

Die Rolle von Dopamin in cortico-striatalen Schaltkreisen bei der Steuerung zielgerichteten Verhaltens

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

Vorgelegt von
Björn Lex
aus Osnabrück

Hauptberichter: Prof. Dr. Wolfgang Hauber
Mitberichter: Prof. Dr. Franziska Wollnik
Tag der mündlichen Prüfung: 19.07.2010



Biologisches Institut der Universität Stuttgart, 2010

Die vorliegende Arbeit wurde von mir selbstständig bearbeitet. Ich habe keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt. Die Koautoren der zur Veröffentlichung eingereichten Manuskripte sind jeweils genannt.

Stuttgart, den 16.06.2010

Björn Lex

Für Jonas & Marie

1. Inhaltsverzeichnis

1. Inhaltsverzeichnis	7
2. Abkürzungsverzeichnis	10
3. Abbildungsverzeichnis	13
4. Abstract	14
5. Einleitung	16
5.1 Lernen und Gedächtnis	16
5.1.1 <i>Gedächtnis und Lernen: Definitionen und Formen</i>	16
5.1.2 Klassische Konditionierung	19
5.1.3 Instrumentelle Konditionierung	22
5.2 Zielgerichtetes Verhalten und Gewohnheit	26
5.3 Basalganglien	29
5.3.1 Anatomie der Basalganglien	29
5.3.2 Funktionen der Basalganglien	32
5.3.3 Dorsales Striatum	35
5.3.4 Nucleus Accumbens	37
5.4 Präfrontaler Cortex	41
5.4.1 <i>Anatomie des präfrontalen Cortex</i>	41
5.4.2 <i>Präfrontaler Cortex: Vergleichbarkeit von Ratte und Mensch</i>	42
5.4.3 <i>Modell zu den Funktionen des präfrontalen Cortex</i>	44
5.4.4 <i>Die Rolle von Subregionen des präfrontalen Cortex</i>	45
5.5 Entorhinaler Cortex	49
5.5.1 <i>Anatomie des entorhinalen Cortex</i>	49
5.5.2 <i>Funktionen des entorhinalen Cortex</i>	53
5.6 Cortico-striatale Schaltkreise	55
5.6.1 Aufbau und Funktionen des assoziativen cortico-striatalen Schaltkreises	55
5.6.2 Aufbau und Funktionen des sensomotorischen cortico-striatalen Schaltkreises	58
5.6.3 Interaktionen des assoziativen und des sensomotorischen cortico-striatalen Schaltkreises	59
5.7 Die Rolle von Dopamin bei der Verhaltenssteuerung	62
5.7.1 <i>Biosynthese, Wiederaufnahme und Abbau von Dopamin</i>	62
5.7.2 <i>Dopamin-Rezeptoren und Dopamin-Freisetzung</i>	64
5.7.3 <i>Anatomie des Dopaminsystems</i>	68

5.7.4 <i>Hypothesen zur Funktion von Dopamin bei der Verhaltenssteuerung</i>	69
5.8 Zielsetzung und Fragestellung	79
6. Durchgeführte Arbeiten	80
6.1 Übersicht	80
6.1.1 Experiment 1: The Role of Dopamine in the Prelimbic Cortex and the Dorsomedial Striatum in Instrumental Conditioning	81
6.1.2 Experiment 2: Disconnection of the entorhinal cortex and the dorsomedial striatum impairs the sensitivity to instrumental contingency degradation	92
6.1.3 Experiment 3: The role of nucleus accumbens dopamine in outcome encoding in instrumental and Pavlovian conditioning	101
7. Diskussion	109
7.1 Methodische Aspekte	109
7.1.1 <i>Beurteilung der stereotaktischen Operation</i>	109
7.1.2 <i>6-Hydroxydopamin</i>	110
7.1.3 <i>Beurteilung der Verhaltenstests</i>	111
7.1.4 <i>Beurteilung der Immunhistochemie</i>	112
7.2 Die Rolle von Dopamin im PL bei der Steuerung zielgerichteten Verhaltens	112
7.3 Die Rolle von Dopamin im pDMS bei der Steuerung zielgerichteten Verhaltens	116
7.4 Die Rolle von Dopamin im NAc core bei der Steuerung zielgerichteten Verhaltens	120
7.5. Zusammenfassende Diskussion	124
7.5.1 <i>Die Rolle von Dopamin beim zielgerichteten Verhalten</i>	124
7.5.2 <i>Die Rolle von Dopamin beim Gewohnheitsverhalten</i>	127
7.6 Schlussfolgerung	128
8. Anhang	130
8.1 Computerprogramme MedPC	130
8.1.1 <i>Magazine Training</i>	130
8.1.2 <i>Lever Training (Continuous Reinforcement)</i>	131
8.1.3 <i>Lever Training (RR-5; RR-10; RR-20)</i>	133
8.1.4 <i>Outcome Devaluation Test in extinction</i>	134
8.1.5 <i>Outcome Devaluation Test rewarded</i>	135
8.1.6 <i>Contingency Degradation Training</i>	137
8.1.7 <i>Contingency Degradation Test in extinction</i>	139
8.1.8 <i>Classical Conditioning</i>	140
8.1.9 <i>Outcome Devaluation Test for classical conditioning in extinction</i>	146
9. Literatur	151

10. Danksagung	176
11. Lebenslauf	178

2. Abkürzungsverzeichnis

Anatomie:

ACC	Anteriorer cingulärer Cortex
AID	Dorsaler agrularer insularer Cortex
AIV	Ventraler agrularer insularer Cortex
BLA	Basolaterale Amygdala
DL-PFC	Dorsolateraler präfrontaler Cortex
DLS	Dorsolaterales Striatum
DMS	Dorsomediales Striatum
DS	Dorsales Striatum
EC	Entorhinaler Cortex
GP	Globus Pallidus
GPI	Globus Pallidus interna
GPe	Globus Pallidus externa
IL	Infralimbischer Cortex
LEC	Lateraler entorhinaler Cortex
LO	Lateraler orbitaler Cortex
MEC	Medialer entorhinaler Cortex
MDT	Mediodorsaler Thalamus
MO	Medialer orbitaler Cortex
mPFC	Medialer präfrontaler Cortex
NAc	Nucleus Accumbens
NAc core	Nucleus Accumbens Core
NAc shell	Nucleus Accumbens Shell
OFC	Orbitofrontaler Cortex
pDMS	Posteriores dorsomediales Striatum
PFC	Präfrontaler Cortex
PL	Prälimbischer Cortex
PrC	Präzentrales Areal
SN	Substantia Nigra
SNc	Substantia Nigra pars compacta
SNr	Substantia Nigra pars reticulata
STN	Subthalamischer Nucleus

VO	Ventraler orbitaler Cortex
VLO	Ventro-Lateraler orbitaler Cortex
VP	Ventrales Pallidum
VS	Ventrales Striatum
VTA	Ventrales tegmentales Areal
ZNS	Zentrales Nervensystem

Lernpsychologie:

CR	Konditionierte Reaktion
CS-	Nichtkonditionierter Kontrollstimulus
CS+	Klassischer Stimulus (classical stimulus)
NS	Neutraler Stimulus
R-O	Response-Outcome (Handlung-Ergebnis)
RR	Random Ratio
S-R	Stimulus-Response (Stimulus-Ergebnis)
S-S	Stimulus-Stimulus (Stimulus-Stimulus)
S-O	Stimulus-Outcome (Stimulus-Ergebnis)
US	Unkonditionierter Stimulus
UR	Unkonditionierte Reaktion

Substanzen, Transmitter, Moleküle

6-OHDA	6-Hydroxydopamin
AC	Adenylatcyclase
AADC	Aromatische-Aminosäure-Decarboxylase
ATP	Adenosintriphosphat
cAMP	cyclisches Adenosinmonophosphat
COMT	Catechol-o-methyltransferase
DA	Dopamin
DAB	3,3'-diaminbenzidine
DAT	Dopamin-Transporter
GABA	γ -Aminobuttersäure
Gi	inhibierendes G-Protein
Gs	stimulierendes G-Protein
Li-Cl	Lithium-Chlorid
MAO	Monoamin-Oxidase

NMDA	N-methyl-D-Aspartat
TH	Tyrosin-Hydroxylase
VMAT	Vesikulärer Monoamin-Transporter

3. Abbildungsverzeichnis

Abb. 1	Gedächtnis	17
Abb. 2	Klassische Konditionierung	20
Abb. 3	Instrumentelle Lerntheorien	23
Abb. 4	Skinner-Box	24
Abb. 5	Schaltkreise der Basalganglien	30
Abb. 6	Funktionsschleifen der Basalganglien	33
Abb. 7	Neurochemie des Striatums	38
Abb. 8	Afferenzen und Efferenzen des NAc	39
Abb. 9	Anatomie des PFC der Ratte	42
Abb. 10	Kontrollmechanismus des PFC	45
Abb. 11	Verbindungen des EC	50
Abb. 12a	Schichten des EC	51
Abb. 12b	Projektionen des EC	51
Abb. 13	Funktionelle Unterteilung des Hippocampus	53
Abb. 14	Assoziativer cortico-striataler Schaltkreis	56
Abb. 15	Sensomotorischer cortico-striataler Schaltkreis	59
Abb. 16	Spiralnetzwerke	61
Abb. 17	Dopaminsynthese	62
Abb. 18	Abbauwege von Dopamin	64
Abb. 19	Phasische Dopaminfreisetzung	66
Abb. 20	Tonische Dopaminfreisetzung	67
Abb. 21	Aufbau des Dopaminsystems	69
Abb. 22	Hedonische und anhedonische Reaktionen	72
Abb. 23	Vorhersage-Fehler-Signal DA-Neurone	73
Abb. 24	Spezifität des CS+ ausgelösten „Wollens“	77

4. Abstract

The prelimbic region of the prefrontal cortex (PL), the posterior subregion of the dorsomedial striatum (pDMS), the entorhinal cortex (EC) and the nucleus accumbens core (NAc core) are components of the associative cortico-striatal circuit mediating goal-directed behavior. Goal-directed behavior requires the learning of action-outcome contingencies and of outcome values, processes that could depend on dopamine (DA) signals in the PL, pDMS and NAc core. As DA is supposed to play a critical role in associative learning, we examined in 3 experiments whether dopamine signals conveyed to these brain regions are critical for goal-directed behavior.

In experiment 1, rats with 6-hydroxydopamine (6-OHDA) or vehicle infusion into the PL and pDMS were trained to press two levers, one delivering food pellets, the other a sucrose solution. Thereafter, we tested whether animals were sensitive (i) to a selective degradation of one of two outcomes using a specific satiety procedure, and, (ii) to a selective degradation of one of two contingencies controlling instrumental choice behavior. Rats with PL DA depletion displayed a reduced rate of lever pressing but were sensitive to outcome devaluation and contingency degradation. Thus, PL DA seems to be critical for instrumental performance, but not for instrumental conditioning. Rats with pDMS DA depletion had intact overall response rates and were sensitive to a selective outcome devaluation; however, they failed to show a contingency degradation effect. Therefore, pDMS DA signaling seems not to be involved in instrumental performance, but in instrumental conditioning by supporting the detection of changes in the causal relationships between an action and its consequences.

The capacity to detect changes in the causal efficacy of actions is mediated not only by the pDMS but also by the EC. In experiment 2, we examined whether interactions between the EC and the pDMS are required to detect changes of the instrumental contingency. Rats that received EC-pDMS disconnection lesions, i.e. unilateral cell body lesions of the EC and contralateral dopamine depletions of the pDMS, were trained to press two levers, one delivering food pellets, the other a sucrose solution. Thereafter, we tested whether rats were sensitive (i) to a selective devaluation of the value of one of two outcomes using a specific satiety procedure, and (ii) to a selective degradation of one of two contingencies controlling instrumental choice behavior. Our results reveal that rats with EC-pDMS disconnection lesions were sensitive to outcome devaluation. However, unlike rats with sham lesions or unilateral EC and pDMS lesions, rats with EC-pDMS disconnection lesions showed a reduced sensitivity to contingency degradation. These findings suggest that the EC and the pDMS are

part of a neural system that supports the detection of changes in the causal relationship between an action and its consequences.

Considerable evidence suggests that DA in the core subregion of the nucleus accumbens is not only involved in Pavlovian conditioning but also supports instrumental performance. However, it is largely unknown whether NAc DA is required for outcome encoding, which plays an important role both in Pavlovian stimulus-outcome learning and instrumental action-outcome learning. Therefore, in experiment 3, we tested rats with 6-OHDA induced DA depletion of the NAc core for their sensitivity to outcome devaluation in a Pavlovian and an instrumental task. Results indicate that 6-OHDA-lesioned animals were sensitive to outcome devaluation in an instrumental task. This finding provides support to the notion that NAc core DA may not be crucial in encoding action-outcome associations. However, during instrumental conditioning lever pressing rates in 6-OHDA-lesioned animals were markedly lower which could reflect an impaired behavioral activation. By contrast, after outcome-specific devaluation in a Pavlovian task, performance in 6-OHDA-lesioned animals was impaired, i.e. their magazine-directed responding was non-selectively reduced. One possibility to explain non-selective responding is that NAc core DA depletion impaired the ability of conditioned stimuli to activate the memory of the current value of the reinforcer.

Taken together, the results from all three experiments reveal that DA signals conveyed to the PL, pDMS and NAc core are not critical for the learning of action-outcome associations. In fact, the experiments show that the role of DA in the associative cortico-striatal network is not uniformly, but rather complex, in that DA mediates different aspects of behavior in each target area; i.e. instrumental performance in the PL, processing of contextual information in the pDMS, and the ability of conditioned stimuli to activate reinforcer value information in the NAc core. This leads to the suggestion, that there is no single hypothesis, which is able to account for all the different functions of DA in the associative cortico-striatal network.

5. Einleitung

5.1 Lernen und Gedächtnis

Etymologisch ist das Wort "lernen" mit "lehren" und "List" verwandt und gehört zur Wortgruppe von "leisten", das ursprünglich "einer Spur nachgehen, nachspüren" bedeutet. "Das Wort "Lernen" geht auf die gotische Bezeichnung für "ich weiß" (lais) und das indogermanische Wort für "gehen" (lis) zurück (Wasserzieher, 1974). Im Gotischen heißt "lais" genau übersetzt "ich habe nachgespürt" und "laists" steht für "Spur". Die Herkunft des Wortes deutet somit darauf hin, dass Lernen ein Prozess ist, bei dem man einen Weg zurücklegt und dabei zu Wissen gelangt." Mielke (2001, 11)
(Stangl, 2009)

"Das Gedächtnis ist der Schatzmeister und Hüter aller Dinge", schrieb Cicero. Und Luis Buñuel sagte: "Man muss beginnen, sein Gedächtnis zu verlieren, wenn auch nur in Teilen, um zu erkennen, dass das Gedächtnis alles ist, was unser Leben ausmacht. Unser Gedächtnis ist unser Zusammenhalt, unser Verstand, unser Gefühl, sogar unsere Handlung. Ohne es sind wir nichts."
(Lexikon der Neurowissenschaften, 2001)

5.1.1 Gedächtnis und Lernen: Definitionen und Formen

Mittels des Gedächtnisses ist ein Organismus in der Lage, Erfahrungen abzuspeichern und bei Bedarf abzurufen. Grundsätzlich werden beim Menschen zwei große Gedächtnissysteme, das deklarative und das nicht-deklarative, voneinander unterschieden, (Abb.1). Die beiden Gedächtnissysteme unterscheiden sich in der Art der Informationen, die gespeichert werden. Während im deklarativen Gedächtnis Inhalte abgelegt sind, derer wir uns bewusst sind, werden im nicht-deklarativen Gedächtnis Inhalte verankert, derer sich der Mensch nicht oder kaum bewusst ist. Das deklarative Gedächtnis wird auch als das Gedächtnis des Wissens (Wissen „was“) bezeichnet und lässt sich nach dem Psychologen Endel Tulving (2002) in einen semantischen und einen episodischen Bereich aufteilen. Das semantische Gedächtnis wird immer dann benutzt, wenn wir uns an Fakten erinnern, also an Wissen, dass wir uns z.B. in der Schule oder durch das Lesen eines Buches angeeignet haben. Ebenso wird die

Bedeutung von Wörtern und Konzepten hier abgelegt. Inhalte des episodischen Gedächtnisses dagegen werden abgerufen, wenn man sich an bestimmte Ereignisse seines Lebens erinnert, wie z.B. wo man im letzten Sommer seinen Urlaub verbracht hat.

