuracy of  $<10$  ms and calculations on RT and MT values were conducted with data from correct trials ( $RT < 2$  s). Furthermore, the overall number of trials (early + correct + late responses) to reach the criterion of 40 correct responses was counted and used as an index of the accuracy of performance. These measures allow a detailed analysis of the guidance of behavior by reward-predictive stimuli. Response latencies measured by RTs become shorter for expected high versus low reward. Therefore, the RT differences of responses for expected low and high reward are a sensitive index of discrimination of stimulus-associated reward values. Response accuracy measured by the number of responses necessary to reach a fixed criterion of 40 correct responses was used as an index of learning the contingency. Incorrect, i.e., early and late responses permitted us to further assess lesion effects on response preparation.

## Experimental Procedures

### *Preoperative Habituation*

In the first two habituation sessions, subjects were adapted to the experimental chamber with access to food pellets placed into the food receptacle. In the following five sessions, a habituation program with a fixed ratio-1 schedule commenced until a criterion of 20 consecutive lever responses was attained. Afterward, rats were subjected to surgery.

### Acquisition

After postoperative recovery, the experiment was started with one daily session. On days 1–18, acquisition of the RT task described above was examined.

### Data Analysis

In line with earlier studies (e.g., Calaminus and Hauber 2007), subjects perceived brightness levels of instructive stimuli equally, i.e., for a given reward magnitude level mean accuracy and RT values obtained with a bright or a dim stimulus did not differ significantly (data not shown). Therefore, response measures for a given reward magnitude obtained with bright and dim instructive stimuli were collapsed. Data are expressed as means  $\pm$  standard error of the mean (SEM) from blocks of two sessions. The calculations on RT and MT performance were conducted with data from correct trials ( $RT < 2$  s). When averaging RT and MT data, a geometric mean was calculated for each rat and session, as the geometric mean is less influenced by outlying data points than is the arithmetic mean. Overall, RT and MT means of responses associated with the high



and low reward magnitude represent the arithmetic average of the geometric means of individual rats.

Data was subjected to repeated measures analysis of variance (ANOVA). Numbers of correct and early responses and RTs and MTs of correct responses of blocks 1–9 were compared using an ANOVA with treatment group as between-subjects factor and reward magnitude and blocks as within-subjects (repeated measures) factors. For a detailed analysis, RTs of correct responses for high and low reward were subjected to a planned contrast analysis, i.e., for each block and group, mean  $RT_{low\ reward}$  versus mean  $RT_{high\ reward}$  were compared separately by linear contrasts. All statistical computations were carried out with STATISTICA™ (version 7.1, StatSoft®, Inc., Tulsa, OK, USA). The level of statistical significance ( $\alpha$ -level) was set at  $P < 0.05$ .

#### Immunohistochemistry

After behavioral testing, animals were killed by an overdose of isoflurane (cp-pharma, Burgdorf, Germany), perfused transcardially with 0.05% buffered heparin solution followed by a 4% buffered formalin solution. The brains were extracted, postfixed in a 4% buffered formalin solution for 24 h and then transferred into a 30% sucrose solution for at least 48 h. Coronal brain sections were cut (40  $\mu$ m; Microm HM550, Microm GmbH, Walldorf, Germany) in the region of the pDMS. The slices were initially washed in tris-buffered saline (TBS;  $3 \times 10$  min), treated for 15 min with TBS containing 2% hydrogen peroxide and 10% methanol, washed again in TBS ( $3 \times 10$  min) and then blocked for 20 min with 4% natural horse serum (NHS; Vector Laboratories Burlingame, CA, USA) in TBS containing 0.2% Triton X-100 (Sigma Aldrich; TBS-T). Slices were incubated overnight at 4°C in a primary antibody (mouse, anti-TH, 1:7500 in TBS-T containing 4% NHS; Immunostar, Hudson, WI, USA), then washed in TBS-T ( $3 \times 10$  min) and incubated in a secondary antibody (horse, anti-mouse, rat-adsorbed, biotinylated IgG (H + L), 1:500 in TBS-T containing 4% NHS; Vector Laboratories) for 90 min at room temperature. Using the biotin-avidin system, slices were washed in TBS-T containing the avidin-biotinylated enzyme complex (1:500, ABC-Elite Kit; Vector Laboratories) for 60 min at room temperature, washed in TBS ( $3 \times 10$  min.) and stained with 3,3'-diaminobenzidine (DAB Substrate Kit, Vector Laboratories). The brain slices were then washed in TBS ( $3 \times 10$  min), mounted on coated slides, dried overnight, dehydrated in ascending alcohol concentrations, treated with xylene and finally coverslipped using DePex (Serva, Heidelberg, Germany). The sections were examined with a microscope to determine placement and size of the lesions.

#### Experiment 1B

Experiment 1B was performed to reproduce findings from experiment 1A. Unless otherwise noted the same procedures as in experiment 1 were used.

#### Animals

Sixteen Lister-Hooded rats (Harlan-Winkelmann, Borcheln, Germany) were used weighing 190–210 g on arrival and 250–270 g at the time of surgery.

#### Surgery

Rats received bilateral infusions of 6  $\mu$ g 6-OHDA in 0.4  $\mu$ l vehicle ( $n = 8$ ) or vehicle ( $n = 8$ ) into the pDMS. Each rat was given at least 7 days to recover from surgery before behavioral testing was started.

#### RT Task

A RT task as used in experiment 1A was employed. After nine blocks of training, the reward magnitude predicted by cues were changed for one block (=2 days) as follows: the high reward was raised to from 5 to 7 pellets, whereas the low reward was kept at 1 pellet. Thereafter, for another block, the high reward was set at 5 pellets, the low reward at 0 pellets (no reward). These task conditions were introduced to characterize lesion-induced impairments observed in experiment 1A in more detail.

#### Procedures

In experiment 1B, habituation and acquisition was performed as described in experiment 1A. After 18 and 20 days of acquisition, respectively, stimulus-reward magnitude contingencies were changed as described above.

#### Data Analysis

Data of the RT task was collected as in experiment 1A and subjected to repeated measures analysis of variance (ANOVA). Numbers of correct and early responses and RTs and MTs of correct responses during acquisition on blocks 1–9 and on blocks 10 and 11 were compared using separate ANOVAs with treatment group as between-subjects factor and reward magnitude and blocks as within-subjects factors. For a detailed analysis, RTs of correct responses for high and low reward were subjected to a planned contrast analysis, i.e., for each block and group, mean  $RT_{low\ reward}$  versus mean  $RT_{high\ reward}$  were compared separately by linear contrasts. All statistical

computations were carried out with STATISTICA™ (version 7.1, StatSoft®, Inc., Tulsa, OK, USA). The level of statistical significance ( $\alpha$ -level) was set at  $P < 0.05$ .

#### Immunohistochemistry (TH-Staining)

After behavioral testing, rats were killed and brains were dissected as described in experiment 1A.

#### Experiment 2

This experiment examined the effects of a pDMS DA depletion on acquisition of conditional discrimination task.

#### Animals

Twenty-three Lister-Hooded rats (Harlan-Winkelmann, Borchon, Germany) weighing 190–210 g on arrival and 240–270 g at the time of surgery were kept under the same conditions as described in experiment 1A.

#### Surgery

Rats received infusions of 6-OHDA ( $n = 12$ ) or vehicle ( $n = 11$ ) into the pDMS. Each rat was given at least 7 days to recover from surgery before behavioral testing was started.

#### Apparatus

Six experimental chambers (24 × 21 × 30 cm) (Med Associates, St. Albans, VT, USA) were used. Each chamber was supplied with two retractable levers, three stimulus lights (one above each retractable lever, the other above the food receptacle) and encased in a sound attenuating cubicle with a fan providing a constant low level of background noise. Each food receptacle was equipped with an infrared head entry detector.

#### CVD Task

This task required rats to discriminate a bright and a dim predictive cue provided by a stimulus light above the food receptacle, to press at an assigned lever and to release this lever, if a second cue, the imperative stimulus, above the lever was provided. Half of the rats learned the rule “if the instructive is bright press the right lever, if dim press the left lever” the other half learned the opposite rule. Thus, this conditional visual discrimination (CVD) task requires learning of a cue-response rule, but is—regarding the sensorimotor demands—very similar to the RT task used in experiment 1.

#### Habituation

On the first day, rats were habituated to the operant box in a single 15-min session with the cue light above the food receptacle illuminated. Every 5 s, one pellet (45 mg pellets, Bioserv, Frenchtown, USA) was delivered. On the following 6 days, rats learned in one daily session to associate the brightness of the predictive stimulus, i.e., bright or dim, provided above the food receptacle with pressing the assigned lever, i.e., left or right. During these sessions, the predictive cue was turned on in a pseudo-random order at one of two brightness level and the associated lever was introduced, respectively. After the rat pressed this lever, the predictive cue was extinguished, the lever retracted and one pellet delivered in the food receptacle. After an inter-trial interval of 3 s, a new trial was initiated. A session ended after 20 presses for each lever.

#### Acquisition

Following habituation, the acquisition of the CVD task was examined. The order of trial events was as follows: first, an instructive stimulus above the food receptacle was turned on at one of two brightness levels indicating the right or left lever as being correct in a counterbalanced way. Three second later, both levers were introduced into the operant box. Thereafter, a rat had to press the correct lever within 20 s. An incorrect response resulted in retraction of the both levers, extinction of the house light as well as the instructive cue and a 5 s time-out. After time-out, the house light was illuminated again for 5 s before a new predictive cue was presented. In order to match sensorimotor demands of this task and those of the RT task used in experiment 1, an animal had to press the correct lever for at least 0.3 s. After this delay an imperative stimulus provided by a stimulus light above the lever signaled the animal to release the lever. An early lever release (<0.3 sec) resulted in a time-out. On each correct trial, the rats received one food pellet. After an intertrial interval of 3 s, the instructive stimulus was turned on again at the beginning of new trial 3 s before lever insertion and remained present until delivery of the food reward. A session was terminated after 30 min. The following parameters were measured: (1) number of correct responses, (2) RTs defined as latency between imperative cue onset and the lever release, (3) errors of omission defined as failure to respond within 20 s after lever insertion.

#### Data Analysis

Data of eight blocks consisting of five sessions each were analyzed. Accuracy scores as well as RTs and errors of

omission were each analyzed by a two-way ANOVA with repeated measures using treatment group as between-subjects factor and blocks as within-subjects factor. Statistical analyses were performed using STATISTICA™ (version 7.1, StatSoft®, Inc., Tulsa, OK, USA). The level of statistical significance ( $\alpha$ -level) was set at  $P < 0.05$ .

#### Immunohistochemistry (TH-Staining)

Rats were killed and brains were dissected after behavioral testing as described in experiment 1A.

#### Experiment 3

This experiment examined the effects of a pDMS DA depletion on acquisition of a visual discrimination task in a cross maze in which rats were required to choose the arm that contained the visual cue predictive for reward.

#### Animals

Twenty Lister-Hooded rats (Harlan-Winkelmann, Borcheln, Germany) weighing 190–210 g on arrival and 240–270 g at the time of surgery were kept under the same conditions as described in experiment 1A.

#### Surgery

Rats received an infusion of 6  $\mu$ g 6-OHDA in 0.4  $\mu$ l vehicle ( $n = 10$ ) or vehicle ( $n = 10$ ) into the pDMS. Each rat was given at least 7 days to recover from surgery before behavioral testing was started.

#### Apparatus

A four arm cross maze made of gray plastic was used. Each arm was 60 cm long and 10 cm wide, with 20 cm high walls on each arm and with round glass food wells (2 cm wide  $\times$  1 cm deep) placed 2 cm from the end wall. Four removable table legs attached to the ends of each arm elevated the maze 100 cm above the floor. A removable piece of plastic insert was used to block the arms of the maze to form a “T” configuration.

#### Spatial Visual Discrimination Task

##### Habituation

On the day prior to their initial exposure to the maze, rats were given free access to pellets (45 mg pellets, Bioserv, Frenchtown, USA) in their homecages. On the first day of habituation, 20 pellets were distributed in the maze; 2 pellets in the food wells and 3 down the length of the 4

arms. A rat was placed in the middle of the maze and was allowed to consume all food pellets within 15 min. If the rat consumed all pellets before 15 min passed, the rat was removed and placed back into the homecage. Subsequent habituation sessions were similar to the first, except that only one pellet was placed at the end of each arm. Whenever the rat traversed the entire length of the arm and consumed the pellet, it was picked up and placed back in the center of the maze. This procedure was conducted to habituate the animal to repeated handling after consuming the reward. After approximately 5 days of training, all rats consumed all four food pellets at least 4 times during a 15 min period. On the last day of habituation, a plastic insert was placed in the entrance of one arm to form a “T” configuration. Two different arms were equipped with either a black or a black/white striped floor covering serving as visual cues. For 50% of the animals the black, and for the other 50% the black/white striped covering was predictive for one food pellet. Each session comprised 12 trials. For the first 7 trials, the location of the stem and the choice arm relative to the spatial cues in the room was the same for one rat, but varied across animals. On the last 5 trials the location of the choice arms were changed, so that the rat was required to make the appropriate turn in the opposite direction as before to get a food pellet. Responses were counted as correct or incorrect after the rat traversed the whole length of the arm. Between trials animals were placed back in their homecages for an intertrial interval of 15 s. After 12 consecutive trials, the session ended and on the next day the visual discrimination test began.

##### Acquisition

Choice behavior was tested in one session with a criterion of 10 consecutive correct trials. The location of the start arm and arms containing the rewarded and non-rewarded visual cue were varied according to a preset pseudorandom sequence that was different for each animal. On an individual trial, the rat was placed into the stem arm and had to choose the correct arm to receive a food pellet. The rat was picked up after consuming the food pellet, or reaching the end of the non-rewarded arm. Then, it was placed back in the homecage and for inter-trial interval of 15 s. The session was completed, if the criterion of 10 consecutive correct trials was reached. There was no trial or time limit in achieving this criterion. The following measures were taken for each rat and used for data analysis: (1) trials to criterion, defined as the number of trials an animal required to reach criterion of 10 correct consecutive choices and (2) response latencies from each correct response defined as time from placing an animal into the start arm until arrival at the food well in the rewarded arm.

## Data Analysis

Trials to criterion and response latency data obtained on visual discrimination day were analyzed by a one-way ANOVA with treatment group as a between subjects factor.

## Immunohistochemistry (TH-staining)

The day after behavioral testing rats were killed and brains were dissected as described in experiment 1A.

## Results

### Histology

Figure 2a provides a schematic representation of the extent of striatal damage based on all animals with 6-OHDA lesions in experiments 1–3. The lesion placements were assessed by reconstructing the damaged areas on standard stereotaxic atlas templates from Paxinos and Watson (1997). Loss of TH-positive fibers in the pDMS appeared from about +0.2 to –0.8 relative to bregma. Few animals had relatively small ( $n = 4$ ) or large ( $n = 3$ ) lesions. Typical lesions were confined largely to the medial striatum, minimal damage to the more lateral parts of the striatum was observed only occasionally. No evidence was found for a loss of TH-positive fibers in regions anterior to the pDMS. A representative photomicrograph of a typical pDMS lesion is shown in Fig. 2b. In experiments 1A, 2, and 3 one rat was excluded, respectively, due to either a misplaced or unilateral 6-OHDA lesion of the pDMS.

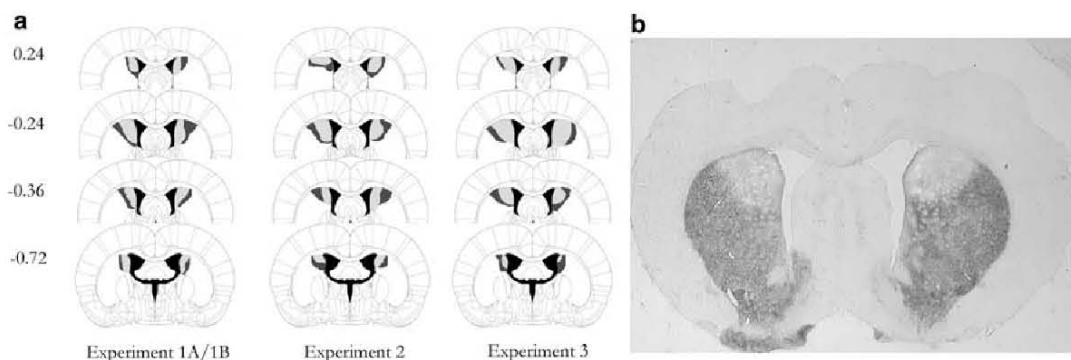
## Experiment 1A: Effects of pDMS DA Depletion in the RT Task

### Accuracy of Performance

As observed in previous studies (Calaminus and Hauber 2007; Gierler et al. 2005), rats needed approximately 50–60 trials to achieve the criterion of 40 correct responses (20 responses with  $RT < 2$  s for each reward magnitude). As incorrect trials largely reflected early errors, only this type of errors was given. 6-OHDA lesion had no effect on the number of early errors (Fig. 3) and the number of trials to reach criterion (data not shown). Three-way ANOVA on the number of early responses revealed no main effects of group but a trend to a main block effect ( $F_{(8,104)} = 2.02$ ,  $P = 0.051$ ) as well as an effect of reward magnitude ( $F_{(1,13)} = 16.06$ ,  $P = 0.001$ ) without treatment  $\times$  reward magnitude interaction ( $F < 1$ , n.s.). Similarly, an ANOVA on the trials to reach criterion indicated no main effects of group ( $F < 1$ , n.s.), but a trend to a main block effect ( $F_{(8,104)} = 2.02$ ,  $P = 0.051$ ) and an effect of reward magnitude ( $F_{(1,13)} = 16.06$ ,  $P = 0.001$ ) (Table 1).

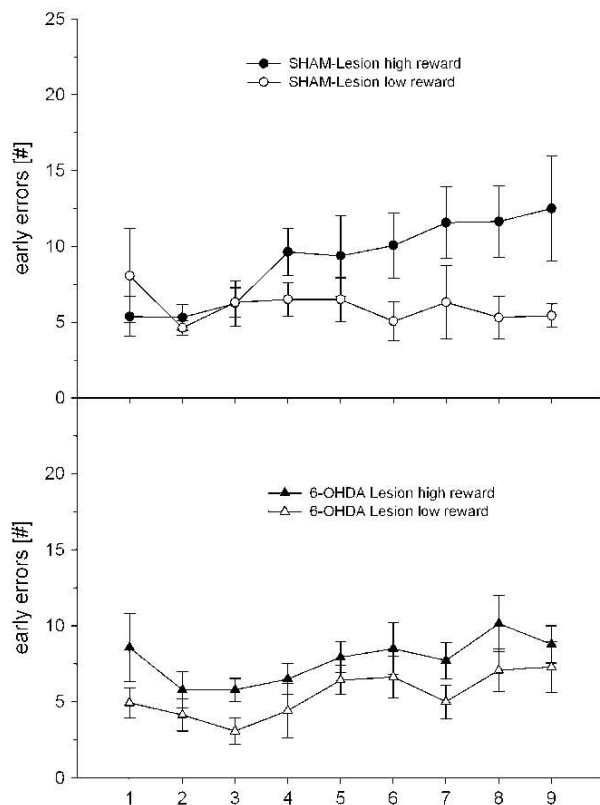
### Reaction Times

As shown in Fig. 4, RTs of 6-OHDA-lesioned and sham-lesioned animals significantly decreased over blocks ( $F_{(8,104)} = 27.38$ ,  $P < 0.0001$ ) and were guided by expected reward magnitude ( $F_{(1,13)} = 21.82$ ,  $P < 0.001$ ). An ANOVA also revealed a significant reward magnitude  $\times$  treatment interaction ( $F_{(1,13)} = 7.76$ ,  $P < 0.02$ ). Planned contrast analysis further demonstrated that in sham-lesioned animals rats RT for expected low and high reward differed significantly starting on block 2, while no



**Fig. 2** Localization and extent of pDMS DA depletion in experiment 1–3. **a** Schematic illustration of 6-OHDA lesions of the pDMS in coronal sections; *black areas* represent the largest extent of damage, and *gray areas* the smallest extent of damage found in all animals

used in experiments 1A/B, 2 and 3. *Numbers* indicate distance from bregma in millimeter. **b** Representative photomicrographs demonstrating the extent of pDMS damage following infusions of 6-OHDA



**Fig. 3** Effects of a pDMS DA depletion on the accuracy of responding in the RT task (experiment 1A). Mean number of early responses ( $\pm$ SEM) for expected high and low reward in blocks of two sessions are given

**Table 1** Number of early errors and movement times (ms) in animals with pDMS DA depletion and sham controls (experiment 1A)

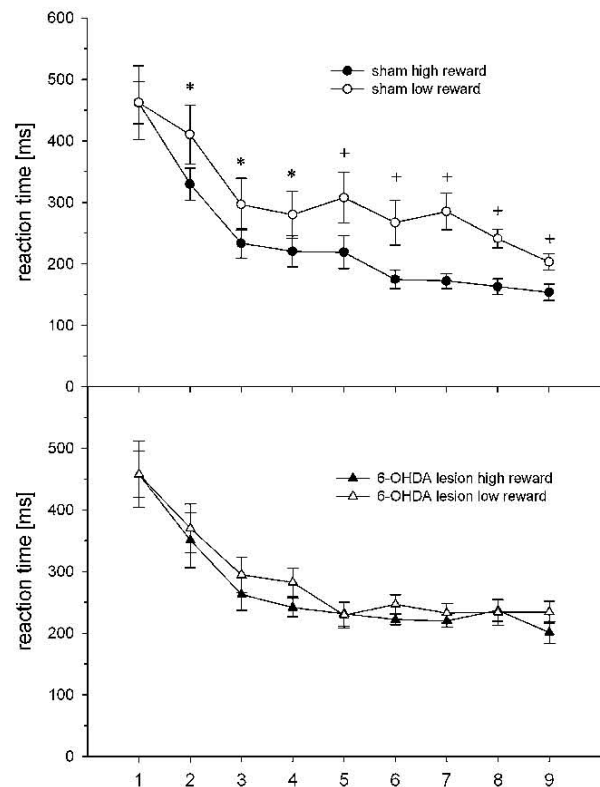
	Sham		Lesion	
	5 versus 1		5 versus 1	
Movement times	203.9 (15.6)	216.4 (13.0)	160.4 (27.0)	175.5 (29.7)
Early errors	10.6 (2.6)	7.3 (1.6)	12.8 (2.3)	3.9 (0.9)

Means ( $\pm$ SEM) from block 9 (high vs. low reward: 5:1 pellets) are given

significant differences in separate blocks were found in 6-OHDA-lesioned animals.