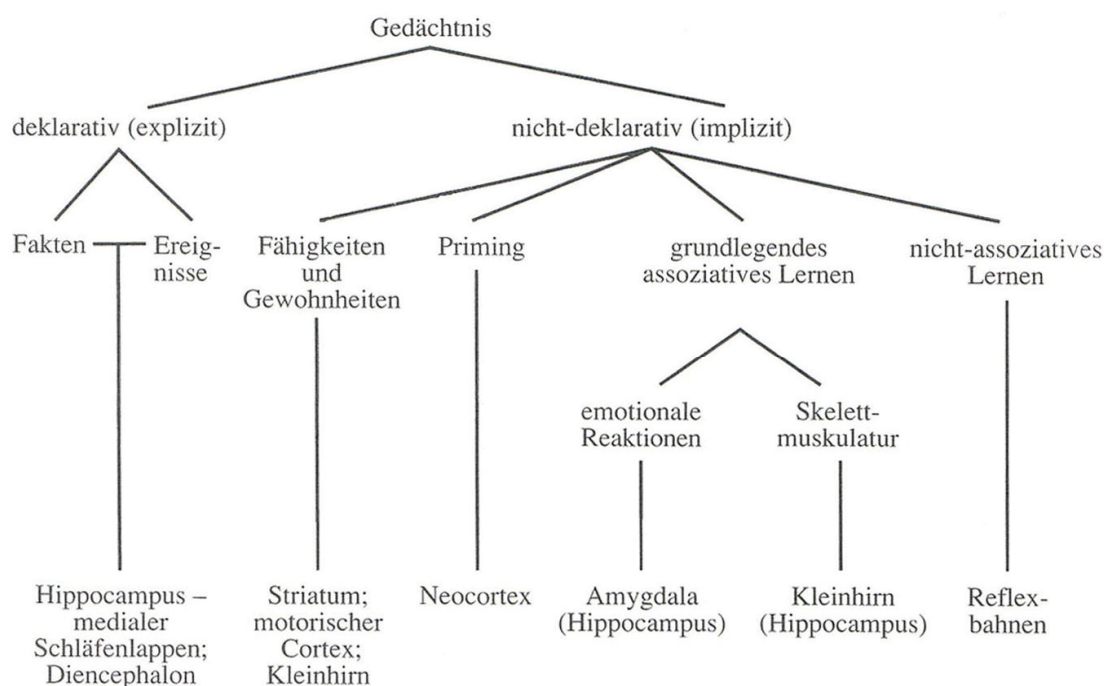


Abb. 1 Gedächtnis. Überblick über die Aufteilung des Gedächtnisses in einen deklarativen und einen nicht-deklarativen Bereich. Die Aufteilung beruht im Wesentlichen darauf, welche Arten von Informationen gespeichert werden (modifiziert nach Thompson, 2001).

Dem deklarativen steht das nicht-deklarative Gedächtnis gegenüber, welches als das Gedächtnis der Fertigkeiten (Wissen „wie“) bezeichnet wird. In diesem Bereich wird Wissen gespeichert, dessen man sich nicht bewusst ist. Ein Beispiel für eine Form des nicht-deklarativen Gedächtnisses bildet das so genannte „Priming“. Als „Priming“ bezeichnet man den Effekt, dass ein zuvor wahrgenommener Reiz die Reaktion auf einen nachfolgenden Reiz beeinflusst. Man stelle sich eine Liste von Wörtern vor, auf der unter anderem das Wort „Tomate“ steht. In einem zweiten Schritt wird man gebeten aus jeweils mehreren Anfangsbuchstaben Wörter zu bilden, wobei auch die Anfangsbuchstaben „To...“ auf der Liste stehen. Für gewöhnlich wird nun aus den Buchstaben „To...“ sehr schnell das Wort „Tomate“ gebildet, ohne dass wir uns dessen bewusst sind. Neben dem „Priming“ gehören das Erinnern von Regeln und Abläufen, sowie das Abrufen motorischer Fertigkeiten zum nicht-deklarativen Gedächtnis. Darüber hinaus werden die Lernvorgänge des assoziativen- und des nicht-assoziativen Lernens (siehe unten) zum nicht-deklarativen Gedächtnis gezählt.

Die Unterteilung von Gedächtnissystemen in einen deklarativen und einen nicht-deklarativen Bereich ist jedoch eine starke Vereinfachung, da sich Organismen zu Beginn eines Lernprozesses oftmals über die Inhalte des Gelernten bewusst sind. Im weiteren Verlauf des Lernens erfolgen manche Handlungen zunehmend unbewusst und werden im nicht-deklarativen Gedächtnis verankert (siehe Abschnitt 5.2 Zielgerichtetes Verhalten). Ein Beispiel hierfür ist das Lernen des Fahrradfahrens. Zu Beginn muss man sich aktiv darauf konzentrieren und sich bewusst also deklarativ daran erinnern, wie man den Lenker halten und wie man in die Pedalen treten muss, um vorwärts zu kommen. Später, wenn diese Mechanismen gelernt sind, macht man es einfach ohne darüber nachzudenken. Das Verhalten beruht dann auf dem nicht-deklarativen Gedächtnis.

Als Lernen bezeichnend man die aufgrund von individueller Erfahrung bedingte Veränderung des Verhaltens. Lernen ist daher sowohl ein Prozess (Informationsaufnahme, -verarbeitung und -speicherung), als auch ein Produkt, d.h. den Erwerb oder die Anpassung von Verhalten aufgrund von Erfahrung (Lexikon der Neurowissenschaften, 2001). Somit bildet die Fähigkeit zu Lernen eine der wichtigsten Funktionen eines Organismus, um sich flexibel an geänderte Umweltbedingungen anzupassen und dadurch die Wahrscheinlichkeit des Überlebens zu erhöhen. Grundlegend werden zwei Lernformen voneinander unterschieden; das nicht-assoziative Lernen und das assoziative Lernen. Nicht-assoziatives Lernen bezeichnet das Lernen der Bedeutung einer einzigen Reizart (Stimulus); dabei wird zwischen der Habituation und der Sensitivierung unterschieden. Die Habituation kennzeichnet die Abnahme einer Verhaltensreaktion auf einen wiederholt dargebotenen Stimulus, welcher weder positive noch negative Konsequenzen ankündigt. Die biologische Bedeutung dieser Lernform liegt darin, jene Reize zu ignorieren die für den Organismus keine Bedeutung haben. Die Sensitivierung dagegen kennzeichnet die Zunahme der Stärke von Verhaltensreaktionen auf einen wiederholt dargebotenen Stimulus, wie z.B. einem Schmerzreiz. Ein Unterschied zur Habituation ist, dass die Sensitivierung wenig reizspezifisch ist. Wenn eine Reaktion nach wiederholter Darbietung desselben Reizes sensitiviert ist, lässt sich die sensitivierte Reaktion auch durch andere Reize auslösen; durch die Sensitivierung ist der Organismus in einen generellen Erregungszustand versetzt worden. Dies lässt sich am Beispiel eines Experiments an Tieren leicht nachweisen. Zwei Gruppen von Ratten werden einem kurzen aber lauten Ton (ca. 110 dB, 90ms) ausgesetzt, der eine Schreckreaktion hervorruft. Tiere der ersten Gruppe sitzen während des Experiments in einer Box, in der ein relatives leises Hintergrundrauschen (ca. 60dB) eingespielt wird. Nach mehrmaliger Präsentation des Schreckreizes lässt sich eine Abnahme der Schreckreaktion beobachten; die Tiere habituierten auf den Schreckreiz. Tiere

der zweiten Gruppe sitzen in einer Box, in der ein lauterer Hintergrundrauschen (ca. 80dB) eingespielt wird. Bei dieser Gruppe lässt sich nach wiederholter Präsentation des Schreckreizes ein gegenteiliger Effekt beobachten; diese Tiere zeigen eine Sensitivierung gegenüber dem Schreckreiz, da sie durch das laute Hintergrundrauschen in einen generell höheren Erregungszustand versetzt wurden (Domjan, 2006).

Während beim nicht-assoziativen Lernen die Bedeutung eines einzelnen Stimulus gelernt wird, dient das assoziative Lernen 1) dem Erfassen von Zusammenhängen mehrerer Stimuli bzw. 2) dem Erfassen des Zusammenhangs zwischen Handlung und Ergebnis. Beim assoziativen Lernen unterscheidet man zwei wichtige Formen; die klassische Konditionierung (oder pavlowsche Konditionierung) und die instrumentelle (oder operante) Konditionierung. Die klassische Konditionierung beruht im Wesentlichen auf der Verknüpfung zweier Stimuli. Dabei besitzt der erste Stimulus eine wichtige biologische Bedeutung für den Organismus, wie z.B. Futter oder ein Sexualpartner, während der zweite Stimulus zunächst keine biologische Bedeutung für den Organismus hat. Durch wiederholte gleichzeitige Darbietung beider Stimuli, erlangt auch der zweite Stimulus eine biologische Bedeutung und löst nach alleinigem Präsentieren dieselbe Reaktion hervor, wie der erste Stimulus. Dahingegen beruht die instrumentelle Konditionierung auf der Assoziation einer Handlung eines Organismus mit dem Ergebnis der Handlung; es wird eine kausale Handlungs-Ergebnis-Kette gebildet. Der Organismus lernt dabei die eigene Handlung als Mittel zum Zweck einzusetzen, um ein bestimmtes Ziel zu erreichen. Da beide Lernformen für die vorliegende Arbeit von großer Wichtigkeit sind, werden sie in den Abschnitten 5.1.2 sowie 5.1.3 jeweils ausführlich behandelt.

5.1.2 Klassische Konditionierung

Die klassische Konditionierung wurde durch den russischen Physiologen Ivan Pavlov im Jahre 1927 entdeckt. Sie bildet eine der wichtigsten Formen des assoziativen Lernens und beruht auf der Verknüpfung zweier Stimuli. Einer der Stimuli, der unconditionierte Stimulus (US), z.B. Futter, hat für den Organismus stets eine wichtige biologische Bedeutung und löst beim Anblick eine entsprechende unconditionierte Reaktion (UR) aus, wie z.B. den Speichelflussreflex. Im Gegensatz dazu hat der zweite Stimulus, der neutrale Stimulus (NS), keinerlei biologische Bedeutung für den Organismus und löst, sofern alleine präsentiert, keinerlei Reaktion hervor. Wird nun aber wiederholt der NS mit dem US gepaart, also kurz nacheinander präsentiert, erlangt auch der NS eine biologische Bedeutung und wird so zum

konditionierten Stimulus (CS+). Die Präsentation des CS+ alleine reicht nun aus, um die UR hervorzurufen, die nun als konditionierte Reaktion (CR) bezeichnet wird (Abb. 2).

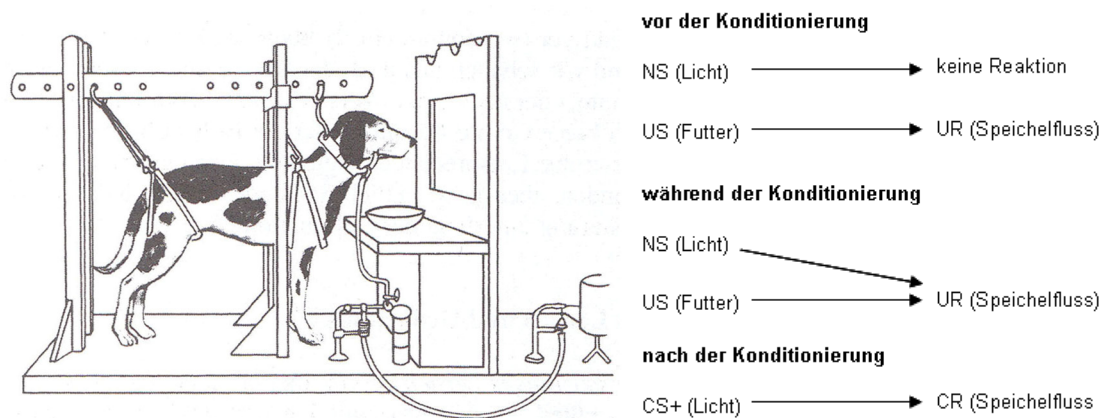


Abb. 2 Klassische Konditionierung. Links: Ein Hund, eingespannt in eine Versuchsausrüstung, die es ermöglicht, dem Tier sowohl unterschiedliche Reize zu präsentieren, als auch seinen Speichelfluss zu messen. Rechts: Die klassische Konditionierung erfolgt in drei Phasen: Zunächst ruft der NS nach alleiniger Darbietung keine Reaktion hervor, wohingegen der Hund bei alleiniger Präsentation des US mit Speichelfluss reagiert (UR). Durch zeitnahes und wiederholtes Präsentieren des NS mit dem US, wird der NS zum CS+ und vermag nun als solcher alleine die UR hervorzurufen, die durch die Konditionierung nun eine CR geworden ist (modifiziert nach Thompson, 2001)

Da im obigen Beispiel der CS+ einen positiven Stimulus vorhersagt, nämlich das Erscheinen einer Futterbelohnung, spricht man in diesem Fall von einer appetitiven klassischen Konditionierung. Ein solcher CS+ wird folglich vom Organismus aufgesucht. Ein CS+ kann jedoch auch einen negativen Stimulus ankündigen, wie z.B. das Erscheinen eines Fressfeindes (der CS+ wäre in diesem Fall z.B. das nahende Geräusch eines Fressfeindes). In einem solchen Fall spricht man von einer aversiven klassischen Konditionierung; sie bewirkt, dass ein Organismus einem solchen CS+ aus dem Weg geht.

Anhand dieser beiden Beispiele wird deutlich, dass die biologische Funktion einer klassischen Konditionierung darin besteht, dass sich ein Organismus flexibel an seine Umwelt anpasst, in dem er lernt, welche Stimuli positive Ereignisse vorhersagen (z.B. Futter, Sexualpartner, Unterschlupf etc.) und welche Stimuli negative Konsequenzen nach sich ziehen (z.B. verdorbenes Essen, Fressfeind, fremdes Revier etc.). Der Psychologe R.A. Rescorla meinte in einer seiner Arbeiten zur klassischen Konditionierung: "Ein solches Lernen ist eines der wichtigsten Mittel des Organismus, die Struktur seiner Welt zu erfassen." (1988) (aus Thompson, 2001, S.379).

Die klassische Konditionierung ist ein überaus komplexer Lernvorgang. So vermag der CS+ während der Konditionierung verschiedene Assoziationen einzugehen (Cardinal et al., 2002a). Die oben beschriebene Verbindung des CS+ mit der UR ist dabei die einfachste Assoziation; sie wird als Stimulus-Antwort-Assoziation bezeichnet (*stimulus-response; S-R*). Eine weitere Assoziation des CS+ betrifft den generellen Affekt. So wird bei der Darbietung des CS+ beim Hund nicht nur der Speichelfluss erhöht, sondern der gesamte Organismus wird in einen allgemein erhöhten Aufmerksamkeitszustand versetzt, da der CS+ etwas Positives ankündigt. Die dritte Assoziation, die ein CS+ eingeht, ist die Verbindung mit den spezifischen sensorischen Eigenschaften des US, wie z.B. Futter; hier spricht man von einer Stimulus-Belohnungs-Assoziation (*stimulus-outcome; S-O*). Zu den spezifischen sensorischen Eigenschaften gehören z.B. das Aussehen, der Geruch, der Geschmack und auch der Nährwert des jeweiligen US. Das Bestehen einer solchen Assoziation lässt sich unter anderem durch ein so genanntes Devaluationsexperiment nachweisen, bei dem der Wert des US nach der erfolgreichen Konditionierung z.B. durch eine Paarung mit der Übelkeit induzierenden Substanz Lithium-Chlorid (Li-Cl) reduziert wird. Daraufhin ändert sich die unkonditionierte Reaktion auf den US; er wird vermieden, da er mit Übelkeit verknüpft ist. Zudem ändert sich auch die konditionierte Reaktion auf den CS+; auch er wird gemieden. Dies legt nahe, dass der CS+ eine spezifische Vorhersage über die sensorischen Eigenschaften des US abrufen (Cardinal et al., 2002a).