**Movement Times**

Lesion of the pDMS had no effects on movement times (Table 1). MTs in both treatment groups significantly decreased over blocks ( $F_{(8,104)} = 33.60, P < 0.0001$ ). MTs for responses for expected high and low reward differ significantly as analyzed by ANOVA ( $F_{(1,13)} = 7.75, P = 0.01$ ), but there was no effect of treatment ( $F < 1.7$ ,



**Fig. 4** Effects of a pDMS DA depletion on RTs in the RT task (Experiment 1A). Mean RTs ( $\pm$ SEM) of correct responses for expected high and low reward in blocks of two sessions are given. \* $P < 0.05$ , + $P < 0.01$  (planned contrasts; RT<sub>low reward</sub> vs. RT<sub>high reward</sub>)

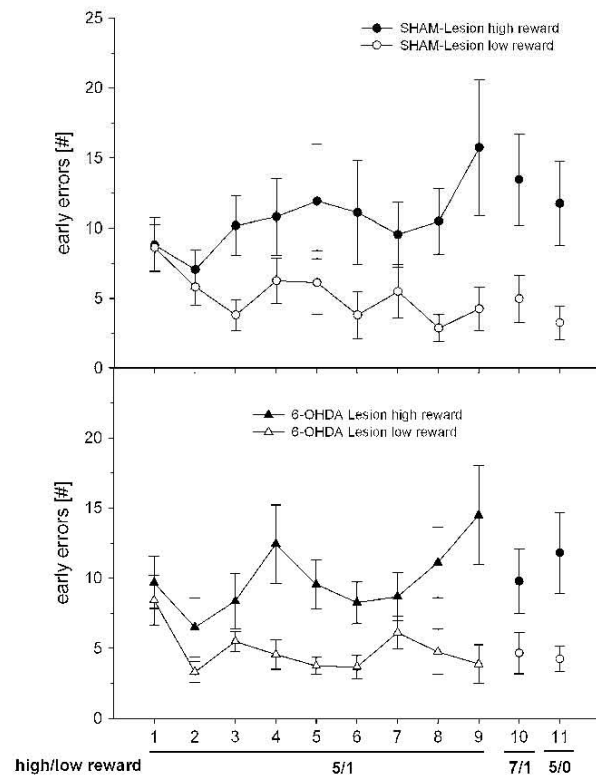
n.s.) and no reward magnitude  $\times$  treatment interaction ( $F < 1.5$ , n.s.).

**Experiment 1B: Effects of a pDMS DA Depletion in RT Task**

*Accuracy of Performance*

6-OHDA lesion had no effect on the number of early errors (Fig. 5) and the number of trials to reach criterion (data not shown). Three-way ANOVAs on the number of early responses revealed no main effect of treatment and block ( $F_s < 1$ , n.s.), but an effect of reward magnitude ( $F_{(1,14)} = 35.49, P < 0.001$ ), but no treatment  $\times$  reward magnitude interaction ( $F < 1$ , n.s.). Similarly, an ANOVA on the trials to reach criterion indicated no main effects of treatment and block ( $F_s < 1$ , n.s.), but an effect of reward magnitude ( $F_{(1,14)} = 35.49, P < 0.001$ ) (data not shown).

On block 10, an ANOVA of the number of early responses revealed a significant effect of reward magnitude ( $F_{(1,14)} = 32.04, P < 0.0001$ ), but not of treatment ( $F < 1$ , n.s.) and no reward magnitude  $\times$  treatment interaction



**Fig. 5** Effects of a pDMS DA depletion on the accuracy of responding in the RT task (experiment 1B). Mean number of early responses ( $\pm$ SEM) for expected high and low reward in blocks of two sessions are given

( $F < 2$ , n.s.). Similarly, an ANOVA on the trials to reach criterion indicated a significant effect of reward magnitude ( $F_{(1,14)} = 32.04$ ,  $P < 0.0001$ ) but not of treatment ( $F < 1$ , n.s.) and no reward magnitude  $\times$  treatment interaction ( $F < 2$ , n.s.) (Table 2).

On block 11, an ANOVA on the number of early responses revealed a significant effect of reward magnitude ( $F_{(1,14)} = 23.28$ ,  $P < 0.001$ ) but not of treatment ( $F < 1$ , n.s.) and no reward magnitude  $\times$  treatment interaction ( $F < 1$ , n.s.). Similarly, an ANOVA on the trials to reach

criterion indicated a significant effect of reward magnitude ( $F_{(1,14)} = 23.28$ ,  $P < 0.001$ ) but not of treatment ( $F < 1$ , n.s.) and but no reward magnitude  $\times$  treatment interaction ( $F < 1$ , n.s.) (Table 2).

**Reaction Times**

As shown in Fig. 6, RTs of 6-OHDA-lesioned and sham-lesioned animals showed a trend toward decreasing over blocks ( $F_{(8,112)} = 1.86$ ,  $P = 0.06$ ). Furthermore there was a significant effect of reward magnitude ( $F_{(1,14)} = 22.20$ ,  $P < 0.001$ ). ANOVA also indicated a significant reward magnitude  $\times$  treatment interaction ( $F_{(1,14)} = 5.59$ ,  $P = 0.03$ ). In addition, planned contrast analysis further demonstrated that in sham-lesioned animals rats RT for expected low and high reward differed significantly starting on block 3, while no significant differences in separate blocks were found in 6-OHDA-lesioned animals. On block 10, RTs of sham but not of 6-OHDA-lesioned animals differed between expected high versus low reward. ANOVA displayed an effect of reward magnitude ( $F_{(1,14)} = 12.57$ ,  $P = 0.003$ ) and a reward magnitude  $\times$  treatment interaction ( $F_{(1,14)} = 4.91$ ,  $P = 0.04$ ).

On block 11, RTs of sham- and 6-OHDA-lesioned animals differed for expected high versus no reward. ANOVA indicated an effect of reward magnitude ( $F_{(1,14)} = 94.08$ ,  $P < 0.001$ ), treatment ( $F_{(1,14)} = 5.40$ ,  $P = 0.03$ ), but no reward magnitude  $\times$  treatment interaction ( $F < 1$ , n.s.).

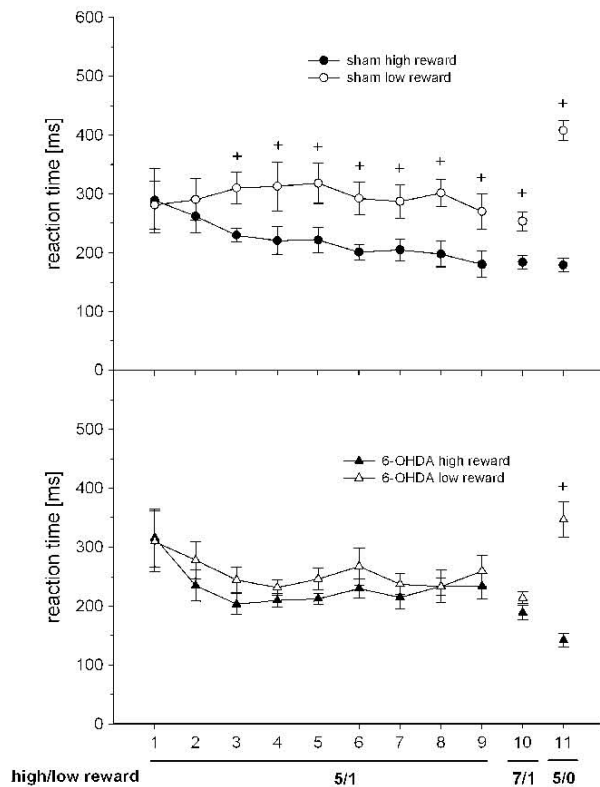
**Movement Times**

Lesion of the pDMS had no effect on MTs (Table 1). MTs in both treatment groups significantly decreased over blocks ( $F_{(8,112)} = 23.80$ ,  $P < 0.0001$ ). MTs for responses for expected high and low reward did not differ significantly as analyzed by ANOVA ( $F < 1$ , n.s.). Likewise, ANOVAs on respective blocks 10 and 11 revealed no significant main effects of reward magnitude or treatment and no significant reward magnitude  $\times$  treatment interactions ( $F_s < 1$ , n.s.).

**Table 2** Number of early errors and movement times (ms) in animals with pDMS DA depletion and sham controls (experiment 1B)

	5 versus 1		7 versus 1		5 versus 0	
<b>Sham</b>						
Movement times	149.6 (26.9)	164.0 (29.3)	148.6 (23.7)	163.8 (24.0)	136.0 (21.5)	242.3 (37.2)
Early errors	15.8 (4.9)	4.3 (1.6)	9.8 (2.3)	4.7 (1.9)	12.0 (2.9)	4.2 (0.9)
<b>Lesion</b>						
Movement times	135.0 (19.8)	142.8 (24.2)	157.8 (17.4)	154.6 (22.8)	153.2 (18.6)	248.6 (37.0)
Early errors	14.5 (3.5)	3.9 (1.4)	13.5 (3.2)	5.0 (1.7)	12 (3.0)	3.25 (1.2)

Means ( $\pm$ SEM) from blocks 9 (high vs. low reward: 5:1 pellets), 10 (high vs. low reward: 7:1 pellets) and 11 (high vs. low reward: 5:0 pellets) are given



**Fig. 6** Effects of a pDMS DA depletion on RT in the RT task (experiment 1B). Mean RTs ( $\pm$ SEM) of correct responses for expected high and low reward in blocks of two sessions are given. \* $P < 0.05$ , + $P < 0.01$  (planned contrasts;  $RT_{low\ reward}$  vs.  $RT_{high\ reward}$ )

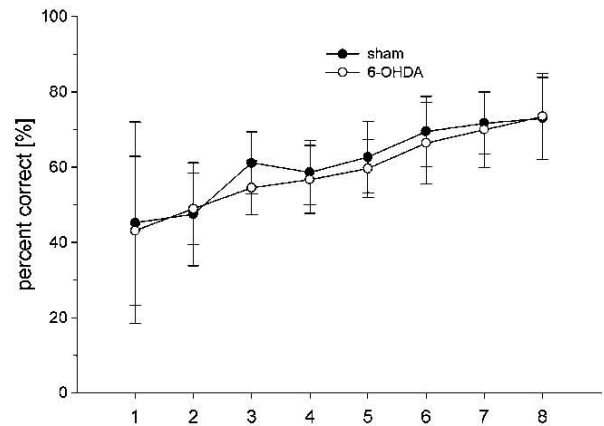
Experiment 2: Effects of a pDMS DA Depletion in a Conditioned Visual Discrimination Task

Accuracy of Performance

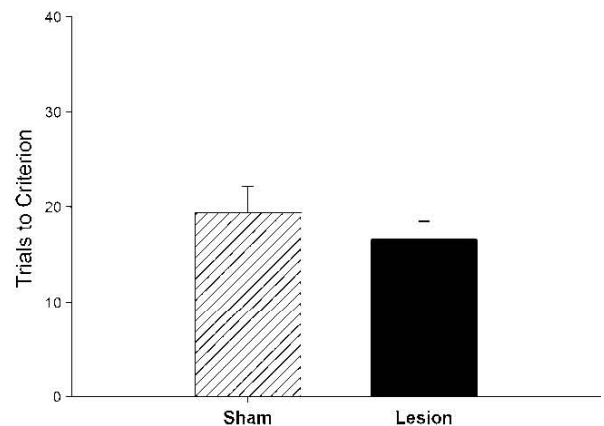
Sham controls ( $n = 12$ ) and 6-OHDA-lesioned animals ( $n = 11$ ) choose the correct lever in about 75% of choices after 7 blocks of training (Fig. 7). A two-way ANOVA on the number of percent correct answers revealed no main effects of treatment ( $F < 4$ , n.s.), but a main block effect ( $F_{(7,147)} = 72.04$ ,  $P < 0.001$ ) without treatment  $\times$  block interaction ( $F < 1$ , n.s.). The mean response rate on the final three blocks of acquisition were sham 71.3% (sham controls) and 69.9% (6-OHDA lesioned rats).

Reaction Times

During acquisition RTs of lesioned and sham animals significantly decreased over blocks ( $F_{(7,147)} = 52.25$ ,  $P < 0.0001$ ), but there was no effect of treatment ( $F < 4$ , n.s.) and no blocks  $\times$  treatment interaction ( $F < 2$ , n.s.) (data not shown).



**Fig. 7** Effects of a pDMS DA depletion on the accuracy of responding in the CVD task (experiment 2). Percentage of correct responses ( $\pm$ SEM) are given



**Fig. 8** Effects of a pDMS DA depletion on the number of trials to reach criterion ( $\pm$ SEM) in a spatial visual discrimination task (experiment 3)

Experiment 3: Effects of a pDMS DA Depletion on Visual Discrimination in a Spatial Learning Task

Behavioral Results

Rats of both treatment groups reached the criterion (10 consecutive correct trials) within less than 20 trials. Sham controls ( $n = 10$ ) required  $19.4 \pm 2.8$  trials, lesioned rats ( $n = 9$ )  $17.0 \pm 1.9$  trials (Fig. 8). Data analysis revealed no significant main effects of treatment ( $F < 2$ , n.s.). On correct trials, response latencies in sham controls were  $5.0 \pm 0.6$  s, in lesioned rats  $5.3 \pm 0.9$  s ( $F < 1$ , n.s.).

Discussion

In this series of experiments, we sought to characterize the role of DA signaling in the pDMS in reward-directed

responding guided by visual cues. Results reveal that pDMS DA depletion did not impair visual cue discrimination learning in a cross maze task and acquisition of a CVD task in an operant box. These results indicate that stimulus discrimination per se and stimulus–response learning do not depend on DA signaling in the pDMS. Results further indicate that pDMS DA depletion impaired reward-dependent modulation of a lever release response if visual cues predict large versus small reward, but not if visual cues predict reward versus no reward. These results suggest that DA signaling in the pDMS contributes to a process through which reward-directed responses become guided by cues associated with different reward magnitudes.

#### Immunohistochemistry

In experiments 1–3, 6-OHDA infusions produced a similar loss of TH-positive fibers that was largely restricted to the pDMS. In addition, we found no evidence for a loss of TH-positive fibers in regions anterior to the pDMS. As considerably higher volumes, that is 2.0  $\mu\text{l}$  and more has been frequently used for intrastriatal 6-OHDA infusion (e.g., Amalric and Koob 1987; Brown and Robbins 1991a, b; Courtiere et al. 2005; Cousins et al. 1999; Faure et al. 2005), the size of our lesions is hardly comparable with these studies. Notably, intra-pDMS infusion of the excitotoxin *N*-methyl-D-aspartate in the same volume (0.4  $\mu\text{l}$ ) as used here for 6-OHDA infusion produced a focal lesion of the pDMS (Yin et al. 2005a, b). The size of *N*-methyl-D-aspartate lesions reported in this study is somewhat smaller but nevertheless roughly comparable to the size of 6-OHDA-induced lesions observed here. A number of previous studies reported that intrastriatal infusion of solutions with lower concentrations of 6-OHDA (4  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ ) as used here (15  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ ) profoundly reduced tissue concentrations of DA (>85%) (e.g., Brown and Robbins 1991a, b). Likewise, intrastriatal infusion of solutions containing 3.5  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ –6.7  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$  6-OHDA caused a significant DA denervation as assessed by DA transporter autoradiography (Winkler et al. 2002) and markedly reduced striatal DA levels as well as the % density of TH-positive fibers (Yuan et al. 2005). Together these findings provide strong support to our observation that rats subjected to 6-OHDA infusions had a near complete pDMS DA depletion.

#### Effects of pDMS dopamine depletion on Cue-Directed Responding

Our experiments in the cross maze task revealed that pDMS DA depletion did not compromise visual cue discrimination learning. Correspondingly, previous studies reported that inactivation of the DMS did not impair the

acquisition of a similar visual cue discrimination task as used here (Ragozzino et al. 2002; Ragozzino 2007). Our results further show that rats sustaining pDMS DA depletions were not impaired in the acquisition of a CVD rule of the type “if the cue light is bright press left lever, if dim press right lever”. Like in sham-controls, the accuracy of responding gradually increased in 6-OHDA-lesioned rats reaching a criterion of 75% correct responses after eight blocks of training, a result that corresponds well with learning curves obtained in a related task (Winters et al. 2004). Thus, rats with pDMS DA depletion were able to discriminate reward-predictive visual cues, which were identical in the CVD and RT task. Furthermore, intact CVD learning suggests that stimulus–response learning was not compromised by a pDMS DA depletion. Consistent with this observation, recent studies indicate that the DMS (Featherstone and McDonald 2004, O’Neill and Brown 2007) including the pDMS (Yin and Knowlton 2004; Yin et al. 2005a, b) does not play a crucial role in stimulus–response learning.

In the RT task, pDMS DA depletion impaired reward-dependent modulation of RTs, if visual cues predict large versus small reward but not if visual cues predict reward versus no reward. This pattern of results suggests that in 6-OHDA-lesioned rats visual cue discrimination per se was intact and sensorimotor impairments may not account for impaired reward magnitude modulation. In line with this latter notion, in 6-OHDA-lesioned rats no obvious motor problems were observed and MTs recorded from reward-directed responses were normal. As in previous studies (e.g., Gierler et al. 2005), in sham-controls the number of early errors became higher for responses for high, but not for low reward, a bias that most probably reflects the impact of high reward cues. Notably, a similar reward magnitude-dependent bias of the early error rate was found in animals with pDMS DA depletion implying that they may have access to an intact representation of the incentive value of the reward-predictive cues. It is well known that in decision making tasks low doses of systemic DA receptor antagonists did not affect the ability to discriminate large from small rewards (Denk et al. 2005; Martin-Iverson et al. 1987; Salamone et al. 1994). Therefore, animals with pDMS DA depletion may not be impaired in processing reward magnitude but in utilizing reward magnitude predictions to modulate the vigor of responding. If so, pDMS DA depletion could affect performance in Pavlovian-instrumental transfer tasks in which presentation of stimuli previously associated with food reward can invigorate instrumental responding (Colwill and Rescorla 1988; Estes 1943; Lovibond 1983). Experiments are underway to test this hypothesis. Enhanced premature responding to expected high reward observed in 6-OHDA-lesioned and sham-lesioned animals could reflect a form of impulsive



responding that is governed by structures such as the nucleus accumbens (Dalley et al. 2007) or the orbitofrontal cortex (Winstanley et al. 2004), but not by the pDMS.

Another notable feature of our data is that rats with pDMS DA depletion were not totally unable to discriminate reward predictive cues as the lesion effects can be remediated if the ratio of reward magnitudes predicted by the cues was changed to from 7:1 to 5:0, but not from 5:1 to 7:1. Thus, the effects of pDMS DA depletion seem to be limited to experimental conditions where cues signaled high versus low reward. It is well known that reward-directed behavior is markedly influenced by the disparity of the expected outcomes (e.g., Bloomfield 1967; Crespi 1942; McSweeney 1975). Our data are in line with this account and further suggest that response modulation by cues predictive of high versus low reward seems to depend on the pDMS and its DA input while response modulation by expected reward versus no reward could rely on different neural circuits. In line with this notion, acquisition of tasks demanding to discriminate rewarded and non-rewarded responses was intact in animals with excitotoxic lesions or transient inactivation of the DMS (e.g., Ragozzino et al. 2002, Ragozzino 2007). Likewise, our observations in the cross maze and CVD task indicate that the pDMS does not support discrimination of stimuli predictive of reward versus non-reward. Taken together, our findings suggest that DA signaling in the pDMS contributes to a process through which reward-directed responses become guided by cues associated with different reward magnitudes.

#### Dopamine in the pDMS and Reward-Dependent Modulation of Behavior

There is a considerable body of evidence that implicated the dorsal striatum in the acquisition of cue-reward associations (Aosaki et al. 1994) and in cue-guided performance (Adams et al. 2001; Bailey and Mair 2006; Hassani et al. 2001; Kawagoe et al. 1998; Samejima et al. 2005; Tremblay et al. 1998). For example, the neuronal activity of striatal neurons is influenced depending on the reward magnitude signaled in advance by discriminative cues (Cromwell and Schultz 2003) and plays a critical role in maintaining reward magnitude representations to guide actions (e.g., Hikosaka et al. 2006). Consistent with these electrophysiological data, our behavioral data suggest that the striatum utilizes reward magnitude predictions to guide behavioral responses. Furthermore, using a visually guided saccade task Nakamura and Hikosaka (2006) found in primates that saccadic RTs were shorter on large-reward trials than on small reward trials. Importantly, this study was the first to show that intra-caudate infusions of DA receptor antagonists altered reward magnitude-dependent

RT guidance suggesting that the impact of reward expectation on RTs depends on DA modulation of the activity of striatal neurons. Our present data are in keeping with these data and further suggest that within the DS, the pDMS and its DA input may be one striatal key region that is critically involved in guidance of reward-directed behavior by reward-predictive cues. The role of the DA input to other striatal subregions such as the anterior DMS will be addressed in future studies.

The question is where the information about cue-associated reward magnitudes that influences neuronal activity in the striatum originates from. It is well known that the pDMS receives major afferents from a number of areas that detect reward-predicting stimuli such as the orbitofrontal cortex (e.g., Tremblay and Schultz 1999) or basolateral amygdala (BLA) (e.g., Schoenbaum et al. 2000). Given the prominent input the pDMS receives from the BLA (McGeorge and Faull 1989), it has been argued that this projection could be an important pathway to convey information on the relative values of expected outcomes (Yin et al. 2005a, b). In view of its connectivity, it is conceivable that the pDMS could integrate reward-predictive information to guide behavioral actions. According to this account, DA input to the pDMS could play an enabling role allowing afferent input related to the cued reward magnitudes to be processed and to guide instrumental action. However, DA signals also carry information about the differences of reward magnitudes predicted by distinct cues (Schultz 2007; Tobler et al. 2005). Thus, it is also possible that this phasic activity of DA neurons represents a teaching signal conveyed to the pDMS that is critical for reward-dependent modulation as examined here. However, our data do not allow to decide whether an impaired enabling influence or a compromised prediction error signal (or both) account for impaired guidance of behavioral actions by reward magnitudes seen here. Nevertheless, the present finding that DA in the pDMS contributes to guidance of behavior by expected reward magnitude is in line with previous studies implicating this striatal subregion in behavioral control by reward value. For instance, the observation that cell body lesions of the pDMS disrupted the sensitivity to outcome devaluation and contingency degradation (Yin et al. 2005a, b) suggests a critical role of the pDMS in reward representation. However, the role of DA in pDMS in outcome devaluation and contingency degradation remains to be established.

To conclude, the pDMS has been suggested to represent a critical neural substrate for learning and expression of goal-directed actions and flexible choice behavior (see Yin and Knowlton 2006 for a review). Our present data reveal that another important function of the pDMS and its DA input is the modulation of reward-directed behavior by reward-predictive cues.

**Acknowledgments** This research was supported by a grant of the DFG (Ha2340/8–1) and the Friedrich-Naumann Stiftung. The authors wish to thank J. Heide for assistance in experiment 3.

## References

- Adams S, Kesner RP, Ragozzino ME (2001) Role of the medial and lateral caudate-putamen in mediating an auditory conditional response association. *Neurobiol Learn Mem* 76(1):106–116
- Amalric M, Koob GF (1987) Depletion of dopamine in the caudate nucleus but not in nucleus accumbens impairs reaction-time performance in rats. *J Neurosci* 7(7):2129–2134
- Aosaki T, Tsubokawa H, Ishida A, Watanabe K, Graybiel AM, Kimura M (1994) Responses of tonically active neurons in the primate's striatum undergo systematic changes during behavioral sensorimotor conditioning. *J Neurosci* 14(6):3969–3984
- Bailey KR, Mair RG (2006) The role of striatum in initiation and execution of learned action sequences in rats. *J Neurosci* 26(3):1016–1025
- Barnes TD, Kubota Y, Hu D, Jin DZ, Graybiel AM (2005) Activity of striatal neurons reflects dynamic encoding and recoding of procedural memories. *Nature* 437(7062):1158–1161
- Bloomfield TM (1967) Behavioral contrast and relative reinforcement frequency in two multiple schedules. *J Exp Anal Behav* 10(2):151–158
- Brasted PJ, Wise SP (2004) Comparison of learning-related neuronal activity in the dorsal premotor cortex and striatum. *Eur J Neurosci* 19(3):721–740
- Brown VJ, Robbins TW (1991a) Simple and choice reaction time performance following unilateral striatal dopamine depletion in the rat. *Brain* 114:513–525
- Brown VJ, Robbins TW (1991b) Simple and choice reaction time performance following unilateral striatal dopamine depletion in the rat. Impaired motor readiness but preserved response preparation. *Brain* 114(Pt 1B):513–525
- Calamini C, Hauber W (2007) Intact discrimination reversal learning but slowed responding to reward-predictive cues after dopamine D1 and D2 receptor blockade in the nucleus accumbens of rats. *Psychopharmacology (Berl)* 191(3):551–566
- Colwill RM, Rescorla RA (1988) Associations between the discriminative stimulus and the reinforcer in instrumental learning. *J Exp Psychol Anim Behav Process* 14:155–164
- Corbit LH, Janak PH (2007) Inactivation of the lateral but not medial dorsal striatum eliminates the excitatory impact of Pavlovian stimuli on instrumental responding. *J Neurosci* 27(51):13977–13981
- Courtiere A, Hardouin J, Locatelli V, Turle-Lorenzo N, Amalric M, Vidal F, Hasbroucq T (2005) Selective effects of partial striatal 6-OHDA lesions on information processing in the rat. *Eur J Neurosci* 21(7):1973–1983
- Cousins MS, Trevitt J, Atherton A, Salamone JD (1999) Different behavioral functions of dopamine in the nucleus accumbens and ventrolateral striatum: a microdialysis and behavioral investigation. *Neuroscience* 91(3):925–934
- Crespi LP (1942) Quantitative variation of incentive and performance in the white rat. *Am J Psychol* 55:467–517
- Cromwell HC, Schultz W (2003) Effects of expectations for different reward magnitudes on neuronal activity in primate striatum. *J Neurophysiol* 89(5):2823–2838
- Dalley JW, Fryer TD, Brichard L, Robinson ES, Theobald DE, Laane K, Pena Y, Murphy ER, Shah Y, Probst K, Abakumova I, Aigbirhio FI, Richards HK, Hong Y, Baron JC, Everitt BJ, Robbins TW (2007) Nucleus accumbens D2/3 receptors predict trait impulsivity and cocaine reinforcement. *Science* 315(5816):1267–1270
- Denk F, Walton ME, Jennings KA, Sharp T, Rushworth MF, Bannerman DM (2005) Differential involvement of serotonin and dopamine systems in cost-benefit decisions about delay or effort. *Psychopharmacology (Berl)* 179(3):587–596
- Estes WK (1943) Discriminative conditioning. I. A discriminative property of conditioned anticipation. *J Exp Psychol* 32:150–155
- Faure A, Haberland U, Conde F, El Massioui N (2005) Lesion to the nigrostriatal dopamine system disrupts stimulus-response habit formation. *J Neurosci* 25(11):2771–2780
- Featherstone RE, McDonald RJ (2004) Dorsal striatum and stimulus-response learning: lesions of the dorsolateral, but not dorsomedial, striatum impair acquisition of a simple discrimination task. *Behav Brain Res* 150(1–2):15–23
- Gierter C, Bohn I, Hauber W (2005) Involvement of NMDA and AMPA/KA receptors in the nucleus accumbens core in instrumental learning guided by reward-predictive cues. *Eur J Neurosci* 21(6):1689–1702
- Gold JJ (2003) Linking reward expectation to behavior in the basal ganglia. *Trends Neurosci* 26(1):12–14
- Hassani OK, Cromwell HC, Schultz W (2001) Influence of expectation of different rewards on behavior-related neuronal activity in the striatum. *J Neurophysiol* 85(6):2477–2489
- Hikosaka O, Nakamura K, Nakahara H (2006) Basal ganglia orient eyes to reward. *J Neurophysiol* 95(2):567–584
- Jog MS, Kubota Y, Connolly CI, Hillegaart V, Graybiel AM (1999) Building neural representations of habits. *Science* 286(5445):1745–1749
- Kawagoe R, Takikawa Y, Hikosaka O (1998) Expectation of reward modulates cognitive signals in the basal ganglia. *Nature Neurosci* 1(5):411–416
- Lovibond PF (1983) Facilitation of instrumental behavior by a Pavlovian appetitive conditioned stimulus. *J Exp Psychol Anim Behav Process* 9(3):225–247
- Martin-Iverson MT, Wilkie D, Fibiger HC (1987) Effects of haloperidol and d-amphetamine on perceived quantity of food and tones. *Psychopharmacology (Berl)* 93(3):374–381
- McGeorge AJ, Faull RL (1989) The organization of the projection from the cerebral cortex to the striatum in the rat. *Neuroscience* 29(3):503–537
- McSweeney FK (1975) Matching and contrast on several concurrent treadle-press schedules. *J Exp Anal Behav* 23(2):193–198
- Nakamura K, Hikosaka O (2006) Role of dopamine in the primate caudate nucleus in reward modulation of saccades. *J Neurosci* 26(20):5360–5369
- O'Brien CP, Childress AR, Ehrman R, Robbins SJ (1998) Conditioning factors in drug abuse can they explain compulsion? *J Psychopharmacol* 12(1):15–22
- O'Neill M, Brown VJ (2007) The effect of striatal dopamine depletion and the adenosine A2A antagonist KW-6002 on reversal learning in rats. *Neurobiol Learn Mem* 88(1):75–81
- Paxinos G, Watson C (1997) The rat brain in stereotaxic coordinates. Academic, New York
- Ragozzino ME (2007) The contribution of the medial prefrontal cortex, orbitofrontal cortex, and dorsomedial striatum to behavioral flexibility. *Ann N Y Acad Sci* 1121:355–375
- Ragozzino ME, Ragozzino KE, Mizumori SJ, Kesner RP (2002) Role of the dorsomedial striatum in behavioral flexibility for response and visual cue discrimination learning. *Behav Neurosci* 116(1):105–115
- Salamone JD, Cousins MS, Bucher S (1994) Anhedonia or anergia? Effects of haloperidol and nucleus accumbens dopamine depletion on instrumental response selection in a T-maze cost/benefit procedure. *Behav Brain Res* 65(2):221–229

- Samejima K, Ueda Y, Doya K, Kimura M (2005) Representation of action-specific reward values in the striatum. *Science* 310(5752):1337–1340
- 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(13):5179–5189
- Schultz W (2007) Behavioral dopamine signals. *Trends Neurosci* 30(5):203–210
- Tobler PN, Fiorillo CD et al (2005) Adaptive coding of reward value by dopamine neurons. *Science* 307(5715):1642–1645
- Tremblay L, Schultz W (1999) Relative reward preference in primate orbitofrontal cortex. *Nature* 398(6729):704–708
- Tremblay L, Hollerman JR, Schultz W (1998) Modifications of reward expectation-related neuronal activity during learning in primate striatum. *J Neurophysiol* 80(2):964–977
- Volkow ND, Wang GJ, Telang F, Fowler JS, Logan J, Childress AR, Jayne M, Ma Y, Wong C (2006) Cocaine cues and dopamine in dorsal striatum: mechanism of craving in cocaine addiction. *J Neurosci* 26(24):6583–6588
- Winkler C, Kirik D, Bjorklund A, Cenci MA (2002) L-DOPA-induced dyskinesia in the intrastriatal 6-hydroxydopamine model of Parkinson's disease: relation to motor and cellular parameters of nigrostriatal function. *Neurobiol Dis* 10(2):165–186
- Winstanley CA, Theobald DE, Cardinal RN, Robbins TW (2004) Contrasting roles of basolateral amygdala and orbitofrontal cortex in impulsive choice. *J Neurosci* 24(20):4718–4722
- Winters BD, Robbins TW, Everitt BJ (2004) Selective cholinergic denervation of the cingulate cortex impairs the acquisition and performance of a conditional visual discrimination in rats. *Eur J NeuroSci* 19(2):490–496
- Yin HH, Knowlton BJ (2004) Contributions of striatal subregions to place and response learning. *Learn Mem* 11(4):459–463
- Yin HH, Knowlton BJ (2006) The role of the basal ganglia in habit formation. *Nat Rev Neurosci* 7(6):464–476
- Yin HH, Knowlton BJ, Balleine BW (2005a) Blockade of NMDA receptors in the dorsomedial striatum prevents action-outcome learning in instrumental conditioning. *Eur J NeuroSci* 22(2):505–512
- Yin HH, Ostlund SB, Knowlton BJ, Balleine BW (2005b) The role of the dorsomedial striatum in instrumental conditioning. *Eur J NeuroSci* 22(2):513–523
- Yuan H, Sarre S, Ebinger G, Michotte Y (2005) Histological, behavioural and neurochemical evaluation of medial forebrain bundle and striatal 6-OHDA lesions as rat models of Parkinson's disease. *J Neurosci Methods* 144(1):35–45

## 6 Zusammenfassende Diskussion

In den nachfolgenden Abschnitten werden die Resultate der durchgeführten Experimente sowie die dabei verwendeten Verhaltenstests und pharmakologischen Manipulationen diskutiert. Es werden hierbei Abweichungen und Übereinstimmungen zu vorangegangenen Arbeiten aufgezeigt und zusammen mit unseren Ergebnissen diskutiert. Den Abschluß dieses Abschnittes bildet eine zusammenfassende Diskussion über die Rolle von Dopamin im limbischen System bei der Steuerung des instrumentellen (zielgerichteten) Verhaltens der Ratte. Außerdem werden die Implikationen dieser Ergebnisse für das Verständnis des menschlichen Lernverhaltens erläutert.

### 6.1 Reaktionszeitaufgabe

In der vorliegenden Arbeit wurde an Ratten die Rolle von Dopamin in verschiedenen Hirnarealen beim Lernverhalten untersucht. Im Mittelpunkt stand das Erlernen von instrumentellen Verhaltensweisen, die durch belohnungsprädiktive Stimuli gesteuert werden. Dazu wurden Ratten vom Stamm *Lister Hooded* in drei Experimenten in einer Reaktionszeitaufgabe getestet (Giertler 2003). In dieser Aufgabe fungierten zwei Stimuli mit unterschiedlichen Lichthelligkeiten als instruktive Stimuli, die prädiktiv für eine hohe und eine niedrige Belohnungsstärke waren. Bei unbehandelten Ratten zeigte sich dabei eine Führung des untersuchten Verhaltens durch die erwartete Belohnungsstärke. D.h., die Tiere reagierten in Erwartung einer hohen Futterbelohnung schneller als in Erwartung einer niedrigen Futterbelohnung. Die Differenz stellt den Meßparameter der Reaktionszeitdifferenz dar (siehe unten). Diese Aufgabenstellung war aus mehreren Gründen besonders geeignet das instrumentelle Lernverhalten der Tiere zu untersuchen. Erstens konnten neben der Reaktionszeit weitere Parameter - wie die Genauigkeit der Handlungsausführung oder die Bewegungszeit - aufgenommen werden, die eine detailliertere Verhaltensanalyse zuließen. Zweitens wurden bei Studien am Menschen (Knutson and Cooper 2005; Tobler *et al.* 2007), oder am Primaten (Nakamura and Hikosaka

2006) ähnliche Aufgaben verwendet. Eine Vergleichbarkeit des untersuchten Lernverhaltens über Speziesgrenzen hinweg war somit möglich.

**Erlernen:** Die Reaktionszeitdifferenz bildete sich meist im Laufe der ersten Tage der Akquisitionsphase aus und blieb bei unverändertem Fortgang des Experimentes weitgehend konstant bei ca. 100-120ms. D.h., die Ratten ließen nach Darbietung des imperativen Stimulus bei erwarteter hoher Belohnung (5 Futterstücke) den Hebel signifikant schneller los, als bei zu erwartender niedriger Belohnung (1 Futterstück). Diese Führung der Reaktionszeiten durch die erwartete Belohnungsstärke war ein Indikator dafür, daß die Tiere die Stimulus-Belohnungs-Beziehungen gelernt hatten. Die Bewegungszeit hingegen konnte, entgegen den Beobachtungen aus vorangegangenen Arbeiten (Bohn *et al.* 2003b; Bohn *et al.* 2003c; Giertler *et al.* 2005), nicht als Parameter für einen Lernerfolg der Tiere verwendet werden. Bei allen durchgeführten Experimenten konnte keine Führung der Bewegungszeit durch die erwartete Belohnungsstärke beobachtet werden. Ein möglicher Grund für den Unterschied zu vorangegangenen Arbeiten könnte sein, daß die um 3-4 Tage verkürzte Habituationsphase nicht ausreichte, um auch in der Bewegungszeit eine Führung durch die erwartete Belohnungsstärke zu erreichen. Auch die Tatsache, daß in dieser Arbeit *Lister Hooded* und keine *Sprague Dawley* Ratten verwendet wurden, könnte den Unterschied in den Beobachtungen erklären.

Im Gegensatz zur Bewegungszeit war die Präzision ein Parameter, der sich in Abhängigkeit von der Belohnungsstärke änderte. Interessanterweise machten unbehandelte Tiere signifikant mehr Fehler und ließen den Hebel zu früh (vor Darbietung des imperativen Stimulus) los, wenn Ihnen viel Belohnung signalisiert worden war. Die Präzision, mit der für die hohe Belohnung gedrückt wurde, nahm im Laufe eines Experimentes immer weiter ab. Dieses Phänomen wurde in allen drei Experimenten beobachtet und zeigte sich vor allem bei Reaktionen für erwartete hohe Belohnung. Dies war insofern überraschend, als ein Lernfortschritt in anderen Studien (z.B. Giertler *et al.* 2005) mit einer Zunahme der Genauigkeit bzw. Abnahme der Fehler einherging. In unserer Aufgabe war es aus folgendem Grund umgekehrt: Der hochbelohnte Stimulus erzeugte bei den Tieren offenbar einen Zustand erhöhter Impulsivität, die zu den Fehlreaktionen führte. Mit zunehmendem Lernerfolg wurde deshalb der Anteil der verfrühten Antworten höher, d.h. die Genauigkeit nahm ab.

**Umlernen:** Neben der Lernfähigkeit der Tiere wurde darüber hinaus auch die Verhaltensflexibilität der Tiere - insbesondere das Umlernen von Stimulus-Belohnungs-Assoziationen - in der oben genannten Aufgabe untersucht. Dazu wurden nach einer ca. 8-tägigen Akquisitionsphase die Stimulus-Belohnungs-Beziehungen umgedreht, so daß ein ehemals hoch belohnter Stimulus in der Folge prädiktiv für wenig Belohnung war und umgekehrt. Unbehandelte Tiere erlernten die geänderten Stimulus-Belohnungs-Beziehungen innerhalb von 4-5 Tagen, erkennbar an der Zunahme der Reaktionszeitdifferenz und der Zunahme an verfrühten Fehlern für erwartete hohe Belohnung.

## 6.2 Visuelle Diskriminationsaufgabe

Neben der Reaktionszeitaufgabe wurden noch weitere Aufgaben verwendet, um das Lernverhalten der Tiere genauer zu charakterisieren. Dazu wurde eine visuelle Diskriminationsaufgabe verwendet, die nach einer Aufgabe von Winters und Kollegen (2004) modifiziert wurde. Diese erforderte von den Tieren die korrekte Zuordnung zweier verschiedener Lichtstimuli zu dem belohnten von zwei präsentierten Hebeln. In dieser Aufgabe wurde durch einen hellen Lichtstimulus signalisiert, daß das Betätigen des Linken der beiden Hebel belohnt wird und ein gedimmter Lichtstimulus, daß das Drücken des rechten Hebels mit einem Futterpellet belohnt wird. Unbehandelten Tieren gelang es, das geforderte Kriterium von 75 % korrekten Antworten innerhalb von 30 Testtagen zu erreichen, wobei der Lernfortschritt täglich kontrolliert wurde. Dies stimmt mit den Ergebnissen von Winters und Kollegen (Winters *et al.* 2004) überein, deren Tiere ebenfalls das geforderte Kriterium erreichten. Allerdings brauchten die Tiere von Winters und Kollegen wesentlich länger (50-60 Tage) um das geforderte Kriterium von 75% korrekten Antworten zu erreichen. Diese nahezu doppelt so lange Lernphase war vermutlich auf die verwendeten Lichtstimuli zurückzuführen. Winters und Kollegen nutzten zwei unterschiedliche Blinkfrequenzen als visuellen Stimulus, während wir die zwei unterschiedlichen Lichthelligkeiten aus der Reaktionszeitaufgabe (s.o.) als diskriminativen Stimulus verwendeten. Offenbar stellt die Diskrimination der

verschiedenen Blinkfrequenzen höhere Anforderungen an die Tiere, was zu einer deutlich verlängerten Lernphase führt.