Die Stärke einer klassischen Konditionierung hängt im Wesentlichen von zwei Faktoren ab; der Kontiguität und der Kontingenz. Die Kontiguität gibt das Zeitintervall an, welches maximal zwischen dem CS+ und dem Erscheinen des US liegen darf, damit eine Konditionierung noch stattfindet. Für appetitive Konditionierungen gilt: je enger beide Ereignisse zeitlich beieinander liegen, desto stärker die Assoziation. Die Kontiguität alleine ist jedoch kein hinreichendes Kriterium für eine erfolgreiche Konditionierung. Es wäre nicht zweckmäßig, wenn ein Organismus Assoziationen zwischen Stimuli bildet, nur weil sie zufällig dicht aufeinander folgen (Kandel et al., 2000). Daher ist die Kontingenz, d.h. der kausale Zusammenhang zwischen dem CS+ und dem US, eine weitere wichtige Voraussetzung für die klassische Konditionierung. Nur wenn es eine ursächliche Verbindung der beiden Stimuli gibt, ist eine Konditionierung möglich. Je zuverlässiger dabei Stimulus A Stimulus B vorhersagt, desto höher ist ihre Kontingenz und damit die Wahrscheinlichkeit, dass beide Stimuli in einem kausalen Zusammenhang zueinander stehen. Ein Organismus ist dadurch dann in der Lage bestimmte Vorhersagen über seine unmittelbare Umwelt zu machen und sein Verhalten den Gegebenheiten anzupassen, d.h. Appetenz oder Aversion zu zeigen.

5.1.3 Instrumentelle Konditionierung

Während beim klassischen Konditionieren eine Assoziation zwischen zwei Stimuli hergestellt wird, ohne dass der Organismus das Auftreten der beiden Stimuli beeinflussen kann, steht bei der instrumentellen Konditionierung die Assoziation zwischen einer Handlung und einem Handlungsergebnis im Mittelpunkt. Im Gegensatz zur klassischen Konditionierung, bei der der Organismus das Auftreten des CS+ nicht beeinflussen kann, sondern nur in der Lage ist eine Reaktion darauf zu zeigen, erlaubt die instrumentelle Konditionierung das Einsetzen der eigenen Handlung als Mittel um ein bestimmtes Ziel zu erreichen.

Edward L. Thorndike war einer der ersten, der systematische Untersuchungen zum instrumentellen Lernen anstellte (1911). Dazu sperrte er Katzen in einen Käfig, aus dem sie nur entkommen konnten, wenn sie einen Hebel hinunterdrückten, wodurch dann die Käfigtür aufsprang. Ursprünglich war es jedoch nicht Thorndikes Absicht zu beweisen, dass ein Tier eine Assoziation zwischen einer Handlung und einem Ergebnis herstellen konnte. Thorndike wollte zeigen, dass jedwedes Verhalten durch vorangegangene Stimuli ausgelöst wird. Denn laut Thorndike wurden die Katzen mit der Zeit nicht besser im Betätigen des Mechanismus weil sie die kausale Assoziation ihrer Handlung mit dem Ergebnis gelernt hatten, sondern alleine weil sie nach dem Prinzip von Versuch und Irrtum vorgegangen waren. Die Katzen hatten arttypische Verhaltensweisen ausgeführt, um dem Käfig zu entkommen und dabei irgendwann per Zufall den Öffnungsmechanismus betätigt. Thorndike postulierte daraufhin das Gesetz des Effekts: Wird ein Verhalten in Anwesenheit eines bestimmten Stimulus oder in einer bestimmten Situation, z.B. dem Kontext in dem sich das Tier befindet, von befriedigenden Konsequenzen gefolgt, z.B. der erfolgreichen Flucht aus dem Käfig, führt dies zu einer Stärkung der Assoziation zwischen Stimulus und Handlung (*stimulus-response learning*; S-R). Das führt dazu, dass die Auftretenswahrscheinlichkeit der Handlung in Anwesenheit des Stimulus steigt. In den weiteren Durchgängen entkamen die Tiere laut Thorndike somit deswegen immer schneller dem Käfig, weil der Käfig als Stimulus die Handlung ausgelöst hat. Das Ergebnis bzw. die Konsequenz des Handelns hat hierbei nur die Aufgabe die Stimulus-Handlungs-Assoziation zu stärken. Das Ergebnis selbst ist gemäß der Theorie nicht Bestandteil der Assoziation (Abb. 3A). Die Kernaussage dieser These lautet daher, dass ein Verhalten von vorangegangenen Stimuli aus der Umwelt hervorgerufen wird. Hull (1930, 1931) & Spence (1956) erweiterten die Hypothese von Thorndike. Sie vertraten die These, dass es neben der von Thorndike beschriebenen Verbindung zwischen Stimulus und Handlung (S-R), noch einen weiteren Faktor gibt, der die Handlung hervorrufen kann. Diesen Faktor nannten sie „*expectancy of reward*“, also die Erwartung einer Belohnung.

Diese Erwartung entsteht durch die Assoziation von Stimulus und Ergebnis (*stimulus-outcome*; S-O). Die Annahme, dass Menschen als auch Tiere eine Belohnungserwartung ausbilden wenn sie einen appetitiven Stimulus wahrnehmen ist nahe liegend. Sie beruht auf Erkenntnissen aus der klassischen Konditionierung. Wenn ein Tier z.B. einen Hebel drückt, um Futter zu bekommen, wird dies immer in einem bestimmten Kontext geschehen. Daher ist es nachvollziehbar, dass nicht nur der Hebel dem Tier signalisiert, dass es durch Drücken nun an Futter kommt, sondern dass schon alleine der Anblick des Hebels ausreicht dem Tier das baldige Erscheinen des Futters zu signalisieren. Somit hat sich eine Assoziation zwischen Stimulus und Ergebnis (S-O) gebildet. Hull & Spence gingen daher davon aus, dass ein Stimulus zum einen, wie von Thorndike beschrieben, „direkt“ eine Handlung hervorrufen kann (S-R), zum anderen aber auch „indirekt“ durch seine Verknüpfung mit dem Ergebnis (S-O) (Abb. 3B).

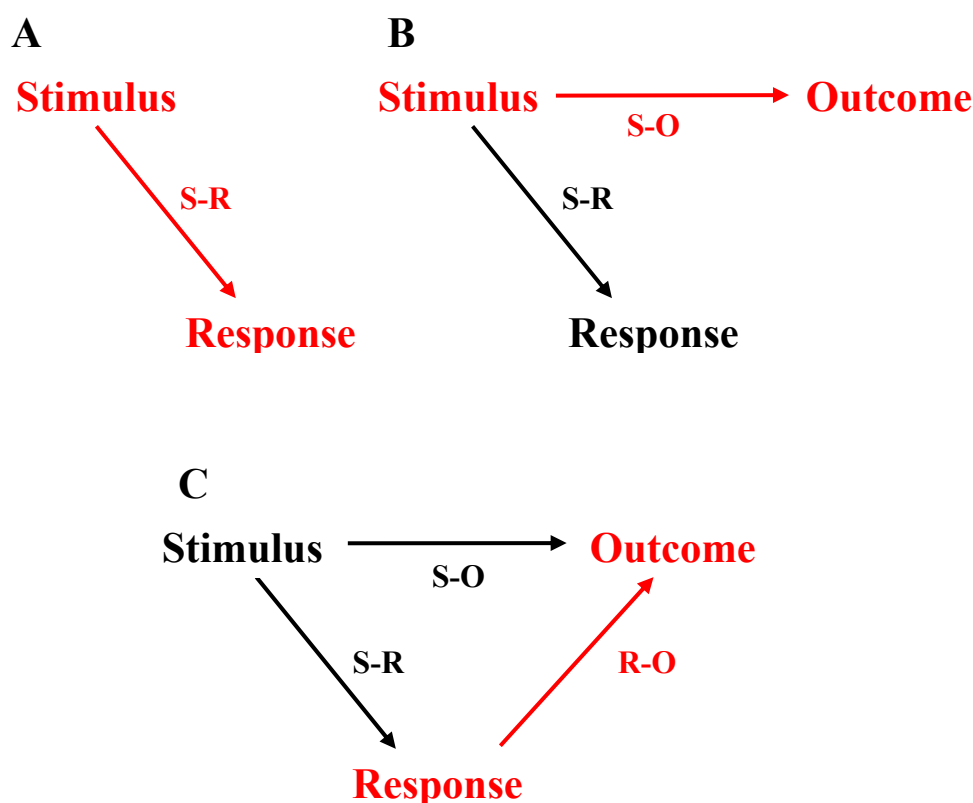


Abb. 3 Instrumentelle Lerntheorien. A: Das von Thorndike formulierte Gesetz des Effekts beschreibt, dass jedwedes Verhalten von externen Stimuli ausgelöst wird. Das Ergebnis verstärkt dabei nur die S-R Assoziation und ist nicht Bestandteil des Gelernten. B: Hull & Spence gingen davon aus, dass ein Organismus darüberhinaus eine Erwartungshaltung ausbildet, wenn er einen bestimmten Stimulus wahrnimmt, d.h. neben der S-R Assoziation besteht auch eine S-O Assoziation. C: Skinner stellte Thorndikes Hypothese in Frage, in dem er zeigen konnte, dass Tiere in der Lage sind einen kausalen Zusammenhang zwischen Ihrer Handlung und dem Ergebnis zu bilden, ohne das ein vorheriger Stimulus das Verhalten hätte steuern können. Somit wird das Verhalten durch eine R-O Assoziation gesteuert.

Einer der berühmtesten Psychologen dieser Zeit, der sich ebenfalls mit der instrumentellen Konditionierung auseinandergesetzt hat, war Burrhus Frederic Skinner. Er prägte den Begriff des operanten Konditionierens. Skinner wollte ein Verhalten im Labor messen, dessen Ablauf nicht durch die Versuchsanordnung bedingt war, sondern das Eingreifen des Tieres erforderte. Dadurch wollte er ein Verhalten hervorrufen, das kontinuierlich ausgeführt werden konnte und so repräsentativ für alle natürlichen wiederkehrenden Verhaltensweisen ist (Domjan, 2003, 2006). Skinner entwickelte dazu eine Versuchsbox (Abb. 4; „Skinner-Box“), in der eine Ratte einen Hebel drücken konnte, um eine Futterbelohnung zu erhalten. Bei diesen Versuchen erkannte er, dass die Ratten den Hebel zunehmend häufiger betätigten (Skinner, 1938). Er nahm an, dass die Tiere bei dieser instrumentellen Konditionierung eine Handlungs-Ergebnis-Assoziation (*response-outcome learning*; *R-O*) gebildet hatten (Abb. 3C).

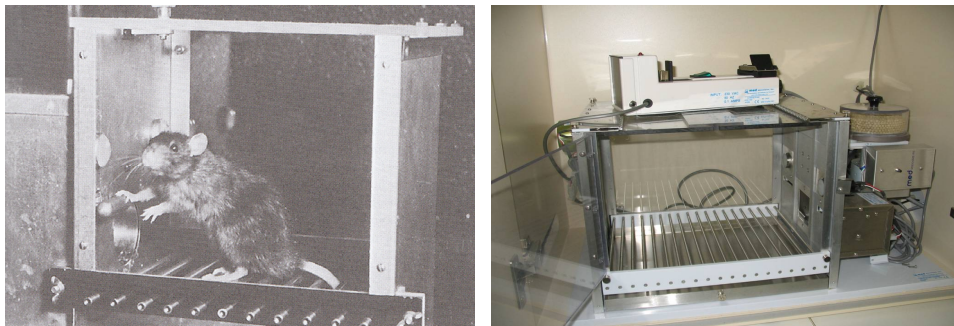


Abb. 4 Skinner-Box. Links: Von F.B. Skinner entwickelte Box mit Hebel, Futterspender und Futterluke. Rechts: Moderne Skinnerbox mit nahezu identischem Aufbau.

Seit den Arbeiten von Thorndike, Hull, Spence und Skinner wurden die zugrunde liegenden Prozesse instrumenteller Handlungen weiter untersucht. 1967 entwickelten Rescorla und Solomon die moderne „Zwei-Prozess Theorie“ (Rescorla and Solomon, 1967). Sie gingen davon aus, dass sich während einer instrumentellen Konditionierung gemäß den Regeln der klassischen Konditionierung, eine S-O Assoziation bildet. Ein klassisch konditionierter Stimulus (CS+) motiviert in einem nächsten Schritt die Initiierung der Handlung durch das Generieren eines zentralen emotionalen Zustandes, welcher als „Hoffnung“ bezeichnet wird (Berridge, 2001; Domjan, 2003). Rescorla und Solomon folgerten daher, dass ein CS+ der vor einer instrumentellen Handlung eingespielt wird, eine Handlung in Gang setzt oder zu verstärken vermag (Rescorla and Solomon, 1967). Diese Annahme ist zu einem Grundsatz der „Modernen Zwei-Prozess Theorie“ geworden, und konnte in Experimenten vielfach bewiesen werden (u.a. Blundell et al., 2001; Hall et al., 2001; Corbit and Balleine, 2005; Murschall and Hauber, 2005, 2006; Ostlund and Balleine, 2007; Lex and Hauber, 2008). Eines jener

Experimente wird heute als klassisch-instrumenteller Transfer (*pavlovian to instrumental transfer; PIT*) bezeichnet und verläuft in drei Phasen. In der ersten Phase erfolgt eine klassische Konditionierung, bei der ein CS+ mit einem US gepaart wird und später selbst in der Lage ist, die UR auszulösen. In einem zweiten Schritt erfolgt eine instrumentelle Konditionierung, bei der eine Handlung, z.B. ein Hebeldruck, zu einer Futterbelohnung führt. Wichtig hierbei ist, dass diese Futterbelohnung die gleiche Belohnung ist, die während der ersten Phase als US gedient hat. Im letzten Schritt, der so genannten Transferphase, wird dem Tier erneut der Hebel präsentiert, der zu der Futterbelohnung führt. Gleichzeitig wird nun der CS+ eingespielt. Da der CS+ durch die Bildung einer S-O Assoziation eine „Hoffnung“ für das Erscheinen der Belohnung auslöst, verstärkt diese „Hoffnung“ die instrumentelle Handlung. Die moderne „Zwei-Prozess Theorie“ konnte somit zeigen, dass eine S-O Assoziation instrumentelles Handeln verstärkt. Jedoch integrierten Rescorla und Solomon die von Skinner postulierte R-O Assoziation nicht in ihre Theorie. Der Grund mag darin liegen, dass sie zunächst nicht die experimentellen Mittel hatten, eine R-O Assoziation zu belegen. Colwill und Rescorla waren knapp 20 Jahre später eine der ersten, die experimentell zeigen konnten, dass es eine solche R-O Assoziation geben muss (1986). In ihrem Versuch wurden Ratten trainiert einen von der Decke hängenden Stab nach links und rechts zu drücken. Durch die Bewegung des Stabes nach links bekamen die Ratten ein Futterpellet als Belohnung, während das Drücken nach rechts zu einer Zuckerwasser-Belohnung führte. Somit lernten die Ratten, dass die beiden unterschiedlichen Handlungen eine jeweils andere Belohnung zur Folge hatte. In einem zweiten Schritt wurde nun der Wert einer der beiden Belohnungen reduziert, in dem eine Devaluation durchgeführt wurde. Bei einer solchen Devaluation wird dem Tier unmittelbar nach der freien Gabe einer der beiden Belohnungen eine Übelkeit erzeugende Substanz, in der Regel Lithium-Chlorid, verabreicht. Die Tiere assoziieren diese Übelkeit mit dem vorher konsumierten Futter, wodurch dessen Wert sinkt. In dem dann folgenden letzten Schritt wird den Tieren erneut der Stab präsentiert und beobachtet, in welche Richtung die Tiere den Stab drücken. Colwill und Rescorla beobachteten, dass die Ratten den Stab wesentlich häufiger in die Richtung drückten, die mit dem Futter assoziiert war, welches sie nicht mit Übelkeit in Verbindung brachten. Das Besondere an diesem Versuch war, dass man das Ergebnis weder mit der S-R-Theorie noch mit der S-O Theorie erklären konnte. Laut der S-R Theorie ist das Ergebnis nicht Bestandteil der Assoziation. Somit hätte eine Devaluation keinen Einfluss auf die Handlung haben dürfen. Versucht man das Ergebnis mit der S-O Theorie zu erklären, stellt man fest, dass alle Handlungen in Gegenwart desselben Stimulus (Stab) gemacht wurden. Wenn sich durch eine Abwertung des Ergebnisses die Bedeutung des Stimulus für die Tiere geändert hätte, hätten sich alle

Handlungen (Stab nach links und Stab nach rechts) gleichermaßen reduzieren sollen. Da dies aber nicht der Fall war, sondern nur eine ganz bestimmte Handlung reduziert wurde, ist davon auszugehen, dass die Tiere ganz spezifische R-O Assoziationen hergestellt haben.