### 6.3 Räumliche visuelle Diskriminationsaufgabe

Eine mögliche Ursache für Lerndefizite in den zuvor beschriebenen Aufgaben könnte die mangelnde Fähigkeit sein, die beiden verwendeten visuellen Stimuli (hell und gedimmt) voneinander zu unterscheiden. Um diese Möglichkeit zu prüfen, wurde ein zweiter visueller Diskriminationstest verwendet. Eine Aufgabe von Floresco wurde in modifizierter Form eingesetzt (Floresco *et al.* 2006a). In einem T-Labyrinth dienten Bodenbeläge als visuelle Stimuli und als Hinweissignale für eine Futterbelohnung. Dazu wurden zwei Arme des Labyrinths mit Klebefolien versehen, die dieselben taktilen Eigenschaften besaßen, allerdings unterschiedlich gemustert waren (schwarz/weiß gestreift bzw. schwarz). Diese Bodenbeläge signalisierten den Tieren, welcher der beiden Arme belohnt war (z.B. gestreift = belohnt; uni = nicht belohnt). Unbehandelte Ratten hatten am Tag des Abschlußtests innerhalb von 20 Läufen im Labyrinth das Kriterium von 10 aufeinander folgenden Entscheidungen für den korrekten (belohnten) Arm erreicht. Dabei waren sie wesentlich besser, als die Tiere von Floresco und Kollegen, die knapp 40 Versuche brauchten (Floresco *et al.* 2006a). Dies könnte auf die etwas unterschiedliche Habituationsprozedur (siehe unten) oder möglicherweise auch auf den verwendeten Tierstamm zurückzuführen sein.

### 6.4 Habituation

#### Reaktionszeitaufgabe

Das Habituationstraining hatte zum Ziel, die Tiere mit der SKINNER-Box, den Hebeln und der Futterbelohnung vertraut zu machen. Es zeigte sich, daß eine 5-6tägige Habituationsphase ausreichte, um die Versuchstiere an die ihnen ungewohnte Umgebung sowie die Futterbelohnung zu gewöhnen und das Hebel-Drücken beizubringen. Vorangegangene Arbeiten verwendeten dazu eine wesentlich aufwendigere und langwierigere Prozedur, die zwei Monate (Bohn *et al.* 2003a; Giertler *et al.* 2003) bzw. zwölf Tage (Giertler *et al.* 2004; Giertler *et al.* 2005)

dauerte. Die hier verwendete Habituationsprozedur bestand aus drei Einzelschritten, die es ermöglichten nach maximal sechs Sitzungen mit der Akquisition der in Experiment 1-3 verwendeten Reaktionszeitaufgabe zu beginnen. Die im Vergleich zu früheren Arbeiten deutlich verkürzte Habituationsphase führte neben der sehr geringen Streuung der individuellen Reaktionszeiten für hohe und niedrige Belohnung dazu, daß die Tiere das Erlernen der Reaktionszeitaufgabe von Beginn an mit einer Genauigkeit von 75-80% bewältigten. Durch dieses standardisierte Vorgehen wurde gewährleistet, daß schon der erste Elerntag der Reaktionszeitaufgabe für die Auswertung der Verhaltensergebnisse berücksichtigt werden konnte und zudem das Umlernen innerhalb von 7-8 Tagen begonnen werden konnte, was die Versuchsdauer im Vergleich zu früheren Arbeiten deutlich reduzierte.

#### Visuelle Diskriminationsaufgabe

Für die visuelle Diskriminationsaufgabe in der Skinner-Box wurde eine ähnliche Habituationsprozedur wie für die Reaktionszeitaufgabe verwendet. Diese Prozedur bestand ebenfalls aus drei Einzelschritten, die es ermöglichten, nach maximal sechs Sitzungen mit der Akquisition der visuellen Diskriminationsaufgabe zu beginnen. Der einzige Unterschied zur Habituationsphase bei der Reaktionszeitaufgabe war, daß statt einem deren zwei Hebel jeweils einzeln mit dem zugehörigen Lichtstimulus präsentiert wurden.

#### Räumliche visuelle Diskriminationsaufgabe

Für die Aufgabe im T-Labyrinth wurde ebenfalls eine 5-6tägige Habituationsphase durchgeführt. Diese mußte nach der Aufgabe von Floresco et al. 2006 entsprechend unseren Anforderungen angepaßt werden. Im Unterschied zu der Floresco-Aufgabe wurden hier zwei unterschiedlich gefärbte Bodenbeläge als visuelle Stimuli verwendet, um den belohnten und den unbelohnten Arm anzuzeigen. Die Raumposition der beiden Zielarme wurde immer wieder verändert, um zu verhindern, daß die Tiere sich anhand von externen Raummarken im Labyrinth orientieren. Durch die gewählte Prozedur wurde somit gewährleistet, daß die Tiere die beiden visuellen Stimuli auf dem Boden des Labyrinths, und nicht Umgebungsreize zur Orientierung verwendeten. Zudem gewöhnten sie sich daran, daß sie vom Experimentator nach jedem Lauf aus dem Labyrinth genommen und zurück in den Haltungskäfig gesetzt



wurden, um nach 2 min erneut in das Labyrinth gesetzt zu werden und einen neuen Lauf zu beginnen. Nach ca. sechs Tagen Habituation konnte dann mit dem visuellen Diskriminationstest begonnen werden.

## 6.5 Mikroinfusionen

Für die Untersuchung des Lernverhaltens in Experiment 1 und 2 wurden während der Umlernphase Mikroinfusionen in den NAC und den OFC durchgeführt. Dazu mußten die Tiere unmittelbar vor Beginn der jeweiligen Sitzung so auf dem Schoß des Experimentators fixiert werden, daß die abgesenkten Injektionskanülen über den gesamten Infusionszeitraum im gewünschten Zielgebiet blieben. Das erforderte im Vorfeld der Umlernsitzungen eine aufwendige Mikroinfusions-Habituationsphase, die zum Ziel hatte, die Tiere an die Abläufe und akustischen Reize der Infusionen zu gewöhnen. In Vorversuchen hatte sich gezeigt, daß die - durch die Mikroinfusionsprozedur hervorgerufene - Streßreaktionen der Tiere dazu führten, daß die gemessenen Reaktionszeiten eine reduzierte Führung durch die erwartete Belohnungsstärke zeigten. Während der an drei aufeinanderfolgenden Tagen durchgeführten Mikroinfusions-Habituationsphase wurden die Tiere auf dem Schoß fixiert und zuerst nur durch Einsetzen der Injektionskanülen, dann durch fünfminütige Probeinfusionen von Kochsalzlösung in das Zielgebiet an die Mikroinfusionsprozedur gewöhnt. Dies führte zu einer deutlichen Reduktion der Streßreaktion während der Injektionen in der Umlernphase, so daß die Prozedur selber keine meßbaren Veränderungen des Lernverhaltens hervorrief.

## 6.6 Läsion

Die in Experiment 3 durchgeführten dopaminergen Läsionen des dorsomedialen Striatums waren im Bezug auf die Handhabung der Tiere und die Streßreaktionen der Ratten während des Verhaltenstestes unproblematisch, da sie 1-2 Wochen vor Versuchbeginn stattfanden und auch keine durch die Läsionen ausgelösten unspezifischen Verhaltensauffälligkeiten im Vorfeld der Verhaltenstests beobachtet werden konnten. Darüber hinaus fanden wir in *post mortem* durchgeführten

immunhistologischen Untersuchungen keine Hinweise darauf, daß TH-positive Neurone in den dem pDMS angrenzenden Arealen läsiert waren. Da in vielen Studien wesentlich höhere Volumina (2,0µl) als bei uns (0,4µl) verwendet wurden, um intrastriale 6-OHDA Injektionen durchzuführen (z.B. Amalric and Koob 1987; Brown and Robbins 1991; Courtiere *et al.* 2005; Cousins *et al.* 1999; Faure *et al.* 2005), ist die Größe unserer Läsion schwer mit den Ergebnissen anderer Arbeitsgruppen zu vergleichen. Auch riefen intra-pDMS Infusionen des, zu dem von uns verwendeten Volumen identischen Volumens des Excytotoxins NMDA (0,4µl) eine räumlich eng begrenzte Läsion des pDMS hervor (Yin *et al.* 2005b). Zahlreiche Studien arbeiteten in der Vergangenheit darüber hinaus mit wesentlich geringeren Konzentrationen an 6-OHDA (4 µg/µl) als wir (15 µg/µl) und fanden eine erhebliche Reduktion der Gewebekonzentration an DA (>85%) (z.B. Brown and Robbins 1991). Auch konnten Arbeiten mit autoradiographischen Methoden zeigen, daß die intrastriale Injektion von 3,5µg/µl – 6,7µg/µl 6-OHDA zu einem deutlichen Verlust DAerger Neurone führte (Winkler *et al.* 2000). Zusammenfassend lassen diese Beobachtungen vermuten, daß unsere 6-OHDA Injektionen zu einer nahezu vollständigen pDMS DA-Läsion führten.

## 6.7 Die Rolle von Dopamin im Nucleus accumbens

Aus den Ergebnisse von Experiment 1 geht hervor, daß DA-Signale im NAC für das Umlernen nicht erforderlich sind, wohl aber die Intensität steuern, mit der belohnungsgerichtete Handlungen und instrumentelle Verhaltensweisen ausgeführt werden. So waren Tiere, die während des Umlernens Injektionen von Dopamin-Antagonisten bekamen - unabhängig davon, ob die D<sub>1</sub>- oder D<sub>2</sub>-Rezeptoren blockiert waren - ebenso wie entsprechende Kontrolltiere in der Lage, die Stimulus-Belohnungs-Beziehungen innerhalb von 4-5 Tagen umzulernen. Allerdings verdoppelten sich die Reaktionszeiten für viel und wenig Belohnung unter der Behandlung mit einem D<sub>1</sub>- und einem D<sub>2</sub>-Antagonisten. Die Anzahl der verfrühten und verspäteten Fehler blieb von der Behandlung jedoch unbeeinträchtigt.

Die Rolle des Nucleus accumbens bei Lernvorgängen ist in den letzten Jahren immer genauer charakterisiert worden. So konnte gezeigt werden, daß klassische Stimuli

keinen Einfluß mehr auf das Lernverhalten der Tiere hatten, sobald die Signaltransduktion im NAC unterbrochen war (Cardinal *et al.* 2002b; Parkinson *et al.* 1999). Man geht deshalb davon aus, daß der NAC in Pavlovschen (klassischen) Lernaufgaben eine wichtige Rolle bei der Informationsverarbeitung spielt. Eine typische Aufgabe, mit der die Einflüsse von klassischen Stimuli auf das Lernverhalten untersucht werden, ist der klassisch-instrumentelle Transfer (PIT). Hierbei haben klassische Stimuli wie z.B. Ton-, Geräusch-, aber auch Lichtsignale eine motivationale (De-)Aktivierung des Verhaltens zur Folge. In verschiedenen dieser PIT-Aufgaben konnte gezeigt werden, daß der NAC die motivationalen Aspekte des Verhaltens steuert. Er vermittelt die Anziehungskraft („*incentive salience*“), die belohnungsprädiktive Stimuli ausüben und verstärkt so das belohnungsfördernde Antwortverhalten (Hall *et al.* 2001; Lex and Hauber 2008). Neben diesen appetitiven Verhaltensweisen wird durch den NAC auch aversives Verhalten gesteuert, wie es z.B. als Reaktion auf negativ-assoziierte Gerüche oder akustische Signale entsteht (Faure *et al.* 2008; Reynolds and Berridge 2002). Diese klassisch konditionierten Stimuli wie Gerüche, akustische Signale, aber auch visuelle Stimuli, spielen auch in instrumentellen Lernaufgaben - wie die in der vorliegenden Arbeit verwendeten - eine wichtige Rolle und übermitteln Informationen über den Anreizwert der zu erwartenden Belohnung. So konnten Wolterink und Kollegen bereits 1993 zeigen, daß das Hebeldruckverhalten in einem *conditioned reinforcement* - Test, bei dem einer von zwei Hebeln gedrückt werden mußte, um einen belohnungsprädiktiven klassischen Stimulus (Ton) auszulösen, der prädiktiv für eine Belohnungsgabe war, durch eine Inaktivierung des NAC deutlich verringert war (Wolterink *et al.* 1993).

In der Vergangenheit stellte man sich daher vermehrt die Frage, welche Neurotransmitter die motivationssteuernde Funktion des NAC vermitteln. Aus früheren Arbeiten war bekannt, daß Dopamin eine essentielle Rolle bei der Steuerung des Lernverhaltens spielen mußte (Koch *et al.* 2000; Nowend *et al.* 2001; Parkinson *et al.* 2002). So konnten z.B. Cheng und Feenstra nachweisen, daß die DA-Freisetzung in NAC<sub>core</sub> und NAC<sub>shell</sub> während des Erlernens einer instrumentellen Aufgabe im Vergleich zu nicht-lernenden Ratten deutlich erhöht war (Cheng and Feenstra 2006). Ebenso war bekannt, daß die Informationen, die durch D<sub>1</sub>- und D<sub>2</sub>-Rezeptoren vermittelt werden, vielfach unterschiedliche Auswirkungen auf das belohnungsgerichtete Verhalten haben können. Floresco zeigte dies 2006, indem er in

einem set-shifting-Paradigma D<sub>1</sub>- bzw. D<sub>2</sub>- spezifische DA-Rezeptor-Antagonisten in verschiedenen Zielgebieten DAerger Projektionen von Ratten applizierte (Floresco et al. 2006) und unterschiedliche Auswirkungen auf das Lernverhalten der Tiere beobachten konnte. Auch beobachtete Lee, daß Ratten unter systemischer Blockade der D<sub>1</sub>/D<sub>5</sub>- und D<sub>2</sub>/D<sub>3</sub>-Rezeptoren zwar eine instrumentelle Handlung erlernen konnten, aber Probleme hatten, eine einmal gelernte Aufgabe umzulernen (Lee *et al.* 2007).

In Experiment 1 gelang es uns zu zeigen, daß das Umlernen einer instrumentellen Verhaltensweise durch eine Blockade der DA-Rezeptoren im NAC unbeeinträchtigt war. Allerdings war die motivationale Aktivierung des Verhaltens durch Hemmung sowohl der D<sub>1</sub>- als auch der D<sub>2</sub>-Rezeptor-Subtypen im NAC deutlich beeinträchtigt. Außerdem blieb die normale Bewegungsfähigkeit der Tiere erhalten, wie Messungen der Bewegungszeit zeigten. Vergleichbare Studien konnten darüber hinaus zeigen, daß die generelle Motivation, frei verfügbares Futter zu konsumieren, ebenso erhalten blieb (Yun *et al.* 2004). Daß beide DA-Rezeptorsubtypen ähnliche Auswirkungen auf die Motivation haben, ist insofern erstaunlich, als beide (wie unter Punkt 4.5. gezeigt) auf unterschiedlichen Bahnen lokalisiert sind. Durch die Aktivierung werden zudem grundsätzlich unterschiedliche intrazelluläre Stoffwechselwege aktiviert (Squire 2008). Auch aus diesem Grund wäre es wahrscheinlich, daß unterschiedliche Funktionen durch die beiden Rezeptortypen vermittelt werden.

Diese Ergebnisse sind insofern überraschend, als sie Annahmen widersprechen, die sich aus der Vorhersagefehlertheorie der DA-Funktion ableiten. Diese besagt, daß DA-Neurone des limbischen Systems ein Vorhersagefehlersignal kodieren, mit dessen Hilfe Tiere ihr Verhalten an sich ändernde Umgebungsbedingungen anpassen können (Schultz et al. 1998). Dieses Vorhersagefehlersignal konnte durch elektrophysiologische Ableitungen an DA-Neuronen in der VTA und der Substantia nigra (Hollerman and Schultz 1998; Satoh *et al.* 2003), sowie in Zielgebieten DAerger Neurone z.B. dem orbitofrontalen Kortex (Schoenbaum *et al.* 1998; Tremblay and Schultz 1999), dem Striatum (Schultz *et al.* 2003) und dem NAC (Abler *et al.* 2006; Khamassi *et al.* 2008) nachgewiesen werden. Unsere Studien zeigen jedoch, daß die Anpassung des Verhaltens an neue Stimulus-Belohnungs-Beziehungen trotz Blockade

der DAergen Transmission, und demzufolge eine Blockade des Vorhersagefehlersignals, im NAC möglich war.

Allerdings ist derzeit noch wenig darüber bekannt, auf welche Weise der NAC das Vorhersagefehlersignal verarbeitet und welche Aufgabe Dopamin im NAC bei der Steuerung des Verhaltens zukommt. Bekannt ist, daß DA in verschiedenen Hirnarealen bei vielen Verhaltensabläufen eine essentielle Rolle spielt. So entschieden sich Tiere, deren DA-System durch systemische Haloperidol-Gabe beeinträchtigt war, in einer Situation, in der sie zwischen zwei - mit unterschiedlichem Aufwand verbundenen Handlungen - wählen konnten, für diejenige, die geringeren Aufwand, aber auch geringere Belohnung bedeutete. Dagegen nahmen Kontrolltiere den höheren Aufwand in Kauf, um eine entsprechend höhere Belohnung zu bekommen (Salamone 1994). Diese Ergebnisse zeigen, daß Kosten-Nutzen-Analysen abhängig von einer intakten DAergen Neurotransmission sind, und daß Tiere in diesen Entscheidungssituationen ein abnormales Verhalten zeigen, sobald das DA-System beeinträchtigt ist. DA scheint aber auch bei verschiedenen Lernvorgängen eine essentielle Rolle zu spielen. So fanden z.B. Stefani und Moghaddam eine positive Korrelation zwischen der DA-Freisetzung im präfrontalen Kortex (PFC) und der Schnelligkeit, mit der die Tiere zwischen zwei Diskriminationsregeln wechseln konnten. Auch schien die DA-Freisetzung im NAC oder DS gesteigert zu sein (Stefani and Moghaddam 2006), wenn neue, unerwartete Ereignisse eintraten und dementsprechend neue Verhaltensregeln gelernt werden mußten. Die Flexibilität, mit der sich Tiere auf geänderte Umgebungsbedingungen einstellen können, ist also abhängig von einem intakten DA-System. Ist dieses beeinträchtigt, sollten belohnungsabhängige Verhaltensanpassungen nicht mehr korrekt funktionieren.

In der vorliegenden Arbeit dagegen konnte gezeigt werden, daß eine Beeinträchtigung der dopaminergen Transmission im NAC keinen signifikanten Einfluß auf die Fähigkeit der Tiere hat, ihr Verhalten den sich ändernden Umgebungsbedingungen anzupassen. Vielmehr scheint Dopamin hier die Aufgabe zu haben, die motivationalen Informationen über ein belohnungsförderndes Verhalten zu verstärken (Faure *et al.* 2008). Geht man davon aus, daß durch die Injektionen in den NAC während des Umlernens dessen motivationssteuernde Funktionen außer Kraft gesetzt wurden, kann man aus dem beobachteten Verhalten der Tiere den Schluß ziehen, daß sich die Tiere der neuen Regeln zwar durchaus gewahr werden,

ihnen allerdings die Motivation fehlt, entsprechend den Regeln für die Belohnung zu arbeiten.

Darüber hinaus zeigten weitere Arbeiten, daß auch andere Neurotransmittersysteme im NAC an der Anpassung des Verhaltens an belohnungsprädiktive Stimuli beteiligt sind. So konnte durch Unterbrechung der glutamatergen Neurotransmission mit Hilfe von Mikroinfusionen von NMDA- und AMPA-Rezeptorantagonisten nachgewiesen werden, daß die Verarbeitung belohnungsrelevanter Informationen im NAC auch auf Glutamat-vermittelten Signalübertragungsvorgängen beruht (Giertler *et al.* 2005; Hernandez *et al.* 2005). Deshalb schlägt Hernandez vor, daß dopaminerge und glutamaterge Neurone im NAC bei der Steuerung des belohnungsgerichteten Verhaltens zusammenspielen (Hernandez *et al.* 2005).

Hypothetisch könnte eine Interaktion der beiden Neurotransmittersysteme folgendermaßen ablaufen: Das mesolimbische Dopaminsystem interagiert mit glutamatergen Neuronen im NAC, die aus Thalamus, BLA, Hippocampus oder dem PFC kommen über DA-Rezeptoren (Cardinal *et al.* 2002a; Meredith *et al.* 1999; Mulder *et al.* 1998), die auf den Axonterminalen des glutamatergen Neurons liegen. Auf diese Weise werden die Glutamatsignale auf eine komplexe, noch nicht bis ins Detail verstandene Art und Weise moduliert. Die motivationssteigernde Wirkung von DA könnte also darauf beruhen, daß DA Glutamatsignale im NAC moduliert und z.B. verstärkt. Darüber hinaus fungiert DA im NAC offensichtlich nicht nur als eine Art Modulator von Glutamat-Signalen (Chuhma *et al.* 2004; Grace *et al.* 2007; Surmeier *et al.* 2007) sondern - wie neuere Erkenntnisse zeigen - auch als Modulator von motivationsbezogenen Informationen, die über die Neurotransmitter Serotonin oder Norepinephrin in den NAC gelangen (Faure *et al.* 2008). Deshalb könnten auch solche Signale, die für die Vermittlung von Motivation relevant sind, durch DA im NAC verstärkt werden.

Die motivationssteuernde Funktion von DA im NAC konnte durch die hier gezeigten Ergebnisse untermauert werden. Während das Umlernen der Stimulus-Belohnungs-Beziehungen trotz Blockade der DA-Rezeptoren möglich war, war die Intensität, mit der die belohnungsgerichteten Handlungen ausgeführt wurden, auf Grund der fehlenden motivationalen „Befeurung“ des Verhaltens durch DA deutlich verringert. Die DAerge Innervation des NAC ist daher vermutlich nicht direkt an der Anpassung des Verhaltens an sich ändernde Umgebungsbedingungen beteiligt. Vielmehr ist DA

in der Lage, das belohnungsgerichtete Verhalten durch die Interaktion mit anderen Neurotransmittersystemen - wie z.B. der serotonergen, oder auch der glutamatergen Transmission, zu modulieren und auf eine noch nicht genau verstandene Art und Weise zu verstärken.

## 6.8 Die Rolle von Dopamin im orbitofrontalen Kortex

Aus der vorliegenden Arbeit geht hervor, daß Dopamin und Glutamat im orbitofrontalen Kortex eine wichtige Rolle bei der Flexibilität des Lernverhaltens spielen. Intra-OFC-Mikroinfusionen von sowohl D<sub>1</sub>- und D<sub>2</sub>- Rezeptor-Antagonisten, als auch NMDA-Rezeptor-Antagonisten, beeinträchtigten das Umlernverhalten deutlich. Dieses war bei den behandelten Tieren deutlich verzögert; die Anpassung des Verhaltens an geänderte Stimulus-Belohnungs-Beziehungen war verlangsamt. Es scheinen folglich sowohl Dopamin, als auch Glutamat (Bohn et al. 2003) im OFC während des Umlernens eine essentielle Rolle zu spielen.

Die Rolle des OFC beim Lernen und Umlernen von Stimulus-Belohnungs Beziehungen ist in den letzten Jahren immer mehr in den Fokus des Interesses gerückt (z.B. Chamberlain *et al.* 2008; Ghods-Sharifi *et al.* 2008; Takahashi *et al.* 2009). Humanphysiologische Studien etwa konnten zeigen, daß verschiedene neurodegenerative Erkrankungen - wie z.B. Demenz (Snowden *et al.* 2001) oder Zwangsstörungen (OCD) (Chamberlain *et al.* 2008) - mit Fehlfunktionen des präfrontalen Kortex - speziell des OFC - einhergehen und sich in den krankheitstypischen Verhaltensdefiziten äußern. Hinweise für die Beteiligung des OFC an der Steuerung von Lernverhalten lieferten auch Mikrodialyse-Experimente an Ratten. Demnach geht eine gesteigerte Impulsivität der Tiere in einer Hebeldruck-Aufgabe mit einer erhöhten DA-Freisetzung im OFC einher (Winstanley *et al.* 2006). Neueste Studien belegen diese Tatsache und konnten darüber hinaus nachweisen, daß Patienten mit einer auf dysfunktionalem OFC beruhenden gesteigerten Impulsivität zudem eine beeinträchtigte Verhaltensflexibilität aufweisen (Franken et al. 2008). Auch Studien an Ratten konnten zeigen, daß eine neurochemische Inaktivierung des OFC zu einer eingeschränkten Flexibilität des Lernverhaltens führte (Ragozzino 2007). Mit Hilfe elektrophysiologischer Untersuchungen an Primaten

gelang es darüber hinaus, nachzuweisen, daß Neurone des OFC ihre Aktivitätsmuster änderten, sobald die belohnungsprädiktiven Stimuli ihre Attraktivität für das Tier änderten (Critchley and Rolls 1996; Schoenbaum *et al.* 1999; Tremblay and Schultz 1999). Auch geht aus Verhaltensstudien hervor, daß Tiere und Menschen mit Schäden am OFC Probleme haben, einmal gelernte Aufgaben umzulernen (Chudasama and Robbins 2003; Hornak *et al.* 2004; Izquierdo *et al.* 2004; Jones and Mishkin 1972). Diese sind nicht mehr in der Lage, aus Ergebnissen ihrer Handlungen, die nicht den ursprünglichen Vorhersagen entsprechen, zu lernen und ihr zukünftiges Verhalten basierend auf diesen neuen Informationen anzupassen (Burke *et al.* 2008; Gallagher *et al.* 1999; Izquierdo *et al.* 2004; McDannald *et al.* 2005; Ostlund and Balleine 2007). So haben z.B. Primaten, deren OFC läsiert ist, Probleme, eine Aufgabe, die eine Unterscheidung von verschiedenen Geruchsstoffen verlangt, umzulernen (Schoenbaum *et al.* 2003a). Obwohl diese Tiere eine intakte Geruchswahrnehmung haben, gelingt es ihnen nicht, die durch die Gerüche vorhergesagten Ergebnisse ihrer Handlungen umzulernen. Ebenso zeigten Versuche an Ratten, daß Tiere ein Futter, das mit Übelkeit auslösendem LiCl devaluiert war, im Heimkäfig verschmähten. In einer anschließenden Lernaufgabe in der SKINNER-Box waren sie aber trotz des „Wissens“ um den Übelkeit auslösenden Effekt nicht in der Lage, ihre belohnungsgerichteten Handlungen entsprechend anzupassen. Unter Extinktion drückten sie den Hebel trotzdem, der zu devaluiertem Futter führte (Gallagher *et al.* 1999). Aus diesem Grund ging man davon aus, daß der OFC eine Struktur ist, die Umlernen maßgeblich mit steuert, und stellte sich die Frage, welche Neurotransmitter an der Steuerung dieses Verhaltens beteiligt sind. Dazu war es essentiell, die die Ein- und Ausgänge des OFC näher zu beleuchten. Bekannt war bis dato, daß der OFC massiv zum ventralen (Haber *et al.* 1995; Schoenbaum *et al.* 2006) und dorsalen (Ragozzino 2007; Schilman *et al.* 2008) Striatum und der BLA (Holland and Gallagher 2004; Ramirez and Savage 2007; Schoenbaum and Setlow 2003) projiziert und starke Afferenzen von Arealen wie dem ventralen Tegmentalen Areal (VTA) (Oades and Halliday 1987) und auch der BLA (Holland and Gallagher 2004; Schoenbaum *et al.* 2003b) erhält. Während die Afferenzen, die von der VTA kommen, dopaminerg sind, ist die Verbindung zwischen BLA und OFC glutamaterger Natur (Groenewegen and Uylings 2000; Kalivas and Nakamura 1999; Reep *et al.* 1996). Letztere vermittelt mutmaßlich Informationen über den



emotionalen/motivationalen Wert einer Belohnung, die es dem OFC ermöglichen, das zukünftige Verhalten zu steuern (McDannald *et al.* 2005; Pickens *et al.* 2005; Pickens *et al.* 2003; Schoenbaum *et al.* 2003a; Setlow *et al.* 2002). Daher ist es nicht weiter überraschend, daß eine Blockade dieser glutamatergen Interaktion auf Seiten des OFC die Steuerung des Lernverhaltens deutlich beeinträchtigt. Die Tiere waren nicht mehr in der Lage, eine einmal gelernte Stimulus-Belohnungs-Assoziation umzulernen. Diese Beobachtung aus der vorliegenden Arbeit bestätigte vorangegangene Ergebnisse von Bohn und Kollegen, die trotz einer etwas verlängerten Lern- und Habituationsphase (siehe 6.4.) die gleiche Beobachtung machten (Bohn *et al.* 2003). Auch Murray und Kollegen kamen zu diesem Schluß und diskutierten den OFC als ein Hirnareal, welches bei der Steuerung der Verhaltensflexibilität essentiell ist und dessen Dysfunktion die Anpassung des Verhaltens an geänderte Stimulus-Belohnungs-Beziehungen verhindert (Murray *et al.* 2007). Eine mögliche Erklärung wäre, daß die für die Steuerung des Lernverhaltens wichtigen, belohnungsrelevanten motivationalen/emotionalen Informationen in der BLA zwar verarbeitet werden (Balleine *et al.* 2003; Blundell *et al.* 2001; Tye and Janak 2007), aber dann die Weitergabe der Informationen an den OFC unterbrochen und die Anpassungsfähigkeit des Verhaltens eingeschränkt ist. Weitere Unterstützung erfährt diese Hypothese durch Beobachtungen aus humanen Studien, in denen gezeigt werden konnte, daß Defizite, die durch Schädigungen des OFC hervorgerufen werden oft sozialer/emotionaler Natur sind (Kolb 1984). Das rührt vermutlich daher, daß durch diese Schädigungen wichtige emotionale Signal nicht verarbeitet werden können. Auch zeigten Affen mit OFC-Läsionen in einem Test auf soziale Interaktion mit Artgenossen ein deutlich reduziertes Sozialverhalten. Die Effekte glichen denen, die durch eine Läsion der Amygdala ausgelöst wurden (Kolb and Nonneman 1974). Eine weitere mögliche Erklärung für die im Versuch beobachteten Defizite im Lernverhalten wäre, daß Glutamat im OFC die Unterdrückung einer ehemals korrekten Antwortstrategie vermittelt und dadurch das Umlernen einer Stimulus-Belohnungs-Assoziation ermöglicht. Mit anderen Worten, Tiere mit NMDA-Rezeptor-Blockade verhalten sich nach Änderung der Stimulus-Belohnungs-Beziehungen weiterhin nach den ursprünglich gelernten Regeln und sind nicht in der Lage, ihr Verhalten entsprechend den neuen Regeln anzupassen. Diese Hypothese wurde allerdings in jüngerer Vergangenheit in Frage gestellt. So zeigten Chudasama und

Kollegen, daß es Rhesusaffen trotz läsierten OFC gelang, die vormalig korrekte Antwortstrategie nach Änderung der Stimulus-Belohnungs-Beziehung zu unterdrücken und die gestellte Aufgabe umzulernen (Chudasama *et al.* 2007). Eine Aussage zu möglichen Verhaltensdefiziten durch einen dysfunktionalen OFC ist allerdings aus der von Chudasama durchgeführten Studie nur schwer möglich, da nicht die glutamaterge Transmission im OFC temporär blockiert war, sondern die Affen eine komplette Ablation des OFC erhielten. Es bedarf daher weiterer Studien, die die Verhaltensdefizite näher beleuchten, welche durch dysfunktionale glutamaterge Transmission im OFC ausgelöst werden.

Neben starken glutamatergen Affenzen aus der BLA und dem mediodorsalen Thalamus (Reep *et al.* 1996) erreichen den OFC massive dopaminerge Affenzen aus der VTA. Dies läßt vermuten, daß auch DA eine nicht unwesentliche Rolle bei der Steuerung von Lernverhalten spielt. Studien von Schultz (Schultz 2006) und Roesch (Roesch *et al.* 2007) zufolge geben DA-Neurone Informationen über belohnungsprädiktive Stimuli mit Hilfe eines Vorhersagefehlersignals weiter (Roesch *et al.* 2007; Schultz 2006). Dieses Signal wird natürlich auch an den OFC über DAerge Projektionen aus dem Mittelhirn weitergegeben und dort verarbeitet (O'Doherty 2003). Devaluationsexperimente, bei denen der Wert einer Belohnung durch „Überfütterung“ oder „Vergällung“ des betreffenden Futters absichtlich herabgesetzt war, wiesen nach, daß Tiere mit Läsionen im OFC in ihrem Lernverhalten inflexibel waren. So ließ man Ratten zunächst lernen, daß die Betätigung eines Hebels zu einer Futterbelohnung führt. Danach wurde das Futter zusammen mit einer Substanz, die Übelkeit auslöst, verabreicht; das Futter wurde auf diese Weise devaluiert. Testete man Ratten danach wieder in der Versuchskammer, stellte man überraschenderweise fest, daß sie dennoch den Hebel betätigten, der die devaluierte Futterbelohnung versprach. Die Flexibilität des Lernverhaltens war bei Tieren mit OFC-Läsionen deutlich beeinträchtigt. Ein ähnliches Phänomen beobachteten wir möglicherweise nach Injektionen von D<sub>1</sub>/D<sub>2</sub>-Antagonisten in den OFC während des Umlernens. Behandelte Tiere zeigten nach Injektion ein deutlich beeinträchtigt Umlernverhalten, während entsprechende Kontrolltiere ihr Verhalten normalerweise nach 3-4 Tagen an die neuen Regeln anpaßten. Die behandelten Tiere waren also nicht mehr in der Lage, ihr Verhalten den sich ändernden Stimulus-Belohnungs-Beziehungen anzupassen.

Die vorliegenden Befunde stehen in Einklang mit der Hypothese, wonach DA Vorhersagefehlersignale übermittelt. Die Blockade von DA im OFC während des Umlernens verhinderte möglicherweise die Weitergabe solcher Signale im OFC. D.h., die Information, daß ein vormals mit einer hohen Belohnung assoziierter Stimulus nunmehr mit niedriger Belohnung verknüpft ist, wurde unterdrückt. Die Tiere reagierten daher nach den ursprünglichen Stimulus-Belohnungs-Beziehungen, ihre Lernflexibilität war reduziert.

Demgegenüber sind die Ursachen einer verminderten Lernflexibilität nach einer NMDA-Rezeptorblockade andere: Den OFC erreichen Signale über die Belohnungsmenge nicht mehr, die mit unterschiedlichen Stimuli assoziiert sind. Die Tiere „verwechseln“ die Stimuli und die denen zugeordneten Belohnungsmengen, ihre Diskriminationsleistung ist beeinträchtigt (Bohn *et al.* 2003; Winter *et al.* 2009).

Dem gegenüber steht eine Studie von Clarke und Kollegen, die 5-HT und nicht DA- oder Glutamat-vermittelte Signale eine Rolle beim Umkehrlernen zuordnet (Clarke *et al.* 2007). Die Arbeitsgruppe beobachtete nach einer DAergen Läsion des OFC keine Beeinträchtigung des Umlernverhaltens. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit und die von Clarke und Kollegen gemachten Beobachtungen sind allerdings insofern schwierig zu vergleichen, weil bei Clarke ein Tier aus jeweils zwei gleichzeitig gegebenen Stimuli jenen wählen mußte, der mit der Belohnung assoziiert war. Die Bewältigung solcher Aufgaben, bei der eine belohnte und eine nicht belohnte Handlung diskriminiert werden müssen, kann nach Arbeiten von Phillmore ohne Beteiligung des DA-Systems erfolgen (Phillmore 2008). Die hier verwendete Aufgabe scheint also etwas andere Anforderungen an den OFC zu stellen.

Von großem Interesse wäre bei zukünftigen Studien, ob eventuell die gleichzeitige Blockade von D<sub>1</sub>- und D<sub>2</sub>-Rezeptoren einen additiven Effekt auf das Umlernverhalten der Tiere hätte. Um diese Fragen abschließend zu klären, wären jedoch weitere Studien notwendig, die sich mit den genauen Abläufen während des Umlernens beschäftigten und den Effekt einer gleichzeitigen Gabe eines D<sub>1</sub>- und D<sub>2</sub>-Antagonisten auf das Umlernverhalten untersuchten.

Dem OFC scheint den hier gezeigten Ergebnissen zufolge eine essentielle Rolle bei der Steuerung des Umlernverhaltens zuzukommen. Dabei beeinträchtigt sowohl die Blockade der D<sub>1</sub>- und D<sub>2</sub>-Rezeptoren, als auch die Blockade der NMDA-Rezeptoren im OFC die Fähigkeit der Tiere, ihr Verhalten geänderten Stimulus-Belohnungs-

Beziehungen anzupassen. Bei der Betrachtung zukünftiger Ergebnisse sollte darauf geachtet werden, ob die Tiere bei den verwendeten Verhaltenstests eine Unterscheidung zwischen viel/wenig oder ja/nein-Belohnung treffen müssen, da beide Prozesse offenbar unterschiedliche Anforderungen an die Verhaltenssteuerung und die beteiligten neuronalen Signale stellen.

## 6.9 Die Rolle von Dopamin im posterioren dorsomedialen Striatum

Aus den Ergebnissen von Experiment 3 geht hervor, daß das pDMS maßgeblich an der Steuerung des zielgerichteten Verhaltens beteiligt ist. Eine DAerge Läsion des pDMS verhinderte, daß Tiere ihr Verhalten entsprechend dem Unterschied zwischen zwei Belohnungsstärken anpassen können. Dagegen ist die generelle Diskriminationsfähigkeit nicht gestört, d.h., die Fähigkeit, zwei verschiedene Lichthelligkeiten oder andere visuelle Stimuli per se zu unterscheiden, ist weiterhin intakt. Das pDMS ist also diesen Ergebnissen zufolge für eine Modulation des Verhaltens und Anpassung einer Handlung an unterschiedliche Belohnungsstärken notwendig und DA scheint dabei eine essentielle Rolle zu spielen.

Die Beteiligung des DS an der Steuerung des Verhaltens ist in den letzten Jahren vermehrt in den Fokus des Interesses gerückt. So vermuteten viele Studien einen unterschiedlichen Einfluß der verschiedenen Subregionen des DS (siehe 4.4) auf die Steuerung von Lernverhalten (z.B. Graybiel 1998; Hikosaka *et al.* 2000). Elektrophysiologische Untersuchungen konnten zeigen, daß die Aktivität von DMS-Neuronen, deren Feuermuster mit der Ausführung erlernter Handlungen korrelierte, durch die Erwartung eines bestimmten Ereignisses moduliert werden konnte (Hassani *et al.* 2001; Kawagoe *et al.* 1998). Im Gegensatz dazu zeigten DLS-Neurone keinerlei Korrelation zwischen ihrer Aktivität und der Erwartung einer Belohnung (Carelli and Deadwyler 1997; Jaeger *et al.* 1993; Jog *et al.* 1999; Kimura 1990; Kimura 1992; White and Rebec 1993). Dies konnten Yin und seine Kollegen ebenfalls belegen (Yin *et al.* 2004; Yin *et al.* 2005b). Während Läsionen des DLS in Lernaufgaben die Verknüpfung einer Handlung mit einem spezifischen Stimulus verhinderten, unterbanden Läsionen des DMS die Ausbildung von Assoziationen zwischen einer Handlung und dem dazugehörigen Ergebnis. Basierend auf diesen Befunden führten

Corbit und Janak Verhaltensstudien durch, bei denen sie den Einfluß von klassischen Stimuli auf instrumentelles Lernverhalten untersuchten (Corbit and Janak 2007) (PIT). Dabei stellten sie ebenfalls fest, daß Läsionen beider Subregionen unterschiedliche Auswirkungen auf das Verhalten hatten. Während ein dysfunktionales DLS die Verstärkung des instrumentellen Verhaltens durch klassisch konditionierte Stimuli verhinderte, verschwand nach einer Läsion des DMS die Selektivität dieser Verstärkung. D.h., die Tiere zeigten eine Verstärkung des instrumentellen Verhaltens durch klassisch konditionierte Stimuli. Das DMS scheint also eine entscheidende Rolle bei der Diskrimination unterschiedlicher Stimuli und damit bei der Verhaltensflexibilität zu spielen (Ragozzino 2007). Unklar war bis dato allerdings, welche Neurotransmitter an der Vermittlung dieser Informationen im DMS beteiligt sind. Einen ersten Hinweis darauf, daß DA dabei eine wichtige Aufgabe übernimmt, ergaben Studien von O`Neill und Brown (O'Neill and Brown 2007). Diese beobachteten, daß eine DA-Läsion im DMS die Verhaltensflexibilität in einer räumlichen Umlernaufgabe beeinträchtigte, dabei aber die generelle Diskriminationsfähigkeit der Tiere intakt ließ.