Die Ergebnisse von Colwill und Rescorla wurden vielfach bestätigt, und zeigen übereinstimmend, dass Tiere R-O Assoziationen bilden können (Adams and Dickinson, 1981; Balleine and Dickinson, 1998; Gallagher et al., 1999; Balleine and Dickinson, 2000). Die R-O Theorie von Colwill und Rescorla hat jedoch auch eine Schwäche. Sie kann nicht erklären, was eine instrumentelle Handlung letztlich auslöst. Sie lässt die Bedeutung des Stimulus außen vor (Domjan, 2006). Daher geht man heute in der modernen Lernpsychologie davon aus, dass die Bedeutung des Stimulus darin liegt, die R-O Assoziation zu aktivieren, so dass es zu einer S-(R-O) Assoziation kommt. Wichtig hierbei ist, dass der Stimulus nicht die Handlung alleine hervorruft, sondern die R-O Assoziation (Domjan, 2006). Bildlich gesprochen bedeutet das, dass z.B. die Dunkelheit beim Betreten eines Zimmers uns daran erinnert, dass wir den Lichtschalter betätigen müssen, damit es hell wird.

5.2 Zielgerichtetes Verhalten und Gewohnheit

Instrumentelle Handlungen sind Mittel zum Zweck. So bringt uns das Drücken des Etagenknopfes im Aufzug in das gewünschte Stockwerk. Solche instrumentellen Handlungen können zielgerichtet sein, z.B. wenn wir ein bestimmtes Zimmer in einem fremden Gebäude aufsuchen. Diese Handlungen können aber auch automatisiert und gewohnheitsmäßig ablaufen, z.B. wenn das Ziel unsere eigene Wohnung ist. Der Unterschied zwischen automatisierten und zielgerichteten Verhaltensweisen ist, was die Handlungssteuerung und die daran beteiligten Hirnareale angeht, erheblich. Da der Unterschied dieser beiden Verhaltensweisen für die vorliegende Arbeit von zentraler Bedeutung ist, wird im folgenden Abschnitt erklärt, wie sich diese beiden Handlungsarten aus lerntheoretischer Sicht voneinander abgrenzen, und wie experimentell untersucht werden kann, ob ein bestimmtes Verhalten zielgerichtet abläuft oder zu einer Gewohnheitshandlung geworden ist.

Zahlreiche Verhaltensweisen von Mensch und Tier sind auf bestimmte Ziele ausgerichtet, wie z.B. Nahrung oder Sexualpartner. Die am Erlernen zielgerichteter Verhaltensweisen beteiligten Lernprozesse sind komplex. Der Nachweis, dass ein Tier einen kausalen Zusammenhang zwischen seiner Handlung und der Konsequenz dieser Handlung herstellen kann wurde erst um 1980 von Colwill und Rescorla erbracht (1986). Dickinson und Balleine (1994) waren die ersten, die Kriterien für das zielgerichtete Verhalten festlegten. Zielgerichtetes Verhalten ist

demnach „gerichtet“, d.h. es beruht auf einem kausalen Zusammenhang, der zwischen der eigenen Handlung und dem Ergebnis besteht. Zum anderen hat ein solches Verhalten ein Ziel, welches erreicht werden soll. Dem Ziel ist ein bestimmter positiver oder negativer Wert zugeschrieben, den das Tier ebenfalls kennen muss. Mit anderen Worten: Ein Verhalten ist dann zielgerichtet, wenn es durch die Repräsentation des Ergebnisses als Ziel der Handlung und dem Wissen um die Kontingenz von Handlung und Ergebnis bestimmt wird (Dickinson and Balleine, 1994; Balleine and Dickinson, 1998).

Vereinfacht gesagt drückt z.B. eine sich zielgerichtet verhaltende Laborratte in einer Skinner-Box einen Hebel für Futter, weil sie „weiß“, dass die Betätigung des Hebels zu Futter führt, welches sie „mag“ (Übersicht in Cardinal et al., 2002a).

Um experimentell zu überprüfen ob ein Verhalten zielgerichtet ist oder nicht, geht man wie folgt vor (Dickinson and Balleine, 1994; Balleine and Dickinson, 1998): Mittels einer Ergebnisdevaluation wird überprüft, ob Tiere in der Lage sind, Veränderungen des Wertes des Handlungsziels, d.h. der Belohnung zu registrieren. Dazu wird den Tieren die Belohnung, die während der instrumentellen Konditionierung verwendet wurde, frei verfügbar angeboten. Die Tiere konsumieren diese Belohnung daraufhin meist bis zur Sättigkeit, wodurch eine sensorisch-spezifische Sättigkeit ausgelöst und der Wert dieser Belohnung reduziert wird. In der nachfolgenden Testsitzung wird daraufhin überprüft, ob die Tiere jenen Hebel, der prädiktiv für die nun devaluierte Belohnung ist, weniger häufig betätigen. Dies ist bei sich zielgerichtet verhaltenden Tieren der Fall (u.a. Balleine and Dickinson, 1998, 2000; Corbit et al., 2001; Balleine et al., 2003).

Ob Tiere über eine Repräsentation des Handlungs-Ergebnis-Zusammenhangs verfügen, wird mittels eines so genannten Kontingenzdegradationstests überprüft. Dabei wird während des Hebeltrainings jene Belohnung, mit der die Tiere instrumentell konditioniert wurden, in regelmäßigen Abständen ohne vorangegangene Handlung gegeben. Wenn nun die Wahrscheinlichkeit der Gabe einer „freien“ Belohnung so gewählt wird, dass diese gleich der Wahrscheinlichkeit ist, mit der ein Tier für einen Hebelruck dieselbe Belohnung bekommt, so ist die R-O Assoziation degradiert. Denn die Wahrscheinlichkeit, dass ein Tier eine Belohnung erhält ist gleich hoch, unabhängig davon ob es den Hebel drückt oder nicht. Zielgerichtet handelnde Ratten sind in der Lage solche Änderungen des kausalen Zusammenhanges zwischen ihrer Handlung und dem Ergebnis zu erfassen und in Folge dessen Ihre Handlungsausführungen anzupassen (u.a. Corbit and Balleine, 2000; Corbit et al., 2002; Corbit et al., 2003; Yin et al., 2005b). Per Definition handeln nur solche Tiere zielgerichtet, die gegenüber einer Ergebnisdevaluation und einer Kontingenzdegradation sensitiv sind. Da das Verhalten dieser Tiere somit auf das Handlungsziel hin ausgerichtet ist,

wird das zielgerichtete Verhalten demnach durch eine R-O Assoziation gesteuert. Ist ein Tier jedoch insensitiv gegenüber beiden Tests, wird ein solches Verhalten als Gewohnheitsverhalten bzw. automatisiertes Verhalten bezeichnet. Ein solches Verhalten drückt sich durch seine Unflexibilität aus, d.h. es wird auch dann ausgeführt, wenn sich die Umwelt des Tieres so geändert hat, dass das Verhalten nicht mehr zielführend ist. Das Gewohnheitsverhalten wird demnach durch eine S-R Assoziation gesteuert (Balleine and Dickinson, 1998; Killcross and Coutureau, 2003), d.h. das ein Teil der von Thorndike beschriebenen S-R Regel noch heute Bestand hat (Thorndike, 1911; Yin and Knowlton, 2006).

Das Entstehen des Gewohnheitsverhaltens ist jedoch keineswegs eine nachteilige Form des Lernens. Denn die Fähigkeit sich flexibel und zielgerichtet zu verhalten benötigt viel mentale Kapazität (Gehring and Knight, 2000). Das Ergebnis zielgerichteter Verhaltensweisen muss ständig kontrolliert und ausgewertet werden. Daher ist es biologisch zweckmäßig bestimmte Verhaltensweisen, die stets identisch, d.h. mit vergleichbarem Ergebnis ablaufen, der stetigen Kontrolle zu entziehen, so dass kognitive Verarbeitungsressourcen für aufmerksamkeitsfördernde Handlungen frei werden. Die Entwicklung von Gewohnheitsverhalten lässt sich also durch ein Kapazitätenmanagement des Gehirns begründen. Wie bereits erwähnt, sind vor allem motorische Fertigkeiten, wie z.B. das Fahrradfahren, gute Beispiele für Gewohnheitshandlungen. Einmal erlernt, denkt man nicht mehr darüber nach wie es genau funktioniert, man macht es einfach.

Es gibt aber auch Beispiele für Gewohnheiten, wie z.B. Suchtverhalten, die negative Konsequenzen haben (Everitt and Robbins, 2005; Yin and Knowlton, 2006; Nordquist et al., 2007; Belin and Everitt, 2008). Die Tatsache, dass z.B. eine drogensüchtige Person trotz des Wissens um die negativen Konsequenzen (soziale Isolation, Arbeitslosigkeit u.a.) weiterhin dem Verlangen nach der Droge nachgibt und sie aufsucht, birgt viele Ähnlichkeiten zu der Entstehung einer Gewohnheit, welche das Handlungsergebnis nicht berücksichtigt. Man vermutet daher, dass neuronale Schaltkreise, welche das Gewohnheitsverhalten steuern, bei der Suchtentstehung eine besondere Rolle spielen. Auch zahlreiche neurologische Erkrankungen wie z.B. Morbus Parkinson und verschiedene Formen der Amnesie gehen mit schweren Lern- und Gedächtnisdefiziten einher, die häufig selektiv das explizite oder implizite Gedächtnissystem betreffen. So führen Parkinson-Patienten zielgerichtete Verhaltensweisen ohne Probleme aus, weisen aber gravierende Störungen bei der Ausführung von Gewohnheitshandlungen, wie z.B. komplexeren Bewegungsabläufen, auf. Demgegenüber zeigen amnestische Patienten ein gegenteiliges Bild; sie können Gewohnheitshandlungen ohne Schwierigkeiten ausführen, haben jedoch starke Probleme beim zielgerichteten

Verhalten. Untersuchungen zur Struktur und Funktion dieser Lern- und Gedächtnissysteme sind deshalb auch medizinisch relevant und tragen zu einem besseren Verständnis der Symptome neurologischer Erkrankungen und ihrer neuronalen Grundlagen bei (Packard and Knowlton, 2002; Yin and Knowlton, 2006).

5.3 Basalganglien

Durch die Anwendung der beiden Verhaltenstests, der Ergebnisdevaluation und der Kontingenzdegradation, mit deren Hilfe es möglich ist zu bestimmen, ob ein Verhalten noch zielgerichtet ist oder sich zu einer Gewohnheit entwickelt hat, konnte nun gezeigt werden, dass jeweils unterschiedliche Bereiche der Basalganglien und des Cortex an der Steuerung des zielgerichteten und des Gewohnheitsverhalten beteiligt sind (Balleine et al., 2009; Balleine and O'Doherty, 2010). Des Weiteren wurde ein komplexes Netzwerkmodell postuliert, in dem die unterschiedlichen Bereiche der Basalganglien und des Cortex in zwei sogenannten cortico-striatalen Schaltkreisen angeordnet sind, die jeweils das zielgerichtete bzw. das Gewohnheitsverhalten steuern (Yin and Knowlton, 2006; Yin et al., 2008). Der Schaltkreis des zielgerichteten Verhaltens umfasst zudem noch Verknüpfungen zur Hippocampus-Formation, insbesondere zum entorhinalen Cortex. Der Schaltkreis, welcher das zielgerichtete Verhalten steuert, wird dabei assoziativer cortico-striataler Schaltkreis genannt, jener der das Gewohnheitsverhalten steuert, sensomotorischer cortico-striataler Schaltkreis. Im Folgenden werden zunächst Aufbau und Funktion der an den Schaltkreisen beteiligten Hirnareale vorgestellt. Darauf aufbauend werden die verhaltenssteuernden Funktionen beider Schaltkreise besprochen.

5.3.1 Anatomie der Basalganglien

Die Basalganglien sind eine Ansammlung mehrerer eng miteinander verbundener subcortikaler Kerngebiete, die sowohl bei der Steuerung der Willkürmotorik als auch bei kognitiven Prozessen eine zentrale Rolle einnehmen. Die Basalganglien bestehen aus dem Striatum, dem Globus Pallidus (GP), der Substantia Nigra (SN), sowie dem subthalamischen Nucleus (STN). Das Striatum wird hierbei sowohl anatomisch als auch funktionell in zwei weitere Subareale, das dorsale Striatum (DS) bestehend aus Nucleus Caudatus und Putamen, und das ventrale Striatum (VS) aufgeteilt. Der Globus Pallidus wird des Weiteren in ein internes (GPi) und ein externes (GPe) Segment unterteilt. Aufgrund ihrer prominenten Rolle

bei der Bewegungssteuerung wurden die Basalganglien ursprünglich dem extrapyramidalmotorischen System zugeordnet, da sie anders als das pyramidale System keine direkte Verbindung zum Rückenmark aufweisen. Heutzutage ist jedoch bekannt, dass die Basalganglien kein getrenntes motorisches System darstellen, sondern auf vielfältige Weise mit dem pyramidalen System interagieren (Kandel et al., 2000). Daher wird die Trennung des pyramidalen und extrapyramidalmotorischen Systems nicht mehr vollzogen und dient lediglich noch als Hilfestellung bei der Einteilung von neurologischen Erkrankungen. Ein Grund für die zentrale Rolle der Basalganglien bei der Willkürmotorik und der Verarbeitung kognitiver Prozesse beruht auf ihrer Verschaltung (Abb. 5).

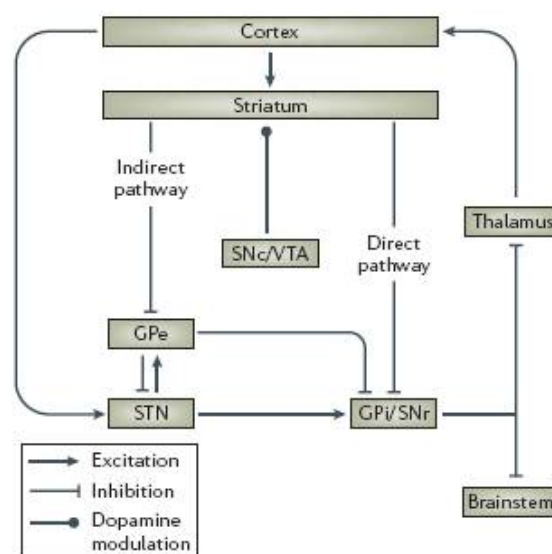


Abb. 5 Schaltkreis der Basalganglien. Das Striatum bildet die Eingangsstruktur der Basalganglien und leitet die jeweiligen Informationen über den direkten oder den indirekten Weg zu den Ausgangsstrukturen, dem GPi und der SNr, weiter. Die Aktivierung des direkten Weges führt zu einer Förderung, die Aktivierung des indirekten Weges zu einer Hemmung der motorischen Aktivität. Der GPi leitet die Informationen sowohl zum Hirnstamm als auch über den Thalamus zurück zum Cortex, wodurch eine cortico-striatal-thalamisch-corticale Funktionsschleife gebildet wird (modifiziert nach Yin and Knowlton, 2006). GPe, Globus pallidus externa; GPi, Globus pallidus interna; SNc, Substantia nigra pars compacta; SNr, Substantia nigra pars reticulata; STN, Subthalamischer Nucleus; GPi, Globus pallidus interna; GPe, Globus pallidus externa; SNr, Substantia nigra pars reticulata; SNc, Substantia nigra pars compacta; STN, Subthalamischer Nucleus; VTA, ventrales tegmentales Areal.

Die Basalganglien erhalten den Großteil ihrer Afferenzen aus dem gesamten Cortex sowie dopaminerge Afferenzen aus dem ventralen tegmentalen Areal (VTA) und der SN. Das Striatum bildet hierbei die Eingangsstruktur der Basalganglien und leitet die Informationen entweder über den direkten Weg zum GPi, oder über den indirekten Weg zum GPe, der wiederum über den STN mit dem GPi verbunden ist. Der GPi bildet die Ausgangsstruktur der

Basalganglien und sendet die ausgehenden Signale sowohl an den Hirnstamm als auch zum Thalamus, der diese dann an den Cortex weiterleitet, wodurch eine cortico-striatal-thalamisch-corticale Funktionsschleife gebildet wird.

Die oben dargestellte anatomische Organisation bezieht sich im Wesentlichen auf die motorischen Funktionen, die die Basalganglien ausführen. Die Informationen, die die Basalganglien aus dem Cortex erreichen sind vielfältig, weshalb der Cortex in diesem Bezug auch als „Generator der Vielfältigkeit“ bezeichnet wurde (Yin and Knowlton, 2006). Es obliegt den Basalganglien zu entscheiden, welche Informationen weiterverarbeitet werden sollen und welche nicht, eine Aufgabe, die als „Auswahl und differenzierte Verstärkung“ bezeichnet wird (Yin and Knowlton, 2006).

Am Beispiel der Steuerung der motorischen Aktivität soll erläutert werden, wie die beiden intrinsischen Wege der Basalganglien zusammenwirken. Die Projektionsneurone des Cortex sind glutamaterg und erregend (= exzitatorisch). Demgegenüber beruht die Informationsverarbeitung innerhalb der Basalganglien vorrangig auf hemmenden (= inhibitorischen) Projektionsneuronen, die den Neurotransmitter γ -Aminobuttersäure (GABA) ausschütten. Eine Informationsweiterleitung über den direkten Weg hat, durch eine Inhibition des GPi und der damit verbundenen Disinhibition des Thalamus, eine Aktivierung des Cortex zur Folge, was letztlich z.B. zu einer Förderung der motorischen Aktivität führt. Bei einer Informationsweiterleitung über den indirekten Weg wird durch eine Hemmung des GPe der STN disinhibiert. Der STN ist die einzige Struktur der Basalganglien die exzitatorisch auf nachfolgende Areale wirkt. Durch die Disinhibition des STN wird dieser aktiviert, was zu einer erhöhten Aktivität des GPi führt, der wiederum als Ausgangsstruktur den Hirnstamm und den Thalamus inhibiert. Somit bewirkt eine Aktivierung des indirekten Weges letztlich z.B. eine Hemmung der motorischen Aktivität.

Neben den glutamatergen Afferenzen des Cortex wird die Informationsverarbeitung im Striatum zudem durch die dopaminergen Projektionen der SN moduliert. Die dopaminergen Neurone modulieren den direkten und den indirekten Weg durch Aktivierung unterschiedlicher Rezeptoren. Während die dopaminergen Neurone den direkten Weg über eine Aktivierung der D1-Rezeptoren beeinflussen, wird der indirekte Weg über D2-Rezeptoren moduliert. Dabei gilt, dass D1-Rezeptoren generell exzitatorisch wirken, D2-Rezeptoren dagegen inhibitorisch. Durch eine Aktivierung der D1-Rezeptoren des direkten Weges wird die Aktivität dieses Pfades somit erhöht, was die motorische Aktivität fördert. Durch die Aktivierung der D2-Rezeptoren hingegen wird der indirekte Weg gehemmt, was letztlich die motorische Aktivität ebenfalls erhöht. Die unterschiedliche rezeptorvermittelte Modulation durch dopaminerge Neurone der SN wirkt somit synergistisch auf die

Aktivierung beider Wege und die motorische Aktivität (Albin et al., 1989; Kandel et al., 2000; Surmeier et al., 2007). Ohne den dopaminergen Eingang der Basalganglien würde sich die neuronale Aktivität der Ausgangstrukturen erhöhen, was zu einer stärkeren Inhibierung des Thalamus und damit zu einer Hemmung der motorischen Aktivität führen würde. Somit nehmen die dopaminergen Neurone des Mittelhirns eine wichtige Rolle bei der Verarbeitung motorischer Informationen innerhalb der Basalganglien ein.

5.3.2 Funktionen der Basalganglien

Lange wurde vermutet, dass die Basalganglien über den direkten und den indirekten Pfad nur an der Steuerung der Willkürmotorik beteiligt sind. Diese Annahme beruhte im Wesentlichen auf der Entdeckung, dass Störungen in der Signalübermittlung beider intrinsischen Wege, wie sie bei Patienten mit Morbus Parkinson und Chorea Huntington auftreten, erhebliche Bewegungsstörungen nach sich ziehen (Penney and Young, 1983; Albin et al., 1989). Im Falle von Morbus Parkinson beruhen die motorischen Störungen Akinese (Bewegungsarmut), Rigor (Muskelstarre) und Tremor (Muskelzittern) auf einer Degeneration dopaminergener Neurone in der SN. Demgegenüber leiden Menschen mit Chorea Huntington vor allem an plötzlich einsetzenden unwillkürlichen Bewegungen, hervorgerufen durch eine Degeneration GABAerger Projektionsneurone im Putamen, d.h. einer Störung des indirekten Pfades der Basalganglien.

In den letzten 20-25 Jahren wurden durch moderne neuroanatomische und -physiologische Methoden erhebliche Fortschritte im Verständnis von Funktionen der Basalganglien erzielt. So konnte gezeigt werden, dass die Basalganglien nicht nur an der Kontrolle von Willkürbewegungen, sondern auch an der Steuerung höherer kognitiver Leistungen beteiligt sind. Eine bedeutende neuroanatomische Arbeit, die sich mit den nicht-motorischen Funktionen der Basalganglien beschäftigte, kam zu dem Ergebnis, dass die Basalganglien aus fünf funktionell verschiedenen Schleifen bestehen (Alexander et al., 1986) (Abb.6). Allen Funktionsschleifen ist gemein, dass sie vom Cortex zu den Basalganglien führen und von dort über spezialisierte Areale des Thalamus zurück zum Cortex projizieren. Neben den beiden motorischen Schleifen, der skeletomotorischen und der okulomotorischen, haben die restlichen drei Schleifen allesamt nicht-motorische Areale des Cortex als Ausgangspunkt. Sowohl der dorsolaterale präfrontale Cortex, als auch der laterale orbitofrontale Cortex sowie der anteriore cinguläre / mediale orbitofrontale Cortex sind Ausgangspunkt einer cortico-striatal-thalamisch-corticalen Funktionsschleife (Middleton and Strick, 2000). Gemäß ihrer

Ausgangspunkte werden diese drei Schleifen als die dorsolaterale präfrontale Schleife, die laterale orbitofrontale Schleife, sowie die anteriore cinguläre / mediale orbitofrontale Schleife bezeichnet.

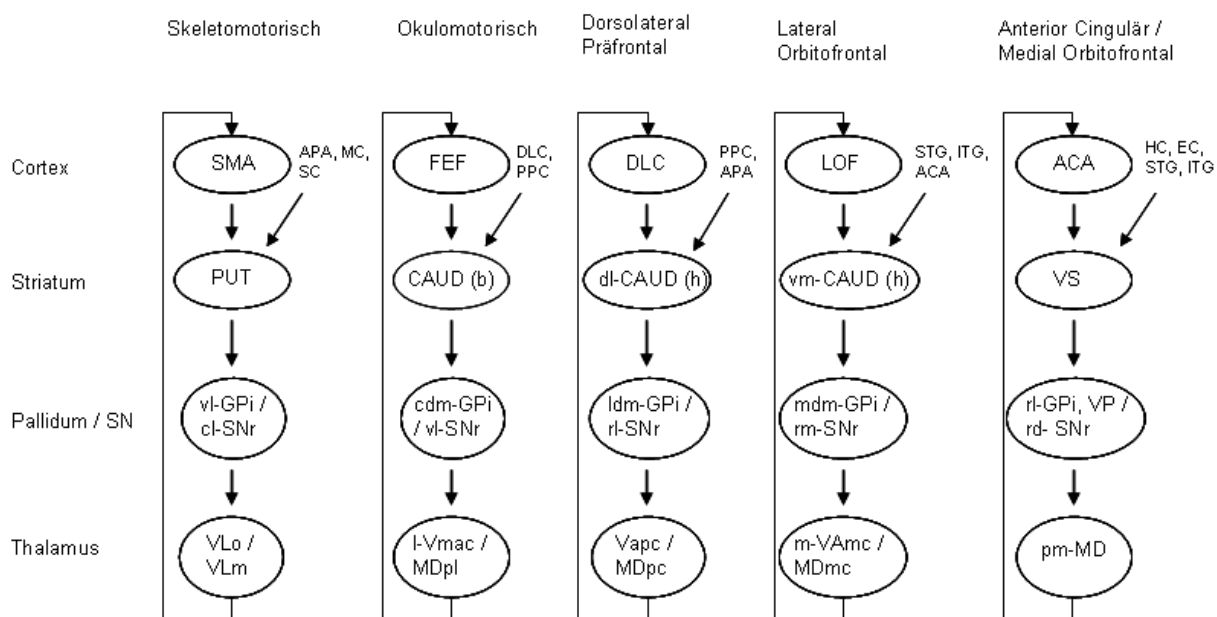


Abb. 6 Funktionsschleifen der Basalganglien. Schemazeichnung der fünf cortico-striatalen Funktionsschleifen. Spezifische Areale des Cortex senden Projektionen zu spezifischen jedoch teils überlappenden Arealen des Striatums. Von dort werden die Informationen zu spezifischen Arealen des Pallidums und der Substantia Nigra weitergeleitet, welche sich ebenfalls teilweise überschneiden. Von dort werden die Informationen in spezifische Areale des Thalamus entsendet. Jede Funktionsschleife schließt sich, dadurch dass der Thalamus die jeweiligen Informationen in das Areal des Cortex zurücksendet, aus dem sie ursprünglich gekommen ist. (modifiziert nach Alexander et al., 1986)

ACA, Anteriores Cinguläres Areal; APA, Arcuates Prämotorisches Areal; CAUD, Caudate, (b) Körper (h) Kopf); DLC, Dorsolateraler Präfrontaler Cortex; EC, Entorhinaler Cortex; FEF, Frontales Augenfeld, GPi, Globus Pallidus interna; HC, Hippocampaler Cortex; ITG; Inferiorer Temporaler Gyrus; LOF, Lateraler Orbitofrontaler Cortex; MC, Motorcortex; MDpl, Medialis Dorsalis pars paralamellaris; MDmc, Medialis Dorsalis pars magnocellularis; MDpc, Medialis Dorsalis pars parvocellularis; PPC, Posteriore Parietale Corex; PUT, Putamen; SC, Somatosensorischer Cortex; SMA, Supplementär Motorisches Areal; SNr, Substantia Nigra pars reticulata; STG, Superiorer Temporaler Gyrus; VAmc, Ventralis Anteriores pars magnocellularis; Vapc, Ventralis Anteriores pars parvocellularis; VLm, Ventralis Lateralis pars medialis; VLo, Ventralis Lateralis pars oralis; VP, Ventrales Pallidum; VS, Ventrales Striatum; cl-: caudolateral; cdm-: caudal dorsomedial; dl-: dorsolateral; l-: lateral; ldm-: lateral dorsomedial; m-: medial; mdm-: medial dorsomedial; pm: posteromedial; rd-: rostradorsal; rl-: rostrolateral; rm-: rostromedial; vm-: ventromedial; vl-: ventrolateral

Wohingegen die skeletomotorische und die okulomotorische Schleife Bewegungen der Extremitäten bzw. der Augen steuern, sind die drei nicht-motorischen Schleifen an der Verarbeitung kognitiver Leistungen beteiligt. Über die Funktionen der nicht-motorischen

Schleifen war anfangs wenig bekannt. Inzwischen gilt es als gesichert, dass jede der Schleifen z.T. voneinander abgrenzbare kognitive Leistungen steuert, wie z.B. das Planen von Handlungen, das räumliche Lernen, die Objekterkennung, das Arbeitsgedächtnis, das Regellernen, sowie an belohnungsbezogenen Verhaltensweisen beteiligt ist (Middleton and Strick, 2000). Eine weitere wichtige Entdeckung war die topographische Organisation dieser Funktionsschleifen, d.h. dass die corticalen Ausgangsstrukturen gleichzeitig Ziel der von den Basalganglien über den Thalamus verlaufenden ausgehenden Signale sind (Alexander et al., 1986).

Diesem Konzept der geschlossenen Schleifen steht ein zweites Konzept gegenüber, welches sowohl geschlossene als auch offene Schleifen postuliert (Joel and Weiner, 1994). Diesem Konzept zur Folge projizieren die pallidalen und thalamischen Efferenzen nicht nur zum Ausgangspunkt der Schleife, sondern noch zu weiteren corticalen Arealen, wodurch neben der geschlossenen gleichzeitig eine offene Schleife entsteht. Durch diese offene Organisation könnten die einzelnen Funktionsschleifen miteinander interagieren und Informationen austauschen. Auch elektrophysiologische Arbeiten stützen dieses Konzept der Basalganglien, insbesondere die Existenz von Schleifen, die nicht-motorische Funktionen steuern. Einzelzelleitungen der SNr sowie des GPi konnten zeigen, dass nicht alle Neurone dieser Areale auf motorische Aktivitäten reagieren. Viele Neurone reagierten auf belohnungsbezogene Reize (Hikosaka and Wurtz, 1983; Hikosaka et al., 1993) und sind in Intervallen aktiv, in denen Informationen im Arbeitsgedächtnis behalten werden (Mushiake and Strick, 1993). Diese Ergebnisse legen nahe, dass die Basalganglien an kognitiven Aufgaben beteiligt sind. Auch die Erforschung von Morbus Parkinson und Chorea Huntington an Tiermodellen ergab, dass die Basalganglien an kognitiven Aufgaben beteiligt sind. So weisen Primaten mit experimentell erzeugtem Morbus Parkinson bzw. Chorea Huntington oft initial kognitive Defizite auf, bevor es zu motorischen Störungen kommt (Schneider and Roeltgen, 1993; Roeltgen and Schneider, 1994; Schneider and Pope-Coleman, 1995; Palfi et al., 1996). Ebenso machten neurologische Studien deutlich, dass Patienten mit einer Schädigung des GP neben motorischen auch an schwerwiegenden psychischen, kognitiven und compulsiven Störungen litten (Laplante et al., 1989; Strub, 1989; Cummings, 1993; Bhatia and Marsden, 1994). Zusammenfassend machen die tierexperimentellen und klinischen Daten deutlich, dass die Teilgebiete der Basalganglien nicht nur an motorischen, sondern insbesondere auch an vielen verschiedenen kognitiven Aufgaben beteiligt sind. Realisiert werden diese unterschiedlichen Funktionen durch fünf verschiedene Funktionsschleifen (Middleton and Strick, 2000), welche von verschiedenen Arealen des Cortex zu den Basalganglien und von dort über den Thalamus zurück zu den Cortexarealen

ziehen. Die funktionelle Heterogenität der Basalganglien wird besonders an der Eingangsstruktur deutlich, dem Striatum. Es umfasst das dorsale und das ventrale Striatum; beide Strukturen sind sowohl Teil der assoziativen als auch der sensomotorischen Funktionsschleife. Ihre funktionelle Organisation wird im Folgenden besprochen.

5.3.3 Dorsales Striatum

Das DS besteht aus zwei Strukturen, dem Nucleus caudatus und dem Putamen, welche nur bei Primaten durch die interne Kapsel getrennt werden. Bei allen andern Säugern werden diese beiden Strukturen einheitlich auch als Neostriatum oder Caudatus-Putamen-Komplex bezeichnet. Das DS wird hauptsächlich durch corticale glutamaterge Fasern, sowie von dopaminergen Neuronen der SNc innerviert und sendet die Informationen über GABAerge Projektionsneurone zum GPi weiter, von wo aus die Signale sowohl zum Hirnstamm als auch über den Thalamus zurück zum Cortex geleitet werden. Das DS wird darüber hinaus noch von thalamischen Afferenzen innerviert, deren Ursprünge hauptsächlich in den intralaminaren thalamischen Kernen liegen. Einige dieser thalamisch-striatalen Projektionsneurone überschneiden sich mit den striatal-thalamischen Projektionsneuronen, d.h. es besteht vermutlich eine negative Rückkopplungsschleife zwischen dem Thalamus und den Basalganglien (Mengual et al., 1999).