Das Erlernen von Handlungen, wie sie bei den Studien von O`Neill und Brown, aber auch in der vorliegenden Arbeit untersucht wurden, läßt sich in mehrere Prozesse aufteilen. Lerntheoretische und experimentelle Modelle (Dickinson and Balleine 1994) sprechen von drei Teilvorgängen: Die Assoziation von 1.) Stimulus – Ergebnis (S-O), 2.) Stimulus – Handlung (S-R), und 3.) Handlung – Ergebnis (R-O). Da in der vorliegenden Aufgabe alle Prozesse zum Erlernen der Aufgabe notwendig sind und der Zusammenhang zwischen einem Stimulus, einer Handlung und einem Ergebnis gelernt werden muß, stellt sich die Frage, welcher der oben genannten Teilprozesse durch eine DA-Läsion des pDMS beeinträchtigt ist.

Bereits 2005 konnten Yin und Kollegen in einer ihrer Studien zeigen, daß sowohl das gesamte DMS (Featherstone and McDonald 2004; Ragozzino 2007), als auch das pDMS (Yin and Knowlton 2004; Yin *et al.* 2005b) keine entscheidende Rolle beim Lernen von S-R Assoziationen spielt. Dies bestätigten auch unsere Telexperimente 2 und 3, da die generelle Diskriminationsfähigkeit der Tiere nach einer 6-OHDA-Läsion nicht beeinträchtigt war. Bleibt also die Frage, ob eine beeinträchtigte S-O, oder R-O Assoziation für das hier beobachtete Verhaltensdefizit verantwortlich sein könnte. Aus unseren Ergebnissen geht hervor, daß pDMS DA-Tiere beide Assoziationen bilden

können, da sie in der Lage sind, sowohl eine instrumentelle Handlung (Hebeldruck), als auch einen Lichtstimulus mit einer Belohnungsgabe zu assoziieren. Jedoch können die Tiere verschiedene Stimuli, die mit verschiedenen Belohnungsstärken assoziiert sind, nicht unterscheiden. Mit anderen Worten: Möglicherweise ist doch das S-O-Lernen der Tiere in irgendeiner Form beeinträchtigt. Dieser Annahme widersprechen Beobachtungen von O'Neill und Brown bei denen Tiere Stimuli, die Belohnung anzeigen, von solchen unterscheiden lernen, die keine Belohnung anzeigen (O'Neill and Brown 2007). Diese unterschiedlichen Ergebnisse beruhen vermutlich auf der Verwendung unterschiedlicher Aufgaben. So untersuchen O'Neill und Brown Entscheidungsprozesse, die bei der Diskrimination zwischen Belohnung und Nicht-Belohnung ablaufen. Diese sind jedoch, wie unser Experiment 3 und andere Studien (Phillmore 2008) zeigen, DA-unabhängig. Andererseits spielt DA aber in Situationen, in denen zwischen viel und wenig diskriminiert werden muß, eine entscheidende Rolle (Costa *et al.* 2007; Tobler *et al.* 2005).

Die Diskrimination von Stimuli, die Belohnung gegenüber Nicht-Belohnung, sowie von Stimuli, die viel gegen wenig Belohnung anzeigen, findet also unter Beteiligung von unterschiedlichen Schaltkreisen statt. Erste Hinweise darauf, daß Unterscheidungen zwischen Stimuli, die viel/wenig Futter und Futter/kein Futter anzeigen, durch verschiedene Mechanismen gesteuert werden, liefert eine Studie von Matsumoto und Hikosaka 2007 (Übersicht in Phillmore 2008). Diese untersuchten den Einfluß der Aktivierung von Neuronen der lateralen Habenula in einer Belohnungs - nicht-Belohnungs - Situation auf die Aktivierung der DA-Neurone in der Substantia nigra. Bemerkenswert war, daß eine Aktivierung der Habenula-Neurone in der Belohnungs-„nein“- Situation eine Hemmung der DA-Neurone in der VTA und der Substantia nigra zur Folge hatte. Diese Hemmung führte zu einer Reduktion der DA-Freisetzung an den DA-Terminalen einschließlich des pDMS. Demzufolge scheint die Diskrimination von Stimuli, die eine Belohnung oder keine anzeigen, nicht „innerhalb“ des DA-Systems abzulaufen, sondern in den der Substantia nigra und der VTA vorgeschalteten Hirnarealen.

Zusätzlich gelang es Cromwell und Schultz in Aufgaben, die eine Unterscheidung von Stimuli verlangten, die hohe bzw. niedrige Belohnung anzeigten, daß sich die neuronale Aktivität striataler Neurone in Abhängigkeit von der vorab signalisierten Belohnungsstärke änderte (Cromwell and Schultz 2003). Die Vermutungen gehen

dahin, daß diese Informationen von DA-Neuronen übermittelt werden. Ein solches DA-vermitteltes Vorhersagefehlersignal wird im Striatum weiterverarbeitet und hat dadurch wesentlichen Anteil an der Steuerung des belohnungsgerichteten Verhaltens. Dem Vorhersagefehlersignal wird im Striatum eine entscheidende Rolle bei der Bewertung einer Handlung, bzw. einer getroffenen Entscheidung zugesprochen (Lau and Glimcher 2007; Lau and Glimcher 2008). Das instrumentelle Verhalten in unserer Reaktionszeit-Aufgabe wird wesentlich vom Wert der von den visuellen Stimuli angezeigten Belohnung bestimmt. Möglicherweise ist nach einer 6-OHDA-Läsion des pDMS die Übermittlung des Vorhersagefehlersignals unterbrochen. Demzufolge kann das Tier keine Vorhersagen über den Wert einer mit dem Stimulus assoziierten Belohnung treffen, das Erlernen der Diskriminationsaufgabe ist deshalb beeinträchtigt. Auch Untersuchungen von Nakamura und Hikosaka an Primaten konnten zeigen, daß Injektionen von DA-Antagonisten in den N. caudatus (homolog zum DMS bei Ratten) zu einer Einschränkung der Fähigkeit der Primaten führten, ihr Verhalten in Erwartung unterschiedlicher Belohnungsstärken anzupassen (Nakamura and Hikosaka 2006). Injektionen von D<sub>1</sub>- und D<sub>2</sub>-Antagonisten hatten dabei offenbar unterschiedliche Auswirkungen auf das Verhalten. Während die Injektion eines D<sub>1</sub>-Antagonisten, sowohl die Reaktionszeit, als auch das Umlernverhalten der Tiere verlangsamte, waren die Reaktionszeiten nach Injektion von D<sub>2</sub>-Antagonisten deutlich erhöht.

In vielen Arealen, die starke Projektionen zum pDMS haben - wie dem OFC (z.B. Tremblay and Schultz 1999), oder auch der BLA (Schoenbaum *et al.* 2000) - konnte belohnungsassoziierte neuronale Aktivität nachgewiesen werden. Speziell die Verbindung BLA-pDMS scheint maßgeblich an der Weitergabe von Informationen über den Wert der zu erwarteten Belohnung beteiligt zu sein (Yin *et al.* 2005a). Dies überrascht nicht weiter, denn seit langem ist bekannt, daß die Amygdala belohnungsprädiktive Stimuli verarbeitet und diese Informationen an andere Hirnareale wie das pDMS weitergibt. Auf diesem Wege könnten also Informationen über die belohnende Qualität eines Stimulus an das pDMS weitergegeben werden. DA ist demnach nicht direkt an der Verhaltenssteuerung beteiligt, sondern vielmehr indirekt, indem es eine Art Aktivierungssignal weitergibt, das belohnungsassoziierte Informationen aus anderen Hirnarealen im pDMS verstärkt; möglicherweise ausgelöst durch die phasische Aktivität DAerger Neurone (s. Kap. 4.5). Dies wäre ein anderer

DA-abhängiger Mechanismus, der zur Steuerung des hier gemessenen instrumentellen Verhaltens beiträgt.

Die Rolle des pDMS und speziell die Funktionen von DA im pDMS bei der Verarbeitung belohnungsprädiktiver Informationen ist bislang weitgehend unklar. Ergebnissen der vorliegenden Arbeit zufolge scheint DA im pDMS eine entscheidende Rolle bei der Steuerung instrumentellen Verhaltens durch belohnungsprädiktive Stimuli zu spielen. Die Beteiligung von DA im pDMS an der Steuerung des Verhaltens scheint darüber hinaus von der Art der Diskriminationsaufgabe abhängig zu sein. Nur bei viel Belohnung/wenig Belohnung-Diskriminationen wird ein DAerges Signal im pDMS benötigt. Dagegen läuft eine Steuerung durch Stimuli, die prädiktiv für Belohnung gegenüber Nicht-Belohnung sind, ohne Beteiligung von DA im pDMS ab. Weitere Aufklärung über die belohnungsassoziierten Abläufe im pDMS könnten Studien bringen, die phasische und tonische Aktivitätsänderungen der DA-Neurone in einer Belohnung - Nicht-Belohnung - Situation im Gegensatz zu einer Entscheidungssituation zwischen viel Belohnung und wenig Belohnung untersuchen würden.

## 6.10 Die Rolle von Dopamin beim zielgerichteten Verhalten

Wie aus den durchgeführten Experimenten hervorgeht, ist der Beitrag, den DA in den verschiedenen untersuchten Hirnarealen bei der Steuerung von Lernvorgängen leistet, unterschiedlich. Einen Überblick über die verschiedenen Funktionen liefert Tabelle 1. Dabei fällt auf, daß DA offenbar sowohl beim Erlernen eines zielgerichteten Verhaltens eine essentielle Rolle spielt (Experiment 3), als auch bei der Vermittlung der Verhaltensflexibilität (Experiment 1 und 2).



Untersuchtes Hirnareal	Defizit nach DA-Läsion/Blockade	Funktion von DA
NAC	Umlernen gelernter S-O Assoziationen	→
	Handlungsintensität	↓
OFC	Umlernen gelernter S-O Assoziationen	↓
	Handlungsintensität	→
pDMS	Erlernen von S-O Assoziationen	↓
	Handlungsintensität	→

**Tabelle 1:** Kurze Zusammenfassung der möglichen Funktionen von DA in den verschiedenen untersuchten Hirnarealen auf Grundlage der hier durchgeführten Verhaltenstests.

Im NAC scheint DA unseren Ergebnissen zufolge eine essentielle Rolle bei der motivationalen Steuerung von instrumentellem Verhalten zu spielen. Eine Injektion von DA-Rezeptorantagonisten in den NAC während der Umlernphase verhindert nicht, daß die Tiere eine instrumentelle Aufgabe umlernen können, verringert jedoch die Motivation der Tiere für die zu erwartenden Belohnungen zu „arbeiten“. Die Verhaltensflexibilität ist jedoch nach Injektionen von DA-Rezeptorantagonisten in den OFC während der Umlernphase einer instrumentellen Lernaufgabe deutlich beeinträchtigt, wohingegen die Motivation, für die Belohnung zu arbeiten, davon unbeeinträchtigt bleibt. Sowohl im NAC, als auch im OFC treten die beobachteten Verhaltensdefizite nach Injektion von D<sub>1</sub>- als auch D<sub>2</sub>-Antagonisten auf. Zahlreiche Arbeiten in der Vergangenheit konnten jedoch zeigen, daß beide Rezeptortypen auch unterschiedliche Beiträge zur Verhaltenssteuerung leisten können (Floresco *et al.* 2006; Nakamura and Hikosaka 2006). Das pDMS dagegen scheint eine wichtige Aufgabe bei der Anpassung des Verhaltens an Stimuli, prädiktiv für unterschiedliche Belohnungsstärken zu erfüllen.

DA hat also in Strukturen der limbischen und assoziativen Funktionsschleife keine einheitliche Funktion. Wäre dies der Fall, müßten Eingriffe in die DAerge Transmission des NAC und des OFC, die beide der limbischen Funktionsschleife angehören, ähnliche Verhaltensdefizite auslösen. Dies ist jedoch, wie hier und in anderen Studien gezeigt werden konnte, nicht der Fall (Cagniard *et al.* 2006; Robinson *et al.* 2005; Yin *et al.* 2006). So gelang es z.B. Robinson mit Hilfe von transgenen DA-defizienten Mäusen in einem Labyrinth-Versuch zu zeigen, daß zielgerichtete Verhaltensweisen trotz fehlenden Dopamins gelernt werden konnten (Robinson *et al.* 2005). Ebenso wurde an hyperdopaminergen Mäusen im Vergleich

zu Kontrolltieren kein gesteigertes Lernverhalten beobachtet (Cagniard *et al.* 2006; Yin *et al.* 2006). Dieses würde man erwarten, wenn DA das Erlernen zielgerichteten Verhaltens vermitteln würde. Auch unterscheiden sich die Verhaltensdefizite, die man nach Eingriffen in die DAerge Transmission der verschiedenen Hirnareale beobachten kann, deutlich voneinander. Außerdem korrespondieren sie meist nicht mit allen bekannten Funktionen des betreffenden Hirnareals (z.B. Robinson *et al.* 2005; Salamone and Correa 2002; Schweimer and Hauber 2006; Wise and Schwartz 1981). So ist bekannt, daß z.B. das pDMS an der Steuerung zielgerichteter Verhaltensweisen beteiligt ist (Yin *et al.* 2005; Yin *et al.* 2006). Neuere Arbeiten konnten jedoch zeigen, daß eine 6-OHDA-Läsion im pDMS das zielgerichtete Verhalten nicht beeinträchtigt, da die Tiere noch sensitiv auf eine Ergebnisdevaluation reagieren (Lex and Hauber 2009b). Die DAerge Transmission scheint vielmehr daran beteiligt zu sein Kontextinformationen, die das pDMS aus dem entorhinalen Kortex erreichen weiterzuverarbeiten (Lex and Hauber 2009a).

Welche Informationen übermittelt das DA-Signal in den betreffenden Strukturen? Wie schon in der Einleitung erwähnt, existieren zur Funktion von DA zum Teil widersprüchliche Hypothesen (Berridge 2007; Wise 2004). Die Vorhersagefehler-Hypothese (Schultz 1998) oder die „incentive salience“-Hypothese (Berridge and Robinson 1998) stellen die Aufgaben, die DA bei der Steuerung zielgerichteter Verhaltensweisen spielt, am besten dar. Im folgenden werden beide Hypothesen näher beleuchtet und auf die hier erzielten Ergebnisse angewendet. Nach Eingriffen in die DAerge Transmission im NAC waren Tiere in der Lage, neue Zusammenhänge zu erlernen, d.h. ihre Fähigkeit, umzulernen, war nicht beeinträchtigt. Der NAC und seine DA-Innervation scheint also beim Umlernen keine essentielle Rolle zu spielen. Die Blockade des DA-vermittelten Vorhersagefehlers (siehe 4.5.6) blieb ohne Auswirkungen auf das Umlernen. Demgegenüber war die Handlungsausführung der Tiere deutlich langsamer. Dafür sind keine motorischen Beeinträchtigungen verantwortlich, sondern mutmaßlich motivationale Faktoren. Zahlreiche weitere Arbeiten zeigen ebenfalls, daß Eingriffe in das accumbale DA-System der Tiere das motivationale Verhalten beeinflussten (Di Ciano 2008; Salamone *et al.* 2005; Salamone *et al.* 1997; Wyvell and Berridge 2000). Dies steht in Einklang mit der „incentive salience“-Hypothese. Sie besagt, daß DA den subjektiven Wert vermittelt, den ein Stimulus besitzt. Dabei geht der Anreiz, den eine erwartete Belohnung auf

das Verhalten hat, auf den Stimulus, der diese Belohnung vorhersagt, über. Es werden viele Faktoren in die „Bewertung“ dieses Stimulus einbezogen. Dazu gehören z.B. die Wahrscheinlichkeit, mit der der Stimulus zu einer Belohnung führt, oder der aktuelle physiologische Zustand des Organismus (z.B. Hunger), sowie der biologischen Wert (z.B. Nährwert) der zu erwartenden Belohnung (z.B. Aragona *et al.* 2006; Everitt and Robbins 2005; Roitman *et al.* 2004; Volkow *et al.* 2005). Beide Einflußgrößen haben jedoch wenig Auswirkung auf die beobachteten Defizite. Die Wahrscheinlichkeit der Gabe einer Futterbelohnung nach Betätigung des Hebels lag bei 100%. Auch der Hungerzustand der Tiere war annähernd gleich, da alle Tiere während des Versuchszeitraums gleichermaßen restriktiv mit Futter versorgt wurden. Möglich wäre aber ebenso, daß die Tiere nicht mehr in der Lage sind, Informationen über die geänderten Stimulus-Belohnungs-Beziehungen mittels des Vorhersagefehlersignals der DA-Neurone an nachfolgende Neurone weiterzugeben und damit das zielgerichtete Verhalten entsprechend zu verstärken oder abzuschwächen.

Eine DA-Blockade im OFC dagegen ist ein Spiegelbild der Auswirkungen einer DA-Blockade im NAC. Die Fähigkeit der Tiere, einmal gelernte Zusammenhänge umzulernen, ist nach Injektion von DA-Rezeptorantagonisten in den OFC während der Umlernphase beeinträchtigt. Die Intensität der Handlungsausführung bleibt dagegen davon unbeeinflusst. Diese Beobachtungen stehen in Einklang mit der Vorhersagefehlertheorie. Demnach ist das Umlernen einer einmal gelernten Stimulus-Belohnungs-Beziehung von DA im OFC abhängig. Durch die Beeinträchtigung der dopaminergen Transmission ist das Umlernen nicht mehr möglich, und den Tieren gelingt es folglich nicht, ihr Verhalten den neuen Zuordnungsregeln anzupassen. Wie zuvor beim NAC könnte allerdings auch hier das beobachtete Verhaltensdefizit durch die Hypothese des „incentive salience“ erklärt werden. Das fehlende DA-Signal über den Anreizwert der zu erwartenden Belohnung, nämlich die belohnenden Qualitäten von fünf bzw. einem Sucrosepellet(s), kann nicht mehr zur Steuerung des Verhaltens verwendet werden.

Etwas schwieriger gestaltet sich die Einordnung der Ergebnisse aus Experiment 3. Neueste Arbeiten zur Vorhersagefehlertheorie besagen, daß nicht die absolute Menge einer Belohnung darin codiert wird, sondern die relative Veränderung der erhaltenen zur vorausgesagten Belohnungsstärke (Schultz 2007a; Tobler *et al.* 2005). Das

Gehirn macht nach dieser Hypothese bei der Wahrnehmung eines Stimulus eine Vorhersage auf die zu erwartende Belohnungsmenge. Dazu dient die in der Vergangenheit erhaltene Belohnungsstärke als eine Art Referenzwert. Diese Informationen über unterschiedliche Belohnungsstärken bzw. das Vorhersagefehlersignal können in unserem Fall aber nicht in die Verhaltenssteuerung im pDMS einfließen, da die dopaminerge Transmission im pDMS von Beginn des Verhaltenstestes an durch die 6-OHDA Läsion unterbrochen ist. Interessanterweise können die Tiere die Stimuli aber trotzdem diskriminieren. Sie sind allerdings nicht in der Lage, ihr Verhalten entsprechend den Zuordnungsregeln an die unterschiedlichen Belohnungsstärken anzupassen. Überraschend ist die Tatsache, daß die beeinträchtigte Verhaltensanpassung „zurückkehrt“, sobald zwischen einem belohnten und einem nicht belohnten Stimulus unterschieden werden muß. DA scheint demzufolge im pDMS nur am viel Belohnung - wenig Belohnung-Diskriminationsverhalten beteiligt zu sein.

Sowohl die Vorhersagefehler-Hypothese, als auch die Theorie des „incentive salience“ ist in der Lage, die beobachteten Ergebnisse zu erklären. Zusammenfassend läßt sich sagen, daß derzeit leider keine allgemein gültigen Theorien zur Funktion von DA existieren, die mit allen in der Vergangenheit beobachteten Verhaltenseffekten korrespondiert. Offenbar ist die Funktion von DA an der Steuerung zielgerichteter Verhaltensweisen und der Vermittlung der Verhaltensflexibilität abhängig vom untersuchten Hirnareal. Dabei scheint die Zeit, in der diese Funktionen ablaufen, ein weiteres wichtiges Kriterium zu sein (Übersicht in Schultz 2007a). Die Zeitspanne geht dabei von einigen ms bis hin zu größeren Perioden von bis zu mehreren Stunden. In der kürzesten Zeitspanne spielt DA eine Rolle beim Belohnungslernen und der Bewertung einer erwarteten Belohnung. In den größeren Perioden erreicht der DA-Spiegel einen steady-state Zustand, der für ein „Enabling“ der Signale in postsynaptischen Strukturen wie dem Striatum oder frontalen Kortex sorgt. In dem dazwischen liegenden Zeitraum sind verschiedene andere Funktionen codiert, wie z.B. die Vermittlung der Wahrscheinlichkeit eines Ereignisses (Schultz *et al.* 2008; St Onge and Floresco 2009; Tan and Bullock 2008a; Tan and Bullock 2008b), oder die - über Voltametrie oder Mikrodialyse gemessene - Antwort der DA-Neurone auf aversive Reize (z.B. Anstrom *et al.* 2009; Jeanblanc *et al.* 2002; Martinez *et al.* 2008).