Als integraler Bestandteil der assoziativen und sensomotorischen Funktionsschleife ist das DS neben rein motorischen Aufgaben ebenfalls an kognitiven Aufgaben beteiligt. So haben Arbeiten der letzten 20 Jahre gezeigt, dass das DS bei einer bestimmten Lernform eine Schlüsselposition einnimmt. Packard et al. (1989) wiesen als erste Arbeitsgruppe nach, dass das DS eine wichtige Rolle beim Lernen einer S-R Beziehung spielt, ein Ergebnis das nur kurze Zeit später McDonald und White (1993) bestätigten. Dabei wurde wie folgt vorgegangen: Bei der so genannten „win-shift / win-stay“ Aufgabe, die in einem 8-Arm-Labyrinth gestellt wird, müssen Ratten 2 Strategien lernen, nämlich entweder jeden Arm nur einmal zu besuchen (*win-shift*) oder immer wieder in dieselben beleuchteten Arme zu gehen (*win-stay*), um eine Belohnung zu erhalten. Ratten mit einer elektrolytischen (Packard et al., 1989) bzw. einer Zellkörperläsion des DS (McDonald and White, 1993) waren nun nicht mehr in der Lage die „win-stay“ Aufgabe zu meistern, hatten dagegen aber keine Probleme bei der „win-shift“ Aufgabe. Bei der „win-shift“ Variante müssen sich die Tiere jene Arme merken, die sie vorher besucht haben, wodurch bei dieser Aufgabe das Arbeitsgedächtnis im Vordergrund steht. Dagegen bilden die beleuchteten Arme der „win-stay“ Aufgabe einen

immer gleich bleibenden Stimulus (S), dem das Tier nur zu folgen hat (R). Beim S-R Lernen ist das Ergebnis (z.B. die Belohnung) nicht Bestandteil der Assoziation, und sollte demzufolge nach einer Ergebnisdevaluation das Verhalten des Tieres nicht ändern (siehe Abb. 3A). Dies konnten Sage und Knowlton (2000) bestätigen. Tiere, die eine „win-stay“ Aufgabe gelernt hatten und einer Ergebnisdevaluation unterzogen wurden, suchten weiterhin die beleuchteten Arme auf. Zahlreiche weitere Studien bestätigten, dass das DS an der Bildung einer S-R Assoziation beteiligt ist. So haben Arbeiten im Wasserlabyrinth gezeigt, dass DS-läsionierte Tiere die S-R Version der Aufgabe nicht erlernen konnten, bei der die zu erreichende Plattform zwar immer an einem anderen Ort war, aber der Hinweisreiz auf der Plattform immer dasselbe Muster (S) aufwies (Packard and McGaugh, 1992; McDonald and White, 1994). In einer weiteren, wegweisenden Arbeit in einem T-Labyrinth konnte aufgezeigt werden, dass Tiere mit einer Läsion des DS nicht in der Lage waren eine S-R Assoziation herzustellen. Bei dieser Aufgabe werden die Tiere immer wieder vom selben Startpunkt (Süden) aus im T-Labyrinth eingesetzt und müssen an der Kreuzung immer in den linken Arm (Westen) laufen, um eine Belohnung zu erhalten. Nach einer Trainingszeit von sieben Tagen wird dann der Startarm um 180° gedreht (Norden), so dass nun ein Abbiegen in den rechten Arm (Westen) zur Belohnung führen würde. Kontrolltiere und Tiere mit einem läsierten DS meistern diese Aufgabe nach sieben Tagen, in dem sie in den rechten Arm laufen. Sie werden daher zu diesem Zeitpunkt als Orts-Strategen bezeichnet. Nach einem weiteren siebentägigen Training und einem erneuten Test, bei dem der Startarm erneut um 180° gedreht wird (Norden), zeigen Kontrolltiere nun ein verändertes Verhalten. Sie laufen nun vorzugsweise in den linken Arm (Osten) und führen somit einfach dieselbe Handlung „links laufen“ aus wie im Training. Solche automatisch und ortsunabhängig agierenden Tiere werden daher auch als Reaktions-Strategen bezeichnet. DS-läsionierte Tiere hingegen laufen vorzugsweise in den rechten Arm (Osten) und sind somit weiterhin Orts-Strategen. Im Unterschied zu Kontrolltieren scheinen Läsionstiere keine S-R Assoziation zu bilden, die die Handlung auf automatisierte Weise steuert. Daher scheint das DS für die Bildung einer S-R Assoziation, wie sie sich in der T-Labyrinth-Aufgabe bei Kontrolltieren nach zweiwöchigem Training bildet, maßgeblich verantwortlich zu sein.

Ein wichtiger Aspekt bei all diesen Studien ist die Tatsache, dass parallel untersuchte Läsionen des Hippocampus zu spiegelbildlichen Ergebnissen kamen. So waren hippocampal läsierte Tiere im T-Labyrinth nicht mehr in der Lage die räumliche „win-shift“ Aufgabe zu lernen, konnten im Wasserlabyrinth die räumliche Version der Plattform-Aufgabe nicht erlernen und waren beim Erlernen der T-Labyrinth Aufgabe nicht in der Lage eine ortbezogene Strategie zu wählen. Diese Ergebnisse verdeutlichen, dass es sich beim

Hippocampus und DS um Strukturen handelt, die an der Steuerung unterschiedlicher Lernformen beteiligt sind. Während der Hippocampus für räumliches Lernen essentiell zu sein scheint, ist das DS für die Formation einer S-R Assoziation unerlässlich. Man vermutet, dass der Hippocampus und das DS zu zwei unterschiedlichen Lernsystemen gehören, die zu Beginn einer Aufgabe zunächst parallel aktiviert werden (McDonald and White, 1994; Packard and McGaugh, 1996; Packard, 1999). Wenn eine Aufgabe neu gelernt wird, wird zu Beginn das hippocampale System stärker aktiviert. Es ermöglicht ortsbezogenes Handeln, auch dann wenn sich Zielorte ändern. Dadurch wird flexibles Handeln möglich. Wird in einer Aufgabe stets dieselbe Handlung oft wiederholt, übernimmt das striatale System die Handlungssteuerung. Das Verhalten läuft automatisiert ab, passt sich allerdings an einen Wechsel des Zielortes nicht mehr an; es ist unflexibel. Dies ähnelt dem Wechsel vom zielgerichteten Verhalten zum Gewohnheitsverhalten (siehe Abschnitt 5.2).

Vor einigen Jahren wurde festgestellt, dass für das Lernen von S-R Assoziationen, die bei räumlichen Lernaufgaben eine bedeutsame Rolle spielen, nur eine Subregion des DS relevant zu sein scheint. Demnach ist nur der laterale Teil des DS (= Putamen), das sogenannte dorsolaterale Striatum (DLS), für die Bildung einer S-R Assoziation verantwortlich, wohingegen der mediale Teil (= Nucleus caudatus), das sogenannte dorsomediale Striatum (DMS), ähnliche Aufgaben übernimmt wie der Hippocampus (Devan and White, 1999). Daher scheint es in Bezug auf Labyrinthaufgaben eine funktionelle Heterogenität innerhalb des DS zu geben; der laterale Bereich steuert S-R Assoziationen und damit das Gewohnheitsverhalten, der mediale Bereich flexibles, zielgerichtetes Verhalten. Mittlerweile ist durch weite Studien belegt, dass das Konzept der funktionellen Heterogenität auch auf das instrumentelle Lernen übertragen werden kann. So scheint der laterale Bereich das Gewohnheitsverhalten und der mediale Bereich zielgerichtetes Verhalten zu steuern (Yin et al., 2004; Yin et al., 2005b) (siehe 5.6).

5.3.4 Nucleus Accumbens

Der Nucleus Accumbens (NAc), ein Teil des VS, unterscheidet sich in seiner Zyto- und Chemoarchitektur nicht wesentlich vom DS (Prensa et al., 2003; Voorn et al., 2004). Eine strenge Unterteilung der beiden Areale ist daher nicht möglich (Abb. 7). Wie im DS besteht der Hauptanteil der Neurone im NAc aus GABAergen Projektionsneuronen (ca. 95%), welche die vielfältigen Informationen der Afferenzen des NAc empfangen, innerhalb des NAc weiterverarbeiten und zu den Ausgangsstrukturen leiten. Da der NAc, ebenso wie das DS, zur

Eingangsstruktur der Basalganglien gehört, wird auch er von einer Vielzahl cortical-glutamaterger Afferenzen innerviert, deren Ursprung hauptsächlich im präfrontalen (PFC), anterioren cingulären (ACC) und entorhinalen Cortex (EC) liegen (McGeorge and Faull, 1989; Heimer et al., 1995; Robbins and Everitt, 1996; Setlow, 1997). Des Weiteren erhält der NAc eine sehr starke dopaminerge Innervation von der VTA und der SNc (Heimer et al., 1995; Setlow, 1997; Groenewegen and Trimble, 2007).

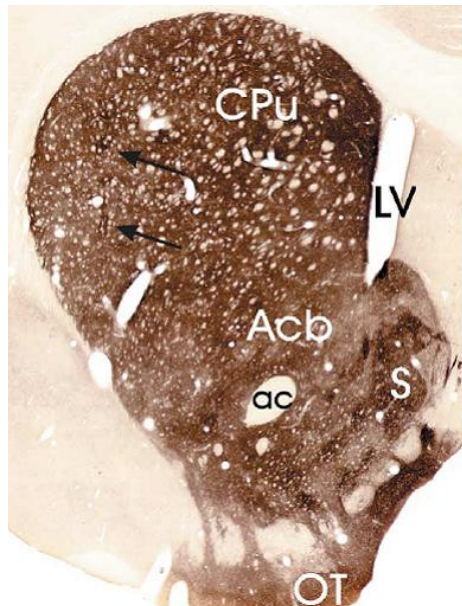
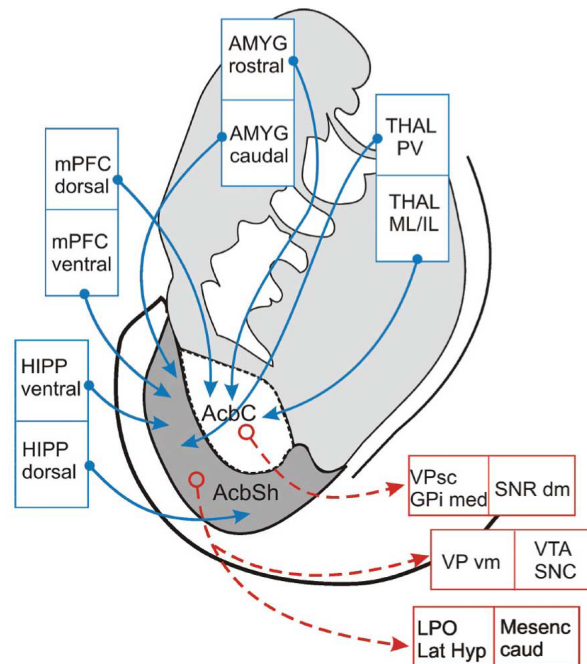


Abb.7 Neurochemie des Striatums. Abgebildet ist ein Transversalschnitt einer Hemisphäre, bei der mittels einer TH-Immunhistochemie die dopaminergen Neurone angefärbt wurden. Es sind regionale Unterschiede in der Dichte der dopaminergen Fasern zu erkennen (Pfeile), diese lassen jedoch keine deutliche Unterteilung zwischen dem dorsalen Striatum (CPu) und dem ventralen Striatum (hier: Acb) erkennen (modifiziert nach Voorn et al., 2004). ac, Anteriore Kommissur; Acb, Nucleus Accumbens; CPu, Caudatus-Putamen-Komplex (= dorsales Striatum); LV, Lateraler Ventrikel; OT, Olfaktorischer Tuberkel; S, Nucleus Accumbens Hülle (= NAc

Neben den corticalen und mesencephalen Projektionen erhält der NAc zudem Afferenzen von limbischen Strukturen, wie der Amygdala, und dem Hippocampus (Kelley et al., 1982; Heimer et al., 1995; Robbins and Everitt, 1996; Setlow, 1997). Die Efferenzen des NAc ziehen zum ventralen Pallidum (VP), dem GP, der VTA sowie zur SNc (Groenewegen and Trimble, 2007). Vor allem wegen ihrer unterschiedlichen Afferenzen und Efferenzen lässt sich der NAc in zwei Subareale, die Kernregion (*NAc core*) und die Hüllregion (*NAc shell*), aufteilen (Abb.8). Der NAc core wird vornehmlich von Afferenzen aus dorsalen Bereichen des PFC und ACC, dem parahippocampalen Cortex, sowie aus dem anterioren Teil der basolateralen Amygdala (BLA) innerviert. Dagegen erhält die NAc shell ihre Afferenzen aus den ventralen Bereichen des PFC und ACC, dem Subiculum und der CA1 Region des

Hippocampus, sowie vom posterioren Teil der BLA (Groenewegen and Trimble, 2007). Vergleicht man die efferenten Verbindungen entspricht der NAc core mehr dem DS und projiziert hauptsächlich zum VP, sowie zum GPi und zur SNr, wohingegen die NAc shell neben dem VP noch weitere Projektionen zur VTA, zur SNc und dem lateralen Hypothalamus sendet (Cardinal et al., 2002a; Groenewegen and Trimble, 2007).



11

Abb.8 Afferenzen und Efferenzen des NAc. Darstellung der Afferenzen und Projektionen des NAc core und der NAc shell (modifiziert nach Groenewegen and Trimble, 2007).

Acb C, Nucleus Accumbens Core; AcbSh, Nucleus Accumbens Shell; Amyg, Amygdala; GPi med, medialer Globus Pallidus interna; Hipp, Hippocampus; LPO, Laterales präoptisches Areal; Lat Hyp, Lateraler Hypothalamus; Mesenc caud, Caudale Mesencephale Region; mPFC, mediale präfrontale Cortex; SNC, Substantia Nigra pars compacta; SNR dm, dorsomediale Substantia Nigra pars reticulata; Thal PV, Paraventriculärer thalamischer Nucleus; Thal ML/IL, mediale / intralaminare thalamische Nuclei; VP vm, ventromediales Areal des ventralen Pallidums; VP sc, Subkommissur des ventralen Pallidums; VTA, ventrales tegmentales Areal

Aufgrund seiner limbischen Afferenzen und den ausgehenden Projektionen zu motorischen Arealen (VP, SN), wurde der NAc als limbisch-motorische Schnittstelle bezeichnet (Mogenson et al., 1980). Diese Bezeichnung trifft im weitesten Sinne auch heute noch zu (Cardinal et al., 2002a; Groenewegen and Trimble, 2007). Allerdings ist der Erkenntniszuwachs über die Funktionen des NAc erheblich, weshalb das „einfache“ Bild des NAc als limbisch-motorische Schnittstelle etwas differenzierter betrachtet werden muss. Wohingegen die NAc shell vor allem ungelerntes Verhalten, wie z.B. Fressverhalten, vermittelt und im Besonderen für die Verarbeitung unconditionierter Reize verantwortlich zu

sein scheint (Bassareo and Di Chiara, 1999; Kelley, 1999; Cardinal et al., 2002a), nimmt der NAc core eine sehr prominente Rolle bei der Steuerung der motivationalen Wirkungen konditionierter Stimuli ein (Robbins and Everitt, 1996; Cardinal et al., 2002a). So bewirkte eine Zellkörperläsion des NAc core, dass diese Tiere sowohl beim Lernen einer appetitiven klassischen Konditionierung (Parkinson et al., 2000b) als auch bei der Bereitschaft auf den CS+ zu reagieren (Cardinal et al., 2002b) erhebliche Defizite aufwiesen. Da Läsionen der dopaminergen Neurone zu ähnlichen Defiziten beim Lernen und Ausführen einer appetitiven klassischen Konditionierung führten (Dalley et al., 2002; Parkinson et al., 2002), scheinen DA Signale im NAc core für diese Lernvorgänge wichtig zu sein. Ebenso verursachte eine temporäre Inaktivierung des NAc core ein Defizit beim Lernen der Aufgabe, respektive bei der Bereitschaft auf den CS+ zu reagieren (Di Ciano et al., 2001). Dalley (2005) gelang der Nachweis, dass sowohl glutamaterge als auch dopaminerge Afferenzen des NAc core für die frühe Konsolidierungsphase nach einer klassischen Konditionierung wichtig sind, d.h. beim Speichern gelernter S-R Assoziationen.

Neben der beschriebenen funktionellen Heterogenität gibt es jedoch auch Hinweise auf eine funktionelle Homogenität, d.h. dass beide Subareale an der Vermittlung desselben kognitiven Prozesses beteiligt sind. So scheint der NAc eine wichtige Aufgabe beim klassisch-instrumentellen Transfer (siehe Abschnitt 5.1.3 Instrumentelle Konditionierung) zu übernehmen, in dem er motivierende Effekte des CS+ auf die instrumentelle Handlung steuert. So konnten sowohl Zellkörperläsionen (Corbit et al., 2001; Hall et al., 2001; de Borchgrave et al., 2002) als auch temporäre Inaktivierungen der dopaminergen Afferenzen (Dickinson et al., 2000; Murschall and Hauber, 2006; Lex and Hauber, 2008) des NAc den Transfereffekt blockieren. Außerdem ist der NAc an der Steuerung Kosten-Nutzen-abhängiger Entscheidungen beteiligt. So vermittelt der NAc inwieweit ein Tier bereit ist, für eine höhere Belohnung zu arbeiten. Dopaminerge Läsionen des NAc führten dazu, dass Tiere nicht mehr bereit waren, für eine Belohnung häufig auf einen Hebel zu drücken (Aberman and Salamone, 1999; Correa et al., 2002; Mingote et al., 2005; Salamone et al., 2007). Wenn hingegen nur ein Hebeldruck erforderlich war, um eine Belohnung zu erhalten, zeigten dieselben Tiere keinerlei Defizit. Ein ähnliches Defizit zeigen Tiere mit einer Zellkörperläsion des NAc, wenn sie die Wahl zwischen zwei unterschiedlich großen Belohnungen haben, bei der der Erhalt der geringeren Belohnung einen niedrigeren Aufwand bedeutet, wie das Erlangen der größeren Belohnung. Während Kontrolltiere die Handlungsoption „hoher Aufwand – hohe Belohnung“ bevorzugen, wählen läsionierte Tiere bevorzugt die Handlungsoption „geringer Aufwand – geringe Belohnung“ (Hauber and Sommer, 2009).

Allerdings scheint der NAc keine Rolle beim zielgerichteten Verhalten, z.B. in instrumentellen Aufgaben, zu spielen. So beeinflusste eine Zellkörperläsion des NAc weder das Verhalten der Tiere nach einer Ergebnisdevaluation noch nach einer Kontingenzdegradation (Balleine and Killcross, 1994). Demgegenüber konnte eine neuere Studie zeigen, dass im Hinblick auf die Steuerung instrumentellen zielgerichteten Verhaltens eine funktionelle Heterogenität zwischen den beiden Subarealen besteht. Während eine Läsion der NAc shell keinerlei Defizit beim zielgerichteten Verhalten nach sich zog, führte eine Läsion des NAc core zu einem Defizit bei der Ergebnisdevaluation (Corbit et al., 2001).

5.4 Präfrontaler Cortex

5.4.1 Anatomie des präfrontalen Cortex

Ursprünglich wurde angenommen, dass der präfrontale Cortex (PFC) jene Bereiche der Hirnrinde umfasst, mit denen reziproke Projektionen zum mediodorsalen Thalamus (MDT) bestehen (Rose and Woolsey, 1948), da der MDT der einzige thalamische Nucleus mit Verbindungen zum Cortex ist (Uylings et al., 2003). Aufgrund moderner Tracing-Techniken ist heute jedoch bekannt, dass die Verbindungen von thalamischen Nuclei zum PFC weitaus vielschichtiger und komplexer sind als ursprünglich angenommen. Uylings und van Eden (1990) haben daraufhin eine neue Definition vorgeschlagen, wonach der PFC jene Areale umfasst, die ihre jeweils stärkste reziproke Verbindung mit dem MDT haben. Bei Ratten umfasst diese Definition drei anatomisch voneinander abrenzbar Areale der Hirnrinde, den medialen, den lateralen sowie den ventralen PFC (Abb. 9a+b).

Jeder dieser Teilbereiche kann indessen weiter unterteilt werden. So unterscheidet man im medialen Teil einen dorsalen und einen ventralen Bereich. Der dorsale Bereich des medialen Areals setzt sich aus dem präzentralen Areal (PrC) und dem anterioren cingulären Cortex (ACC) zusammen. Der ventrale Bereich beinhaltet den prälimbischen (PL), den infralimbischen (IL) und den medialen orbitalen (MO) Cortex. Das laterale Areal des PFC besteht aus dem dorsalen und ventralen agranularen insularen Cortex (AID; AIV), sowie dem lateralen orbitalen Cortex (LO). Das ventrale Areal des PFC setzt sich aus dem ventralen orbitalen (VO) und dem ventro-lateralen orbitalen Cortex (VLO) zusammen (Dalley et al., 2004). Der PFC ist Teil von Schaltkreisen, die an der Steuerung kognitiver Aufgaben beteiligt sind. Dazu zählen insbesondere jene drei cortico-striatalen Funktionsschleifen (Alexander et al., 1986; Middleton and Strick, 2000) (siehe Abschnitt 5.3.2), bei denen der PFC sowohl die Ausgangs- als auch die Eingangsstruktur darstellt. Der PFC ist außerdem mit subcorticalen

Strukturen verbunden, wie z.B. der Amygdala, dem Hippocampus und dem lateralen Hypothalamus (Groenewegen et al., 1997; Groenewegen and Uylings, 2000). Darüberhinaus unterhält er Verbindungen mit anderen multimodalen Cortexarealen, vor allem mit motorischen und sensorischen (visuell, auditorisch, gustatorisch etc.) Bereichen (Van Eden et al., 1992; Ongur and Price, 2000). Weitere bedeutende reziproke Verbindungen besitzt der PFC darüber hinaus mit den Ursprungskernen vieler Neurotransmittersysteme, wie z.B. mit den noradrenergen Neuronen des Locus Coeruleus, mit den dopaminergen Neuronen der VTA und der SN sowie mit serotonergen Neuronen des Raphé Kerns und cholinergen Neuronen des basalen Vorderhirns (Robbins, 2000; Uylings et al., 2003; Robbins, 2005).

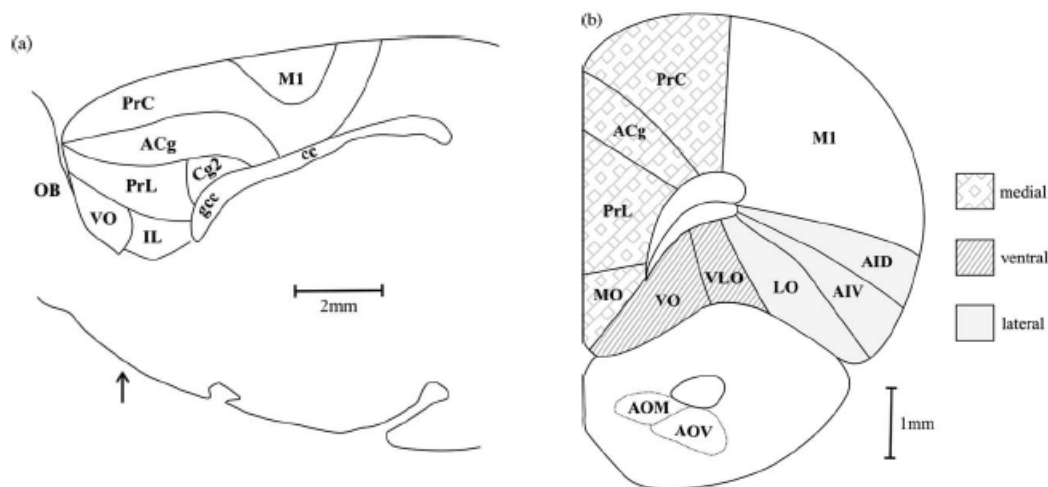


Abb.9 Anatomie des PFC der Ratte a) Sagittalschnitt durch ein Rattengehirn. b) Coronalschnitt desselben Hirns auf der Höhe des bei a) eingezeichneten Pfeils (+3.5mm Bregma). Die unterschiedlichen Schattierungen geben die drei großen Areale (medial, ventral, lateral) des PFC der Ratte wieder (modifiziert nach Dalley et al., 2004).

ACg, Anteriorer Cingulärer Cortex; AID, dorsaler agranularer insularer Cortex; AIV, ventraler agranularer insularer Cortex; AOM, medialer anteriorer olfaktorischer Nucleus; AOV, ventraler anteriorer olfaktorischer Nucleus; cc, Corpus Callosum; Cg2, cinguläres Cortexareal 2; gcc, Genu des Corpus Callosum; IL, infralimbischer Cortex; LO, lateraler orbitaler Cortex; MI, primäres motorisches Areal; MO, medialer orbitaler Cortex; OB, olfaktorischer Bulbus; PrL, prälimbischer Cortex; PrC, präzentaler Cortex; VLO, ventro-lateraler orbitaler Cortex; VO, ventraler orbitaler Cortex

5.4.2 Präfrontaler Cortex: Vergleichbarkeit von Ratte und Mensch

Die Erkenntnis, dass viele neurologische Erkrankungen, wie z.B. das Aufmerksamkeits-Defizit-Syndrom (ADHD), Schizophrenie, Morbus Parkinson sowie Morbus Alzheimer, auf Dysfunktionen des PFC beruhen (Brown and Bowman, 2002; Dalley et al., 2004) hat dieses Areal in den Fokus der wissenschaftlichen Aufmerksamkeit gebracht.

Aufgrund der Tatsache, dass Ratten ein bedeutender Modellorganismus für die Untersuchung wichtiger verhaltensneurobiologischer Fragestellungen sind, ist es wichtig zunächst zu klären, inwieweit die Ergebnisse aus der Erforschung des PFC an Ratten auf den Menschen übertragbar sind. Denn es ist nicht unumstritten in welchem Umfang solche Erkenntnisse auch für den Menschen gelten. Ein für die Evolution von Primaten besonders charakteristisches Areal ist der dorsolaterale präfrontale Cortex (DL-PFC), der sich phylogenetisch als letztes Areal des Neocortex entwickelt hat (Fuster, 2000). Das Volumen des DL-PFC von Primaten und Menschen ist um ein vielfaches größer als das von Ratten (Uylings and van Eden, 1990). Außerdem nimmt der DL-PFC bei vielen hochkomplexen kognitiven Aufgaben eine zentrale Position ein (Ongur and Price, 2000; Brown and Bowman, 2002; Uylings et al., 2003). So spielt der DL-PFC sowohl für das Arbeitsgedächtnis, bei der Aufmerksamkeitskontrolle, bei Entscheidungsfindungsprozessen sowie der zeitlichen Organisation des Verhaltens eine wichtige Rolle. Zudem scheinen Fehlfunktionen des PFC bei vielen neuropsychiatrischen und neurologischen Erkrankungen, wie z.B. bei Morbus Parkinson, Morbus Alzheimer und der Schizophrenie eine bedeutende Rolle zu übernehmen (Fuster, 1980; Goldman-Rakic, 1987; Kinberg and Farrah, 1993; Damasio, 1994; Akbarian et al., 1995; Damasio, 1998; Shallice and Burgess, 1998; Weinberger and Berman, 1998; Fuster, 2000; Tsuchiya et al., 2000). Daher wurde früh die Frage gestellt, ob es bei Ratten ein dem DL-PFC homologes Areal gibt, welches solch komplexe Leistungen vermitteln kann (Preuss, 1995).

Die Verschaltung des PFC von Ratten und Primaten weist große Unterschiede auf. Während der MDT bei Primaten Projektionen zum dorsolateralen (DL-PFC), medialen (mPFC) und orbitofrontalen (OFC) PFC sendet, projiziert er bei Ratten nur zum medialen und orbitofrontalen PFC (Brown and Bowman, 2002). Es stellt sich daher die Frage, ob Ratten wegen dieser Verschaltung wichtige kognitive Fähigkeiten des Menschen „fehlen“ oder ob andere Areale innerhalb des mPFC und OFC Aufgaben des DL-PFC von Primaten übernehmen können.

Wenn ein Verhalten bei Primaten abhängig vom DL-PFC ist und Ratten dasselbe Verhalten zeigen, wäre das ein Hinweis darauf das es bei Ratten Areale geben muss, welche analog zum DL-PFC diese Aufgabe vermitteln (Brown and Bowman, 2002). In der Tat konnte anhand von einigen Arbeiten gezeigt werden, dass es Aufgaben gibt, die bei Primaten von der funktionellen Integrität des DL-PFC abhängen, und die ebenfalls von Ratten erlernt werden können. So ist die Funktion des Arbeitsgedächtnisses (Miller, 1999, 2000) und der Verhaltensflexibilität (Dias et al., 1996, 1997) bei Primaten kritisch vom DL-PFC abhängig. Das Ratten ebenso zu solch kognitiven Leistungen in der Lage sind, zeigen Arbeiten zum

Arbeitsgedächtnis (Ragozzino and Kesner, 1998; Kesner, 2000) und zur Verhaltensflexibilität (Seamans et al., 1995; Bussey et al., 1997b; Ragozzino et al., 1999a; Birrell and Brown, 2000; Ragozzino, 2002). Aus solchen Messungen geht hervor, dass diese Funktionen auf der Integrität des mPFC (Seamans et al., 1995; Ragozzino et al., 1999a; Birrell and Brown, 2000) als auch des OFC (Chudasama and Robbins, 2003; Kim and Ragozzino, 2005) beruhen. Insgesamt sprechen diese Erkenntnisse also dafür, dass Ratten zwar kein spezifisches Areal besitzen, welches zum DL-PFC homolog ist, wohl aber Subareale innerhalb des PFC die, analog zum DL-PFC von Primaten, sehr ähnliche Verhaltensweisen vermitteln (Brown and Bowman, 2002; Uylings et al., 2003).

Unter Berücksichtigung dieser Aspekte ist eine Vergleichbarkeit zwischen den Ergebnissen aus der Primatenforschung und den Ergebnissen aus der Rattenforschung durchaus gegeben.

5.4.3 Modell zu den Funktionen des präfrontalen Cortex

Der PFC spielt bei zahlreichen kognitiven Lesitungen eine wichtige Rolle, wie z.B. der Verhaltensflexibilität, bei Entscheidungsprozessen und beim Arbeitsgedächtnis. Ein Modell zur Funktion des PFC postuliert, dass der PFC eine übergeordnete Rolle in einem von oben nach unten gerichteten Kontrollsystem einnimmt (Abb. 10). Dieses extrahiert Informationen aufgrund von Erfahrungen und verwendet diese, um angepasste Verhaltensweisen zu generieren (Miller, 1999; Tomita et al., 1999; Miller, 2000; Uylings et al., 2003).

Seine Funktionsweise stellt man sie wie folgt vor: Wenn ein Verhalten neu gelernt wird, sind daran verschiedene Hirnareale an beteiligt. Informationen über die Sensorik werden in den entsprechenden sensorischen Cortices verarbeitet, Informationen über die zu erwartende Belohnung in limbischen Strukturen. Weitere Informationen z.B. über den kausalen Zusammenhang zwischen der Handlung und dem Handlungsergebnis werden in wieder anderen Arealen, z.B. dem DS und dem MDT, prozessiert. Der PFC erhält durch seine reziproken Verbindungen von all diesen Strukturen Informationen und generiert über spezifische Aktivitätsmuster sogenannte Tendenzsignale. Mittels dieser Tendenzsignale stabilisiert oder hemmt der PFC an der Handlungssteuerung beteiligte neuronale Netzwerke. Auf diese Weise beeinflusst der PFC die dynamische und flexible Auswahl situationsgerechter Verhaltensreaktionen (Miller, 1999, 2000; Dalley et al., 2004).

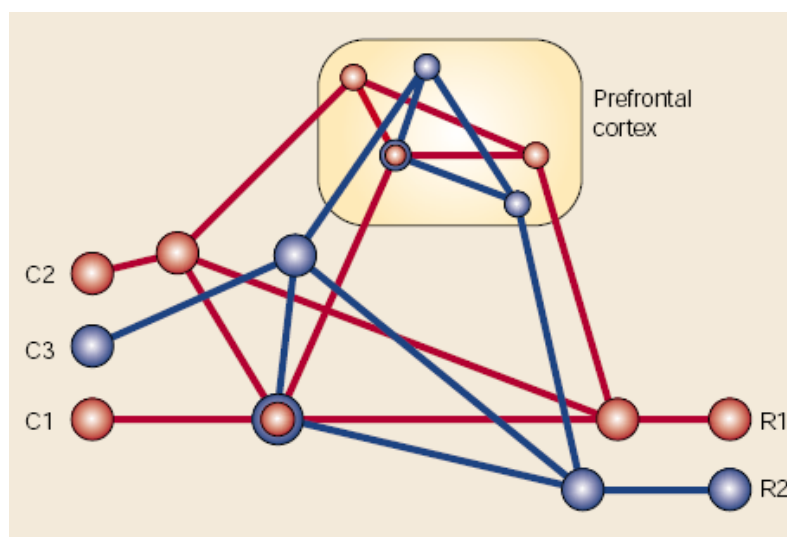


Abb.10 Kontrollmechanismus des PFC. Schematische Darstellung eines hypothetischen Modells der Handlungssteuerung durch den PFC. C1, C2 und C3 stellen sowohl extern (sensorische) als auch intern generierte Signale (Motivation, Erinnerungen) dar. R1 und R2 sind zwei mögliche Verhaltensantworten. Die unbenannten Knotenpunkte außerhalb des PFC verkörpern weitere Areale, die an der Generierung einer Verhaltensantwort beteiligt sind und reziproke Verbindungen zum PFC besitzen. Dabei sind einzelne Areale des PFC auch untereinander verbunden und erzeugen aufgrund eingehender Informationen von vorgeschalteten Strukturen spezifische Aktivitätsmuster, wodurch Tendenzsignale (*englisch: bias signals*) entstehen. Die Rolle des PFC besteht nun darin mittels der Tendenzsignale (als eine Art Dirigent der ausführenden Funktionen) bestimmte neurale Pfade zu fördern und andere zu hemmen, so dass letztlich ein Verhalten generiert wird, welches seiner Umwelt angepasst ist. Wenn z.B. das Telefon klingelt (C1) während man zu Hause ist (C2) nimmt man das Gespräch an (R1). Ist man jedoch in einem anderen Hause (C3) greift man nicht zum Hörer (R2). Durch Erfahrung und Lernen kann so ein Verhalten dynamisch und flexibel den jeweiligen Anforderungen angepasst werden (modifiziert nach Miller, 2000).