Allerdings bietet die im Vergleich mit anderen Neurotransmittersystemen recht geringe Zahl an DA-Neuronen bei weitem nicht genügend Kapazitäten, um alle vermuteten Funktionen selber auszuführen. Vielmehr scheint DA für eine Art Aktivierung zu sorgen, die es den jeweils am Verhalten beteiligten Arealen ermöglicht ihre Funktionen adäquat auszufüllen. Das führt dazu, daß ein Fehlen von DA im Falle von gezielten Eingriffen am Gehirn, oder bei spezifischen Krankheiten wie z.B. Parkinson so gravierende Auswirkungen auf ganz verschiedene Arten von Verhalten hat.

### 6.11 Zusammenfassung

DA moduliert auf vielfältige Weise instrumentelles Verhalten. Betrachtet man die Aktivität von DA-Neuronen, so fällt auf, daß Signale in unterschiedlichen Zeitfenstern übermittelt werden, die unterschiedliche Informationen beinhalten. Sog. Vorhersagefehlersignale sind in kurzfristigen, wenige Millisekunden dauernden Aktivitätsänderungen verschlüsselt. Auch die Wahrscheinlichkeit, mit der bestimmte Ereignisse auftreten, ist in kurzfristigen Aktivitätsänderungen DAerger Neurone kodiert. Aktivitätsänderungen von DA-Neuronen in Minutenbereichen (ca. 10-30min) kodieren das Auftreten signifikanter Ereignisse in der Umwelt, z.B. von Nahrung. Darüber hinaus spielt die basale DA-Freisetzung per se eine wichtige Rolle. Die Präsenz einer basalen DA-Konzentration ist vielfach Voraussetzung dafür, daß bestimmte Hirnfunktionen - wie z.B. die Motorik realisiert - werden können. Das ist deutlich an den Ausfallserscheinungen zu erkennen, wie sie bei Morbus Parkinson zu Tage treten.

Diese DA-Signale in verschiedenen Zeitfenstern steuern auf komplexe Weise instrumentelles Verhalten. Verschiedene Hypothesen spezifizieren den Beitrag, den DA hierbei leistet. Einige wesentliche Hypothesen wurden angesprochen. Die Vorhersagefehlertheorie schreibt DA-Signalen eine bedeutsame Rolle bei instrumentellen Lernvorgängen zu. Die „*incentive salience*“-Hypothese dagegen besagt, daß DA-Signale für die Übertragung der motivationalen Eigenschaften einer Belohnung auf den zugehörigen belohnungsprädiktiven Stimulus verantwortlich sind.

DA erfüllt diese verhaltenssteuernde Funktion durch die Modulation v.a. von zwei Schaltkreisen: der limbischen und der assoziativen Funktionsschleife. Die limbische Funktionsschleife steuert motivationale Funktionen, die assoziative Schleife verschiedene Lernfunktionen. Dabei sind v.a. Signale relevant, die über die  $D_1$  und die  $D_2$ -Rezeptoren übermittelt werden.

Ein wesentliches, noch weitgehend offenes Problem war, auf welche Weise DA-Signale in der limbischen und assoziativen Schleife zur Steuerung instrumentellen Verhaltens beitragen. Bisherige Untersuchungen legten nahe, daß der Beitrag von DA in den einzelnen Teilstrukturen der Schleifen nicht einheitlich ist und das Muster der beteiligten DA-Rezeptoren ebenfalls heterogen zu sein scheint. In der vorliegenden Untersuchung wurde die Rolle von DA-Signalen in 2 Strukturen der limbischen und einer Teilstruktur der assoziativen Schleifen untersucht. Eine Blockade der  $D_1$ - und  $D_2$ -Rezeptoren im OFC, der Teil der limbischen Funktionsschleife ist, beeinträchtigte eine spezielle Form des instrumentellen Lernens, nämlich das Umlernen einmal gelernter S-O-Assoziationen. Dieser Befund konnte mit Hilfe der von Schulz erstmalig postulierten Vorhersagefehlerhypothese erklärt werden. Die Intensität des instrumentellen Verhaltens blieb jedoch von der Blockade unbeeinträchtigt. D.h., DA scheint im OFC keine motivationalen Aufgaben bei der Steuerung des instrumentellen Verhaltens der Tiere zu erfüllen, und beide DA-Rezeptor-Subtypen sind gleichermaßen an der Vermittlung dieses Verhaltens beteiligt.

Im NAC führt demgegenüber eine Blockade der  $D_1$ - und der  $D_2$ -Rezeptoren zu keiner Störung des Umlernverhaltens, vielmehr war hier die Intensität des Verhaltens generell verringert. DA-Signale im NAC über sowohl die  $D_1$ - als auch die  $D_2$ -Rezeptoren dienen also der Steuerung der motivationalen Komponente des instrumentellen Verhaltens. Eine mögliche Erklärung wäre, daß die motivationale Wirkung, die von den Stimuli ausgeht, reduziert war („incentive salience“). Hierfür sind vermutlich DA-Signale relevant, die in einem „mittleren“ Zeitfenster, d.h. Minutenbereich, übermittelt werden. Interessanterweise führte die Blockade der  $D_1$ - und  $D_2$ -Rezeptoren nicht zu Störungen des instrumentellen Lernverhaltens. Dies stimmt mit der Annahme überein, daß der NAC eine untergeordnete Rolle bei assoziativen Lernvorgängen spielt. Betrachtet man die DA-Modulation von OFC und NAC, wird deutlich, daß DA in unterschiedlichen Teilbereichen derselben Funktionsschleife abweichende Funktionen erfüllt. Während DA im OFC vornehmlich

an der Steuerung des Umlernverhaltens beteiligt ist, steuern DA-Signale im NAC hauptsächlich motivationale Komponenten des Verhaltens.

Bei Betrachtung des pDMS wird deutlich, daß die DA-Modulation eine Anpassung des instrumentellen Verhaltens an belohnungsprädiktive Stimuli ermöglicht. Die Tiere waren beeinträchtigt, ihr instrumentelles Verhalten an Signale anzupassen, die verschiedene Belohnungsmengen signalisierten. Auch wenn einige Details dieser Modulation noch der genaueren Klärung bedürfen, bleibt festzuhalten, daß DA-Signale im pDMS an der Steuerung kognitiver Verhaltensweisen mitwirken und nicht wie im NAC die motivationale Komponenten des Verhaltens steuern. Eine mögliche Erklärung für die beobachteten Verhaltensbeeinträchtigungen nach einer DA-Läsion im pDMS könnte ebenfalls die schon erwähnte Vorhersagefehlerhypothese von Schultz liefern. Hier scheinen DA-Signale im Subsekunden- bis Millisekundenbereich zu der Anpassung des Verhaltens an belohnungsprädiktive Stimuli beizutragen. Dies ist eine der ersten Arbeiten, die zeigen konnte, daß eine DA-Modulation der assoziativen Schleife für die von ihr erbrachten kognitiven Leistungen wichtig ist.

Aus all diesen Beobachtungen lassen sich abschließend folgende Punkte zusammenfassen: 1. Die DA-Modulation in unterschiedlichen Zielgebieten DAerger Neurone erfüllt unterschiedliche Funktionen. 2. Selbst wenn die Zielgebiete derselben Funktionsschleife angehören, können diese Funktionen verschieden sein. 3. Die funktionelle Unterteilung der Funktionsschleifen in eine assoziative und eine limbische ist in manchen Fällen nicht eindeutig. Es gibt einige funktionelle Überlappungen, die eine strikte Trennung der beiden Funktionsschleifen schwierig machen.

## 7 Literaturverzeichnis

- Adams, S., R. P. Kesner and M. E. Ragozzino (2001). "Role of the medial and lateral caudate-putamen in mediating an auditory conditional response association." Neurobiol Learn Mem 76(1): 106-116.
- Agnati, L. F., M. Zoli, I. Stromberg and K. Fuxe (1995). "Intercellular communication in the brain: wiring versus volume transmission." Neuroscience 69(3): 711-726.
- Aktories, K., U. Förstermann, F. Hofmann and K. Starke (2005). "Allgemeine und Spezielle Pharmakologie und Toxikologie." Urban & Fischer München 9. Auflage.
- Albin, R. L., A. B. Young and J. B. Penney (1989). "The functional anatomy of basal ganglia disorders." Trends Neurosci 12(10): 366-375.
- Alexander, G. E. and M. D. Crutcher (1990). "Functional architecture of basal ganglia circuits: neural substrates of parallel processing." Trends Neurosci 13(7): 266-271.
- Anstrom, K. K., K. A. Miczek and E. A. Budygin (2009). "Increased phasic dopamine signaling in the mesolimbic pathway during social defeat in rats." Neuroscience 161(1): 3-12.
- Balleine, B. W., A. S. Killcross and A. Dickinson (2003). "The effect of lesions of the basolateral amygdala on instrumental conditioning." J Neurosci 23(2): 666-675.
- Barbeau, A. (1972). "Role of dopamine in the nervous system." Monogr Hum Genet 6: 114-136.
- Berg, J. M., L. Stryer and J. L. Tymoczko (2007). "Biochemie." Spektrum Akademischer Verlag.
- Berridge, K. C. (2000). "Measuring hedonic impact in animals and infants: microstructure of affective taste reactivity patterns." Neurosci Biobehav Rev 24(2): 173-198.
- Berridge, K. C. (2007). "The debate over dopamine's role in reward: the case for incentive salience." Psychopharmacology (Berl) 191(3): 391-431.



- Berridge, K. C. and T. E. Robinson (1998). "What is the role of dopamine in reward: hedonic impact, reward learning, or incentive salience?" Brain Res Rev 28: 309-369.
- Berridge, K. C. and T. E. Robinson (2003). "Parsing reward." Trends Neurosci 26(9): 507-513.
- Birrell, J. M. and V. J. Brown (2000). "Medial frontal cortex mediates perceptual attentional set shifting in the rat." J Neurosci 20(11): 4320-4324.
- Bjorklund, A. and S. B. Dunnett (2007). "Dopamine neuron systems in the brain: an update." Trends Neurosci 30(5): 194-202.
- Blundell, P., G. Hall and S. Killcross (2001). "Lesions of the basolateral amygdala disrupt selective aspects of reinforcer representation in rats." J Neurosci 21(22): 9018-9026.
- Bohn, I., C. Gierler and W. Hauber (2003). "NMDA receptors in the rat orbital prefrontal cortex are involved in guidance of instrumental behaviour under reversal conditions." Cereb Cortex 13(9): 968-976.
- Brennan, A. R. and A. F. Arnsten (2008). "Neuronal mechanisms underlying attention deficit hyperactivity disorder: the influence of arousal on prefrontal cortical function." Ann N Y Acad Sci 1129: 236-245.
- Cagniard, B., P. D. Balsam, D. Brunner and X. Zhuang (2006). "Mice with chronically elevated dopamine exhibit enhanced motivation, but not learning, for a food reward." Neuropsychopharmacology 31(7): 1362-1370.
- Caille, I., B. Dumartin and B. Bloch (1996). "Ultrastructural localization of D1 dopamine receptor immunoreactivity in rat striatonigral neurons and its relation with dopaminergic innervation." Brain Res 730(1-2): 17-31.
- Cakmakli, G. Y., H. Oruckaptan, E. Saka and B. Elibol (2009). "Reversible acute cognitive dysfunction induced by bilateral STN stimulation." J Neurol (pub ahead of print)
- Cardinal, R. N., D. R. Pennicott, C. L. Sugathapala, T. W. Robbins and B. J. Everitt (2001). "Impulsive choice induced in rats by lesions of the nucleus accumbens core." Science 292(5526): 2499-2501.
- Carelli, R. M. and S. A. Deadwyler (1997). "Cellular mechanisms underlying reinforcement-related processing in the nucleus accumbens:

- electrophysiological studies in behaving animals." Pharmacol Biochem Behav 57(3): 495-504.
- Carlson, N. R. (2004). "Physiologische Psychologie." Pearson Studium 8. Ausgabe.
- Chamberlain, S. R., L. Menzies, A. Hampshire, J. Suckling, N. A. Fineberg, N. del Campo, M. Aitken, K. Craig, A. M. Owen, E. T. Bullmore, T. W. Robbins and B. J. Sahakian (2008). "Orbitofrontal dysfunction in patients with obsessive-compulsive disorder and their unaffected relatives." Science 321(5887): 421-422.
- Chase, H. W., L. Clark, C. E. Myers, M. A. Gluck, B. J. Sahakian, E. T. Bullmore and T. W. Robbins (2008). "The role of the orbitofrontal cortex in human discrimination learning." Neuropsychologia 46(5): 1326-1337.
- Cheng, J. and M. G. Feenstra (2006). "Individual differences in dopamine efflux in nucleus accumbens shell and core during instrumental learning." Learn Mem 13(2): 168-177.
- Christoph, G. R., R. J. Leonzio and K. S. Wilcox (1986). "Stimulation of the lateral habenula inhibits dopamine-containing neurons in the Substantia nigra and ventral tegmental area of the rat." J Neurosci 6(3): 613-619.
- Chudasama, Y., J. D. Kralik and E. A. Murray (2007). "Rhesus monkeys with orbital prefrontal cortex lesions can learn to inhibit prepotent responses in the reversed reward contingency task." Cereb Cortex 17(5): 1154-1159.
- Clarke, H. F., S. C. Walker, J. W. Dalley, T. W. Robbins and A. C. Roberts (2007). "Cognitive inflexibility after prefrontal serotonin depletion is behaviorally and neurochemically specific." Cereb Cortex 17(1): 18-27.
- Collingridge, G. (1987). "The role of NMDA receptors in learning and memory." Nature 330(17): 604.
- Cooper, J. R., F. E. Bloom and R. H. Roth (2004). "The Biochemical Basis of Neuropharmacology." Oxford Univ. Pr. 8. Auflage.
- Corbit, L. H. and P. H. Janak (2007). "Inactivation of the lateral but not medial dorsal striatum eliminates the excitatory impact of Pavlovian stimuli on instrumental responding." J Neurosci 27(51): 13977-13981.
- Costa, R. M., R. Gutierrez, I. E. de Araujo, M. R. Coelho, A. D. Kloth, R. R. Gainetdinov, M. G. Caron, M. A. Nicolelis and S. A. Simon (2007). "Dopamine

- levels modulate the updating of tastant values." Genes Brain Behav 6(4): 314-320.
- Cromwell, H. C. and W. Schultz (2003). "Effects of expectations for different reward magnitudes on neuronal activity in primate striatum." J Neurophysiol 89(5): 2823-2838.
- Dahlstrom, A. and K. Fuxe (1964). "Localization of monoamines in the lower brain stem." Experientia 20(7): 398-399.
- Delgado, M. R. (2007). "Reward-related responses in the human striatum." Ann N Y Acad Sci 1104: 70-88.
- Devoto, P. and G. Flore (2006). "On the Origin of Cortical Dopamine: Is it a Co-Transmitter in Noradrenergic Neurons?" Curr Neuropharmacol 4(2): 115-125.
- Di Ciano, P. (2008). "Distinct contributions of dopamine receptors in the nucleus accumbens core or shell to established cocaine reinforcement under a second-order schedule." Eur Neuropsychopharmacol 18(12): 888-896.
- Dickinson, A. and B. Balleine (1994). "Motivational control of goal-directed action." Animal Learn Behav 22: 1-18.
- Emson, P. C. (1993). "In-situ hybridisation as a methodological tool for the neuroscientist." Trends Neurosci 16(1): 9.
- Fallon, S., E. Shearman, H. Sershen and A. Lajtha (2007). "Food reward-induced neurotransmitter changes in cognitive brain regions." Neurochem Res 32(10): 1772-1782.
- Featherstone, R. E. and R. J. McDonald (2004). "Dorsal striatum and stimulus-response learning: lesions of the dorsolateral, but not dorsomedial, striatum impair acquisition of a simple discrimination task." Behav Brain Res 150(1-2): 15-23.
- Floresco, S. B., O. Magyar, S. Ghods-Sharifi, C. Vexelman and M. T. Tse (2006). "Multiple dopamine receptor subtypes in the medial prefrontal cortex of the rat regulate set-shifting." Neuropsychopharmacology 31(2): 297-309.
- Furuyashiki, T., P. C. Holland and M. Gallagher (2008). "Rat orbitofrontal cortex separately encodes response and outcome information during performance of goal-directed behavior." J Neurosci 28(19): 5127-5138.
- Fuxe, K., L. F. Agnati, M. Kalia, M. Goldstein, K. Andersson and A. Härfstrand (1985). Dopaminergic systems in the brain and pituitary, Springer Sandoz.

- Gallagher, M., R. W. McMahan and G. Schoenbaum (1999). "Orbitofrontal cortex and representation of incentive value in associative learning." J Neurosci 19(15): 6610-6614.
- Garris, P. A., E. L. Ciolkowski, P. Pastore and R. M. Wightman (1994). "Efflux of dopamine from the synaptic cleft in the nucleus accumbens of the rat brain." J Neurosci 14(10): 6084-6093.
- Gauntlett-Gilbert, J. and V. J. Brown (1998). "Reaction time deficits and Parkinson's disease." Neurosci Biobehav Rev 22(6): 865-881.
- Gerfen, C. R. (2000). "Molecular effects of dopamine on striatal-projection pathways." Trends Neurosci 23(10 Suppl): 64-70.
- Giertler, C. (2003). "Die Rolle des Nucleus accumbens bei der Akquisition und Expression von instrumentellem Verhalten der Ratte.
- Giertler, C., I. Bohn and W. Hauber (2005). "Involvement of NMDA and AMPA/KA receptors in the nucleus accumbens core in instrumental learning guided by reward-predictive cues." Eur J Neurosci 21(6): 1689-1702.
- Grace, A. A. (2008). "Physiology of the normal and dopamine-depleted basal ganglia: insights into levodopa pharmacotherapy." Mov Disord 23 Suppl 3: 560-569.
- Grace, A. A., S. B. Floresco, Y. Goto and D. J. Lodge (2007). "Regulation of firing of dopaminergic neurons and control of goal-directed behaviors." Trends Neurosci 30(5): 220-227.
- Grahn, J. A., J. A. Parkinson and A. M. Owen (2009). "The role of the basal ganglia in learning and memory: neuropsychological studies." Behav Brain Res 199(1): 53-60.
- Graybiel, A. M. (1998). "The basal ganglia and chunking of action repertoires." Neurobiol Learn Mem 70(1-2): 119-136.
- Groenewegen, H. J. and M. Trimble (2007). "The ventral striatum as an interface between the limbic and motor systems." CNS Spectr 12(12): 887-892.
- Groenewegen, H. J. and H. B. Uylings (2000). "The prefrontal cortex and the integration of sensory, limbic and autonomic information." Prog Brain Res 126: 3-28.
- Hanser, H. (2001). "Lexikon der Neurowissenschaften." Spektrum Akademischer Verlag.

- Hassani, O. K., H. C. Cromwell and W. Schultz (2001). "Influence of expectation of different rewards on behavior-related neuronal activity in the striatum." J Neurophysiol 85(6): 2477-2489.
- Hikosaka, O., Y. Takikawa and R. Kawagoe (2000). "Role of the basal ganglia in the control of purposive saccadic eye movements." Physiol Rev 80(3): 953-978.
- Holland, P. C. and M. Gallagher (2004). "Amygdala-frontal interactions and reward expectancy." Curr Opin Neurobiol 14(2): 148-155.
- Hollerman, J. R. and W. Schultz (1998). "Dopamine neurons report an error in the temporal prediction of reward during learning." Nat Neurosci 1(4): 304-309.
- Jaeger, D., S. Gilman and J. W. Aldridge (1993). "Primate basal ganglia activity in a precued reaching task - preparation for movement." Exp Brain Res 95(1): 51.
- Janhunen, S. and L. Ahtee (2007). "Differential nicotinic regulation of the nigrostriatal and mesolimbic dopaminergic pathways: implications for drug development." Neurosci Biobehav Rev 31(3): 287-314.
- Jeanblanc, J., A. Hoeltzel and A. Louilot (2002). "Dissociation in the involvement of dopaminergic neurons innervating the core and shell subregions of the nucleus accumbens in latent inhibition and affective perception." Neuroscience 111(2): 315-323.
- Ji, H. and P. D. Shepard (2007). "Lateral habenula stimulation inhibits rat midbrain dopamine neurons through a GABA(A) receptor-mediated mechanism." J Neurosci 27(26): 6923-6930.
- Joel, D. and I. Weiner (2000). "The connections of the dopaminergic system with the striatum in rats and primates: an analysis with respect to the functional and compartmental organization of the striatum." Neuroscience 96(3): 451-474.
- Jog, M. S., Y. Kubota, C. I. Connolly, V. Hillegaart and A. M. Graybiel (1999). "Building neural representations of habits." Science 286(5445): 1745-1759.
- Kalivas, P. W. and M. Nakamura (1999). "Neural systems for behavioural activation and reward." Curr Opin Neurobiol 9: 223-227.
- Kandel, E. R., J. H. Schwartz and T. M. Jessel (2000). "Principles of Neural Science." McGraw-Hill, New York.
- Karnath, H. O. (2006). "Neuropsychologie." Springer, Berlin 2. Auflage.

- Kawagoe, R., Y. Takikawa and O. Hikosaka (1998). "Expectation of reward modulates cognitive signals in the basal ganglia." Nature Neurosci 1(5): 411-416.
- Kawaguchi, Y., C. J. Wilson, S. J. Augood and P. C. Emson (1995). "Striatal interneurons: chemical, physiological and morphological characterization." Trends Neurosci 18: 527-535.
- Kimura, M. (1990). "Behaviorally contingent property of movement-related activity of the primate putamen." J Neurophysiol 63(6): 1277.
- Kimura, M. (1992). "Behavioral modulation of sensory responses of primate putamen neurons." Brain Res 578(1-2): 204.
- Kolb, B. (1984). "Functions of the frontal cortex of the rat: a comparative review." Brain Res 320(1): 65-98.
- Kolb, B. and A. J. Nonneman (1974). "Frontolimbic lesions and social behavior in the rat." Physiol Behav 13(5): 637-643.
- Koob, G. F. (1982). "The dopamine anhedonia hypothesis: a pharmacological Phrenology" Behav Brain Sci 5: 63-64.
- Kreitzer, A. C. and R. C. Malenka (2008). "Striatal plasticity and basal ganglia circuit function." Neuron 60(4): 543-554.
- Kruk, Z. L. and C. J. Pycock (1991). "Neurotransmitters and Drugs." Kluwer Academic Pub.
- Lacey, C. J., J. Boyes, O. Gerlach, L. Chen, P. J. Magill and J. P. Bolam (2005). "GABA(B) receptors at glutamatergic synapses in the rat striatum." Neuroscience 136(4): 1083-1095.
- Lau, B. and P. W. Glimcher (2007). "Action and outcome encoding in the primate caudate nucleus." J Neurosci 27(52): 14502-14514.
- Lau, B. and P. W. Glimcher (2008). "Value representations in the primate striatum during matching behavior." Neuron 58(3): 451-463.
- Lecourtier, L., A. Defrancesco and B. Moghaddam (2008). "Differential tonic influence of lateral habenula on prefrontal cortex and nucleus accumbens dopamine release." Eur J Neurosci 27(7): 1755-1762.
- Lex, B. and W. Hauber (2009a). "Disconnection of the entorhinal cortex and the dorsomedial striatum impairs the sensitivity to instrumental contingency degradation." Cereb Cortex (submitted).

- Lex, B. and W. Hauber (2009b). "The Role of Dopamine in the Prelimbic Cortex and the Dorsomedial Striatum in Instrumental Conditioning." Cereb Cortex (epub ahead of print).
- Martinez, R. C., A. R. Oliveira, C. E. Macedo, V. A. Molina and M. L. Brandao (2008). "Involvement of dopaminergic mechanisms in the nucleus accumbens core and shell subregions in the expression of fear conditioning." Neurosci Lett 446(2-3): 112-116.
- McDannald, M. A., M. P. Saddoris, M. Gallagher and P. C. Holland (2005). "Lesions of orbitofrontal cortex impair rats' differential outcome expectancy learning but not conditioned stimulus-potentiated feeding." J Neurosci 25(18): 4626-4632.
- McGeorge, A. J. and R. L. M. Faull (1987). "The organization and collateralization of corticostriate neurons in the motor and sensory cortex of the rat brain." Brain Res 423: 318.
- McGeorge, A. J. and R. L. M. Faull (1989). "The organization of the projection from the cerebral cortex to the striatum in the rat." Neuroscience 29(3): 503-537.
- Murray, E. A., J. P. O'Doherty and G. Schoenbaum (2007). "What we know and do not know about the functions of the orbitofrontal cortex after 20 years of cross-species studies." J Neurosci 27(31): 8166-8169.
- Nakamura, K. and O. Hikosaka (2006). "Role of dopamine in the primate caudate nucleus in reward modulation of saccades." J Neurosci 26(20): 5360-5369.
- Nakanishi, H. and K. Yamamoto (1991). "NMDA receptor mediated neurotransmission in the basal ganglia and limbic system of the rat." NMDA Receptor related Agents: 141.
- Nakano, K. (2000). "Neural circuits and topographic organization of the basal ganglia and related regions [In Process Citation]." Brain Dev 22 Suppl 1: 5-16.
- O'Doherty, J. (2003). "Can't learn without you: predictive value coding in orbitofrontal cortex requires the basolateral amygdala." Neuron 39(5): 731-733.
- O'Neill, M. and V. J. Brown (2007). "The effect of striatal dopamine depletion and the adenosine A2A antagonist KW-6002 on reversal learning in rats." Neurobiol Learn Mem 88(1): 75-81.
- Oades, R. D. and G. M. Halliday (1987). "Ventral tegmental (A10) system: neurobiology. 1. Anatomy and connectivity." Brain Res 434(2): 117-165.

- Pan, W. X. and B. I. Hyland (2005). "Pedunculo-pontine tegmental nucleus controls conditioned responses of midbrain dopamine neurons in behaving rats." J Neurosci 25(19): 4725-4732.
- Parent, A. and L.-N. Hazrati (1993). "Anatomical aspects of information processing in primate basal ganglia." Trends Neurosci 16(3): 111.
- Pellegrini-Giampietro, D., J. A. Gorter, M. V. L. Bennett and R. S. Zukin (1997). "The GluR2 (GluR-B) hypothesis: Ca<sup>2+</sup>-permeable AMPA receptors in neurological disorders." Trends Neurosci 20(10): 464-470.
- Phillimore, L. S. (2008). "Discrimination: from behaviour to brain." Behav Processes 77(2): 285-297.
- Pickens, C. L., M. P. Sadoris, M. Gallagher and P. C. Holland (2005). "Orbitofrontal lesions impair use of cue-outcome associations in a devaluation task." Behav Neurosci 119(1): 317-322.
- Pickens, C. L., M. P. Sadoris, B. Setlow, M. Gallagher, P. C. Holland and G. Schoenbaum (2003). "Different roles for orbitofrontal cortex and basolateral amygdala in a reinforcer devaluation task." J Neurosci 23(35): 11078-11084.
- Ragozzino, M. E. (2007). "The contribution of the medial prefrontal cortex, orbitofrontal cortex, and dorsomedial striatum to behavioral flexibility." Ann N Y Acad Sci 1121: 355-375.
- Ramirez, D. R. and L. M. Savage (2007). "Differential involvement of the basolateral amygdala, orbitofrontal cortex, and nucleus accumbens core in the acquisition and use of reward expectancies." Behav Neurosci 121(5): 896-906.
- Reep, R. L., J. V. Corwin and V. King (1996). "Neuronal connections of orbital cortex in rats: topography of cortical and thalamic afferents." Exp Brain Res 111(2): 215-232.
- Rice, M. E. and S. J. Cragg (2004). "Nicotine amplifies reward-related dopamine signals in striatum." Nat Neurosci 7(6): 583-584.
- Robinson, S., S. M. Sandstrom, V. H. Denenberg and R. D. Palmiter (2005). "Distinguishing whether dopamine regulates liking, wanting, and/or learning about rewards." Behav Neurosci 119(1): 5-15.
- Roesch, M. R., D. J. Calu and G. Schoenbaum (2007). "Dopamine neurons encode the better option in rats deciding between differently delayed or sized rewards." Nat Neurosci 10(12): 1615-1624.



- Rolls, E. T. (2000). "The orbitofrontal cortex and reward." Cereb Cortex 10(3): 284-294.
- Rosenblatt, A. and I. Leroi (2000). "Neuropsychiatry of Huntington's disease and other basal ganglia disorders." Psychosomatics 41(1): 24-30.
- Rosenkilde, C. E., R. H. Bauer and J. M. Fuster (1981). "Single cell activity in ventral prefrontal cortex of behaving monkeys." Brain Res 209(2): 375-394.
- Salamone, J. D. (1994). "The involvement of nucleus accumbens dopamine in appetitive and aversive motivation." Behav Brain Res 61(2): 117.
- Salamone, J. D. (2009). "Dopamine, effort, and decision making: theoretical comment on Bardgett et al. (2009)." Behav Neurosci 123(2): 463-467.
- Salamone, J. D. and M. Correa (2002). "Motivational views of reinforcement: implications for understanding the behavioral functions of nucleus accumbens dopamine." Behav Brain Res 137(1-2): 3-25.
- Salamone, J. D., M. Correa, S. M. Mingote and S. M. Weber (2005). "Beyond the reward hypothesis: alternative functions of nucleus accumbens dopamine." Curr Opin Pharmacol 5(1): 34-41.
- Salamone, J. D., M. S. Cousins and B. J. Snyder (1997). "Behavioral functions of nucleus accumbens dopamine: empirical and conceptual problems with the anhedonia hypothesis." Neurosci Biobehav Rev 21(3): 341-359.
- Schilman, E. A., H. B. Uylings, Y. Galis-de Graaf, D. Joel and H. J. Groenewegen (2008). "The orbital cortex in rats topographically projects to central parts of the caudate-putamen complex." Neurosci Lett 432(1): 40-45.
- Schoenbaum, G., A. A. Chiba and M. Gallagher (2000). "Changes in functional connectivity in orbitofrontal cortex and basolateral amygdala during learning and reversal training." J Neurosci 20(13): 5179-5189.
- Schoenbaum, G., M. R. Roesch and T. A. Stalnaker (2006). "Orbitofrontal cortex, decision-making and drug addiction." Trends Neurosci 29(2): 116-124.
- Schoenbaum, G., B. Setlow, S. L. Nugent, M. P. Saddoris and M. Gallagher (2003a). "Lesions of orbitofrontal cortex and basolateral amygdala complex disrupt acquisition of odor-guided discriminations and reversals." Learn Mem 10(2): 129-140.
- Schoenbaum, G., B. Setlow, M. P. Saddoris and M. Gallagher (2003b). "Encoding Predicted Outcome and Acquired Value in Orbitofrontal Cortex during Cue

- Sampling Depends upon Input from Basolateral Amygdala." Neuron 39(5): 855-867.
- Schultz, W. (1998). "Predictive reward signal of dopamine neurons." J Neurophysiol 80(1): 1-27.
- Schultz, W. (2006). "Behavioral theories and the neurophysiology of reward." Annu Rev Psychol 57: 87-115.
- Schultz, W. (2007a). "Behavioral dopamine signals." Trends Neurosci 30(5): 203-10.
- Schultz, W. (2007b). "Multiple dopamine functions at different time courses." Annu Rev Neurosci 30: 259-288.
- Schultz, W., P. Apicella, E. Scarnati and T. Ljungberg (1992). "Neuronal activity in monkey ventral striatum related to the expectation of reward." J Neurosci 12(12): 4595.
- Schultz, W., P. Dayan and P. R. Montague (1997). "A neural substrate of prediction and reward." Science 275(5306): 1593-1599.
- Schultz, W., K. Preuschoff, C. Camerer, M. Hsu, C. D. Fiorillo, P. N. Tobler and P. Bossaerts (2008). "Explicit neural signals reflecting reward uncertainty." Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci 363(1511): 3801-3811.
- Schultz, W., L. Tremblay and J. R. Hollerman (2003). "Changes in behavior-related neuronal activity in the striatum during learning." Trends Neurosci 26(6): 321-8.
- Schweimer, J. and W. Hauber (2006). "Dopamine D1 receptors in the anterior cingulate cortex regulate effort-based decision making." Learn Mem 13(6): 777-782.
- Seeburg, P. (1993). "The molecular biology of mammalian glutamate receptor channels." Trends Pharm Sci 14(6): 297.
- Sesack, S. R., V. A. Hawrylak, C. Matus, M. A. Guido and A. I. Levey (1998). "Dopamine axon varicosities in the prelimbic division of the rat prefrontal cortex exhibit sparse immunoreactivity for the dopamine transporter." J Neurosci 18(7): 2697-2708.
- Sesia, T., Y. Temel, L. W. Lim, A. Blokland, H. W. Steinbusch and V. Visser-Vandewalle (2008). "Deep brain stimulation of the nucleus accumbens core and shell: Opposite effects on impulsive action." Exp Neurol 214 (1): 135-139.

- Setlow, B., M. Gallagher and P. C. Holland (2002). "The basolateral complex of the amygdala is necessary for acquisition but not expression of CS motivational value in appetitive Pavlovian second-order conditioning." Eur J Neurosci 15(11): 1841-1853.
- Snowden, J. S., D. Bathgate, A. Varma, A. Blackshaw, Z. C. Gibbons and D. Neary (2001). "Distinct behavioural profiles in frontotemporal dementia and semantic dementia." J Neurol Neurosurg Psychiatry 70(3): 323-332.
- Squire, L. R. (2008). "Fundamental Neuroscience." Academic Press 3. Auflage.
- St Onge, J. R. and S. B. Floresco (2009). "Dopaminergic modulation of risk-based decision making." Neuropsychopharmacology 34(3): 681-697.
- Stefani, M. R. and B. Moghaddam (2006). "Rule learning and reward contingency are associated with dissociable patterns of dopamine activation in the rat prefrontal cortex, nucleus accumbens, and dorsal striatum." J Neurosci 26(34): 8810-8818.
- Stern, C. E. and R. E. Passingham (1995). "The nucleus accumbens in monkeys (*Macaca fascicularis*). III. Reversal learning." Exp Brain Res 106(2): 239-247.
- Suaud-Chagny, M. F., K. Chergui, G. Chouvet and F. Gonon (1992). "Relationship between dopamine release in the rat nucleus accumbens and the discharge activity of dopaminergic neurons during local in vivo application of amino acids in the ventral tegmental area." Neuroscience 49(1): 63-72.
- Tan, C. O. and D. Bullock (2008a). "A local circuit model of learned striatal and dopamine cell responses under probabilistic schedules of reward." J Neurosci 28(40): 10062-10074.
- Tan, C. O. and D. Bullock (2008b). "Neuropeptide co-release with GABA may explain functional non-monotonic uncertainty responses in dopamine neurons." Neurosci Lett 430(3): 218-223.
- Thorpe, S. J., E. T. Rolls and S. Maddison (1983). "The orbitofrontal cortex: neuronal activity in the behaving monkey." Exp Brain Res 49(1): 93-115.
- Tobler, P. N., C. D. Fiorillo and W. Schultz (2005). "Adaptive coding of reward value by dopamine neurons." Science 307(5715): 1642-1645.
- Tremblay, L. and W. Schultz (1999). "Relative reward preference in primate orbitofrontal cortex." Nature 398(6729): 704-708.

- Tye, K. M. and P. H. Janak (2007). "Amygdala neurons differentially encode motivation and reinforcement." J Neurosci 27(15): 3937-3945.
- van Dongen, Y. C., J. M. Deniau, C. M. Pennartz, Y. Galis-de Graaf, P. Voorn, A. M. Thierry and H. J. Groenewegen (2005). "Anatomical evidence for direct connections between the shell and core subregions of the rat nucleus accumbens." Neuroscience 136(4): 1049-1071.
- van Dongen, Y. C., P. Maily, A. M. Thierry, H. J. Groenewegen and J. M. Deniau (2008). "Three-dimensional organization of dendrites and local axon collaterals of shell and core medium-sized spiny projection neurons of the rat nucleus accumbens." Brain Struct Funct 213(1-2): 129-147.
- White, I. M. and G. V. Rebec (1993). "Responses of rat striatal neurons during performance of a lever-release version of a conditioned avoidance response task." Brain Res 616: 71.
- Wickelgren, I. (1997). "Getting a grasp on working memory." Science 275: 1580-1582.
- Winkler, C., D. Kirik, A. Bjorklund and S. B. Dunnett (2000). "Transplantation in the rat model of Parkinson's disease: ectopic versus homotopic graft placement." Prog Brain Res 127: 233-265.
- Winstanley, C. A., D. E. Theobald, J. W. Dalley, R. N. Cardinal and T. W. Robbins (2006). "Double dissociation between serotonergic and dopaminergic modulation of medial prefrontal and orbitofrontal cortex during a test of impulsive choice." Cereb Cortex 16(1): 106-114.
- Winter, S., M. Dieckmann and K. Schwabe (2009). "Dopamine in the prefrontal cortex regulates rats behavioral flexibility to changing reward value." Behav Brain Res 198(1): 206-213.
- Winters, B. D., T. W. Robbins and B. J. Everitt (2004). "Selective cholinergic denervation of the cingulate cortex impairs the acquisition and performance of a conditional visual discrimination in rats." Eur J Neurosci 19(2): 490-496.
- Wise, R. A. (1978). "Catecholamine theories of reward: a critical review." Brain Res 152(2): 215-247.
- Wise, R. A. (1994). "Cocaine reward and cocaine craving: the role of dopamine in perspective." NIDA Res Monogr 145: 191-206.

- Wise, R. A. (2004). "Dopamine, learning and motivation." Nat Rev Neurosci 5(6): 483-494.
- Wise, R. A. (2008). "Dopamine and reward: the anhedonia hypothesis 30 years on." Neurotox Res 14(2-3): 169-183.
- Wise, R. A. and H. V. Schwartz (1981). "Pimozide attenuates acquisition of lever-pressing for food in rats." Pharmacol Biochem Behav 15(4): 655-656.
- Wise, S. P. and P. L. Strick (1984). "Anatomical and physiological organization of the non-primary motor cortex." Trends Neurosci 7(11): 442-446.
- Wyvell, C. L. and K. C. Berridge (2000). "Intra-accumbens amphetamine increases the conditioned incentive salience of sucrose reward: enhancement of reward "wanting" without enhanced "liking" or response reinforcement." J Neurosci 20(21): 8122-8130.
- Yin, H. H. and B. J. Knowlton (2004). "Contributions of striatal subregions to place and response learning." Learn Mem 11(4): 459-463.
- Yin, H. H. and B. J. Knowlton (2006). "The role of the basal ganglia in habit formation." Nat Rev Neurosci 7(6): 464-476.
- Yin, H. H., B. J. Knowlton and B. W. Balleine (2004). "Lesions of dorsolateral striatum preserve outcome expectancy but disrupt habit formation in instrumental learning." Eur J Neurosci 19(1): 181-189.
- Yin, H. H., B. J. Knowlton and B. W. Balleine (2005a). "Blockade of NMDA receptors in the dorsomedial striatum prevents action-outcome learning in instrumental conditioning." Eur J Neurosci 22(2): 505-512.
- Yin, H. H., S. B. Ostlund, B. J. Knowlton and B. W. Balleine (2005b). "The role of the dorsomedial striatum in instrumental conditioning." Eur J Neurosci 22(2): 513-523.
- Yin, H. H., X. Zhuang and B. W. Balleine (2006). "Instrumental learning in hyperdopaminergic mice." Neurobiol Learn Mem 85(3): 283-288.
- Zahm, D. S., S. L. Jensen, E. S. Williams and J. R. Martin (1999). "Direct comparison of projections from the central amygdaloid region and nucleus accumbens shell." Eur J Neurosci 11(4): 1119-1126.
- Zoli, M., C. Torri, R. Ferrari, A. Jansson, I. Zini, K. Fuxe and L. F. Agnati (1998). "The emergence of the volume transmission concept." Brain Res Brain Res Rev 26(2-3): 136-147.

## 8 Danksagung

Abschließend danke ich allen, die zum Gelingen dieser Dissertation beigetragen haben.

Zuallererst möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. Hauber für die hervorragende Betreuung meiner Dissertation bedanken. Er stand mir jederzeit mit Rat und Tat zur Seite und nahm sich sehr viel Zeit zur Korrektur der eingereichten Publikationen und dieser Arbeit. Die anregenden Diskussionen über verschiedenste Lerntheorien erweiterten meinen „neurobiologischen Horizont“ in großem Maße.

Einen nicht minder wichtigen Anteil am Gelingen dieser Arbeit hatte Frau Prof. Dr. Franziska Wollnik, die jederzeit ein offenes Ohr für meine Anliegen hatte und vieles möglich gemacht hat, um einen reibungslosen Gelingen dieser Promotion zu gewährleisten.

Ein ganz besonderer Dank gilt meinen Mitpromovenden Anja und Björn Lex. Nicht nur die vielen „durchgetesteten“ Wochenenden, auch die Bereitschaft einander zu helfen wenn Not am Mann war, hat uns fest zusammengeschweißt.

Ganz herzlich möchte ich mich bei Angeline Votteler bedanken, die mich in der leider viel zu kurzen Zeit der Zusammenarbeit bei vielen molekularbiologischen und immunhistologischen Methoden tatkräftig unterstützte.

Darüber hinaus danke ich allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern der Abteilung für Tierphysiologie sowie des Biologischen Institutes für die kollegiale Zusammenarbeit und die immerwährende Hilfsbereitschaft.

Den finanziellen Rahmen für diese Arbeit lieferte die Friedrich-Naumann-Stiftung für die Freiheit, deren Stipendien-begleitendes interdisziplinäres Seminarprogramm immer eine Bereicherung für meine berufliche Laufbahn darstellen wird.

Mein größter Dank gilt jedoch Dir, Judith. Ohne Deine Liebe und bedingungslose Unterstützung wäre diese Arbeit niemals zustande gekommen. Danke.