5.4.4 Die Rolle von Subregionen des präfrontalen Cortex

Die einzelnen Subareale des PFC weisen neben einer anatomischen auch eine funktionelle Heterogenität auf (Cardinal et al., 2002a; Passetti et al., 2002; Chudasama and Robbins, 2003). Daher werden im Folgenden die Funktionen von drei wichtigen Subarealen des PFC vorgestellt und aufgezeigt, inwiefern diese Areale an der Auswahl situationsgerechter Verhaltensreaktionen beteiligt sind.

Der mediale präfrontale Cortex:

Der mediale präfrontale Cortex (mPFC), der sich bei der Ratte aus dem PL und dem IL zusammensetzt, ist für die Funktion des Arbeitsgedächtnisses als auch für Strategiewechsel

und Verhaltensflexibilität verantwortlich. Unter dem Begriff Arbeitsgedächtnis versteht man eine besondere Form des Gedächtnisses, bei der durch eine anhaltende Aktivität bestimmter Neuronengruppen, Informationen über das momentane Verhalten bzw. über momentane präsente Informationseinheiten, wie z.B. visuelle Stimuli, kurzzeitig gespeichert werden (Kandel et al., 2000). Hierbei nimmt der mPFC eine bedeutende Rolle ein. Ratten mit einem läsierten mPFC weisen massive Defizite bei sog. verzögerten Wahlreaktionsaufgaben sowie bei visuellen und räumlichen Diskriminationsaufgaben auf (Ragozzino and Kesner, 1998; Delatour and Gisquet-Verrier, 1999; Kesner, 2000; Floresco and Phillips, 2001). Bei diesen Aufgaben müssen die Tiere sich entweder über einen bestimmten Zeitraum hinweg eine bestimmte Information merken, z.B. welchen von den 12-Armen eines Labyrinths sie zuvor schon einmal auf der Suche nach einer Belohnung besucht haben.

Die Aufgaben verwenden häufig verschiedene Stimuli, die anzeigen welche Reaktion zu einer Belohnung führt. Im Verlauf der Aufgabe ändert sich dann die Zuordnung von Stimulus und Reaktion. Gemessen wird dabei die Zeit, die ein Tier benötigt, die korrekte, zielführende Reaktion auszuführen. Ein solcher Zuordnungswechsel kann dabei zum einen innerhalb einer Sinnesmodalität erfolgen, bei dem das Tier z.B. lernen muss, auf ein andersfarbiges Licht zu reagieren, um eine Belohnung zu erhalten. Zum anderen kann der Wechsel aber auch über zwei Sinnesmodalitäten hinweg erfolgen, bei dem das Tier z.B. lernen muss einen vormals belohnungsankündigenden visuellen Stimulus zu ignorieren und auf einen vormals nicht belohnungsankündigenden auditorischen Stimulus zu reagieren.

Die Ergebnisse einiger Arbeiten deuten daraufhin, dass Tiere mit einem läsierten mPFC beeinträchtigt sind, wenn ein Wechsel über zwei Sinnesmodalitäten hinweg gefordert ist, nicht jedoch bei Aufgaben bei denen der Wechsel innerhalb nur einer Sinnesmodalität liegt (Ragozzino et al., 1999a; Ragozzino et al., 1999b; Birrell and Brown, 2000; Delatour and Gisquet-Verrier, 2000; Kesner, 2000; Ragozzino et al., 2003; Floresco et al., 2006; Block et al., 2007; Ragozzino, 2007; Rich and Shapiro, 2007). Ein sehr gutes Beispiel, die Wirkung einer PFC-Läsion darzustellen, ist das Experiment von Birrell and Brown (2000). Dabei mussten Ratten entweder aufgrund der Oberflächentextur der mit Sand gefüllten Schalen, dem Geruch des Sandes oder der Beschaffenheit des Sandes entscheiden, in welcher der Schalen eine Belohnung vergraben liegt. Zunächst wurden die Ratten auf eine Modalität trainiert (z.B. die Oberflächentextur der Schalen; rau = richtig, glatt = falsch). Eine Läsion des mPFC hatte hierbei keinerlei Auswirkung auf den Lernerfolg. In einen zweiten Schritt wurde das Umlernen untersucht, d.h. die vorher unbelohnte Schale (z.B. glatt) enthielt nun die Belohnung und umgekehrt. Auch hier zeigten die läsierten Tiere keinerlei Defizite. In einem letzten Schritt wurde dann ein Wechsel über zwei Modalitäten hinweg vollzogen, d.h.

die Ratten mussten lernen, dass nun nicht mehr die Textur der Schale, sondern der Geruch des Sandes (Erdbeer = richtig, Vanille = falsch) bzw. die Körnung des Sandes (fein = richtig, grob = falsch) prädiktiv für den Ort der Belohnung war. Während die Kontrolltiere auch diesen Wechsel lernen konnten, waren die Tiere mit einer mPFC Läsion dazu nicht mehr in der Lage. Sie wählten weiterhin die Schale aus, die zuvor die Belohnung enthielt. Somit scheint der mPFC wichtig zu sein, wenn ein Verhalten durch komplexe Handlungsregeln gesteuert wird (Ragozzino et al., 1999a; Kesner, 2000; Dalley et al., 2004).

Der orbitofrontale Cortex:

Ein weiteres Subareal des PFC, der orbitofrontale Cortex (OFC), steuert spezifisch die Verhaltensflexibilität, wenn eher einfache Verhaltensanpassungen erforderlich sind, die z.B. durch Stimulusänderungen innerhalb einer Sinnesmodalität (z.B. rot → blau) angezeigt werden, d.h. bei einer Regeländerung einer weniger komplexen Aufgabe (Schoenbaum et al., 2000; Bohn et al., 2003a; Chudasama and Robbins, 2003; Kim and Ragozzino, 2005; Ragozzino, 2007; Calaminus and Hauber, 2008; Ghods-Sharifi et al., 2008). Ein typisches Beispiel dafür ist das Experiment von Chudasama und Robbins (2003). Danach waren Ratten mit einer Läsion des OFC in der Lage eine visuelle Diskriminationsaufgabe zu lernen. Bei einer solchen Aufgabe werden einer Ratte zwei verschiedene visuelle Stimuli präsentiert, wobei nur ein Stimulus mit einer Belohnung verknüpft ist. Wurde nun die Stimulus-Belohnungs-Beziehung umgedreht, zeigte sich bei den OFC läsierten Tieren ein deutliches Defizit. Sie waren nicht imstande diese neue Stimulus-Belohnungs-Beziehung zu lernen, sondern reagierten weiterhin auf den zuvor gelernten Stimulus, der nun jedoch keine Belohnung mehr voraussagte.

Neben der Vermittlung solch einfacherer Diskriminationsaufgaben hat der OFC darüber hinaus weitere bedeutende Funktionen. So konnte nachgewiesen werden, dass Neurone innerhalb dieser Struktur den Wert der zu erwartenden Belohnung kodieren. In einer Reihe von Versuchen wurden Ratten Gerüche dargeboten, die entweder mit einer Belohnung (Zuckerwasser) oder mit einer aversiv schmeckenden Lösung (Chinin) assoziiert waren. Dabei wurde die elektrische Aktivität der Neurone im OFC gemessen, wobei auffiel, dass eine bestimmte Neuronengruppe immer dann eine besonders hohe Aktivität aufwies, wenn der mit dem Zuckerwasser verbundene Geruch präsentiert wurde. Analog dazu war eine weitere Neuronengruppe aktiv, wenn der mit Chinin assoziierte Geruch dargeboten wurde (Schoenbaum et al., 1998, 1999; Schoenbaum and Setlow, 2001). Somit kodiert der OFC den Wert, sowie Änderungen des Wertes einer Belohnung und leitet diese Informationen zu

anderen Strukturen weiter. Dadurch nimmt der OFC eine wichtige Position ein, um flexible Verhaltensweisen mit zu steuern (Schoenbaum and Roesch, 2005).

Der anteriore cinguläre Cortex:

Das dritte Subareal des PFC, welches intensiv untersucht wurde, ist der ACC. Der ACC wird mit der Steuerung von appetitiven sowie aversiven S-R Lernvorgängen in Verbindung gebracht (Cardinal et al., 2002a; Cardinal et al., 2002b; Cardinal et al., 2003). Die Ergebnisse über die Beteiligung an aversiven Lernvorgängen beruhen vor allem auf Untersuchungen an Kaninchen (Gabriel et al., 1991). Hierbei konnten die Tiere nach einer Läsion des ACC eine „aktive Vermeidungsaufgabe“ nicht mehr lernen. Bei dieser Aufgabe können die Tiere nach Präsentation eines CS+ mit einer spezifischen Handlung reagieren, um einen geringen Elektroschock zu vermeiden. Ein im Wechsel mit dem CS+ eingespielter CS₀ hat keinerlei Konsequenzen, weswegen hierauf keine Reaktion der Tiere erfolgt. Die Tiere mit einer Läsion des ACC waren dabei nicht in der Lage eine assoziative Verbindung zu dem diskreten CS+ herzustellen.

Die heutigen Erkenntnisse über die Rolle des ACC bei appetitiven S-R Lernvorgängen beruhen vornehmlich auf Studien, die an Ratten durchgeführt wurden. Hierbei hat sich gezeigt, dass der ACC zwar die Akquisition von S-R Assoziationen vermittelt, dies jedoch nicht immer der Fall ist (Cardinal et al., 2002a). So konnten Bussey et al. (1997b) zeigen, dass der ACC nur dann eine entscheidende Funktion ausübt, wenn die Aufgabe eine Unterscheidung von vielen ähnlichen Stimuli verlangt. Jedoch reicht auch schon eine besondere Form der klassischen Konditionierung aus, bei der lediglich zwei Stimuli auseinander zu halten sind, um den ACC zu rekrutieren. Bei dieser Form der klassischen Konditionierung, muss das Tier lernen auf einen dargebotenen CS+ mit einer Annäherung zu reagieren und einen anderen eingespielten CS₀ zu ignorieren. Versuche haben gezeigt, dass Tiere mit einer Läsion des ACC nicht in der Lage sind, diese Aufgabe zu lernen, vermutlich weil sie nicht zwischen den beiden Stimuli unterscheiden können (Bussey et al., 1997a; Parkinson et al., 2000b; Cardinal et al., 2002b). Demgegenüber scheint der ACC bei Aufgaben, bei der nur die Bedeutung eines einzelnen CS+ zu lernen ist keine Rolle zu spielen. Denn Tiere mit einer Läsion des ACC waren weiterhin in der Lage eine solche S-R Assoziation zu lernen. Aufgrund dieser unterschiedlichen Ergebnisse wurde dem ACC eine wichtige Funktion zugeschrieben, wenn es darum geht eine Unterscheidung verschiedener Stimuli (CS+) eindeutiger zu machen, so dass das Tier auf den jeweils relevanten Stimulus reagieren kann und keine Stimulus-Generalisierung stattfindet (Parkinson et al., 2000a; Cardinal et al., 2002a; Cardinal et al., 2003). Weitere Ergebnisse weisen darüber hinaus

darauf hin, dass der ACC auch bei der Entscheidung, ob die Durchführung einer Handlung lohnenswert ist, eine wichtige Rolle zu spielen scheint (Rushworth et al., 2004). So konnte in einer Arbeit nachgewiesen werden, dass der ACC bei einer „Aufwand-basierten Entscheidungsaufgabe“ eine zentrale Position einnimmt (Walton et al., 2003). Bei dieser Aufgabe haben Ratten, die in ein T-Labyrinth gesetzt werden, die Wahl eine hohe Barriere zu erklimmen, um eine große Belohnung zu erhalten, oder ohne eine Barriere überwinden zu müssen eine kleinere Belohnung zu erhalten. Während Kontrolltiere vornehmlich die hohe Barriere überqueren, also bereit sind für eine große Belohnung mehr Arbeit zu verrichten, war das Wahlverhalten von Tieren mit einer Läsion des ACC beeinträchtigt. Diese Tiere bevorzugten den barrierefreien Arm, d.h. sie waren nicht bereit mehr Aufwand für eine größere Belohnung zu leisten. Das Ergebnis dieser Untersuchung konnte bisher vielfach wiederholt und erweitert werden (Schweimer et al., 2005; Rudebeck et al., 2006; Schweimer and Hauber, 2006; Hauber and Sommer, 2009), was die bedeutende Funktion des ACC bei „Aufwand-basierten Entscheidungsaufgaben“ verdeutlicht.

Zusammenfassend wird durch die Arbeiten am mPFC, am OFC und am ACC in beeindruckender Weise deutlich, dass die Subregionen des PFC in unterschiedlicher Weise an der Steuerung komplexer kognitiver Prozesse beteiligt sind und somit zur Auswahl situationsgerechter Verhaltensreaktionen beitragen

5.5 Entorhinaler Cortex

5.5.1 Anatomie des entorhinalen Cortex

Der entorhinale Cortex (EC) zählt zum hippocampalen System. Zusammen mit dem parahippocampalen und perirhinalen Cortex bildet er die parahippocampale Region. Der Hippocampus, bestehend aus Gyrus dentatus, CA3, CA2, CA1-Region und Subiculum, sowie dem Presubiculum und dem Parasubiculum bilden die weiteren Areale des hippocampalen Systems (Kerr et al., 2007; Eichenbaum and Lipton, 2008). Alle Gebiete zusammen liegen im medialen Temporallappen und bilden eine Einheit, welche im Verlauf der Säugetierentwicklung weitestgehend konserviert ist (Manns and Eichenbaum, 2006). Innerhalb dieses Systems nimmt der EC eine wichtige Stellung ein, da er als eine Art Nadelöhr fungiert, durch das alle Informationen, die den Hippocampus erreichen, hindurch geleitet werden. Die Verbindungen des EC zum Hippocampus sind reziprok, d.h. alle ein- und ausgehenden Informationen gelangen über den EC zum Hippocampus und zurück.

Informationen, die die parahippocampale Region erreichen und von dort über den EC zum Hippocampus weitergeleitet werden, stammen ausnahmslos aus den Assoziationscortices. Die Efferenzen der parahippocampalen Region projizieren wieder auf dieselben Assoziationscortices zurück (Eichenbaum and Lipton, 2008). So entsteht ein dreigliedriges Informationsweiterleitungssystem, bei dem der EC als wichtige Schnittstelle zwischen Cortex und Hippocampus fungiert (Abb. 11).

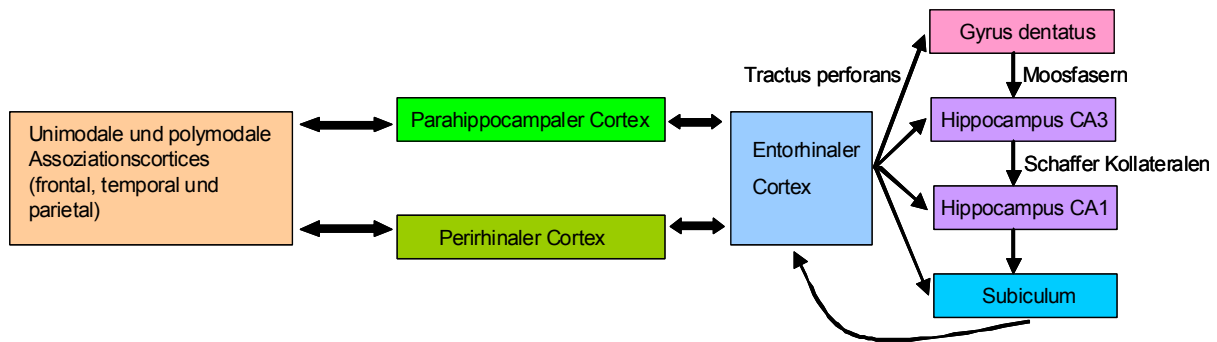


Abb.11 Verbindungen des EC. Schematische Darstellung des dreigliedrigen Informationsweiterleitungssystems bestehend aus den Assoziationscortices, der parahippocampalen Region (parahippocampaler-, perirhinaler- und entorhinaler Cortex) und dem Hippocampus (Gyrus dentatus, CA3, CA1 und Subiculum). Informationen aus allen Assoziationscortices werden über den EC zum Hippocampus geleitet. Ebenso werden alle ausgehenden Signale nicht direkt vom Hippocampus zum Cortex geleitet, sondern erneut durch den EC geführt. Somit nimmt der EC innerhalb dieses Systems die Rolle eines Bindeglieds zwischen Cortex und Hippocampus ein (modifiziert nach Kandel et al., 2000).

Ramón y Cajal (1901) war der erste, der die Verbindung des EC zum Gyrus dentatus des Hippocampus nachgewiesen hat. Lorente de Nó (1934) bestätigte diese Ergebnisse, lieferte mithilfe der Golgi-Methode eine genaue Beschreibung der einzelnen Schichten des EC und wies zudem den Verlauf der Projektionen dieser einzelnen Schichten zum Hippocampus nach (Abb12 a+b).

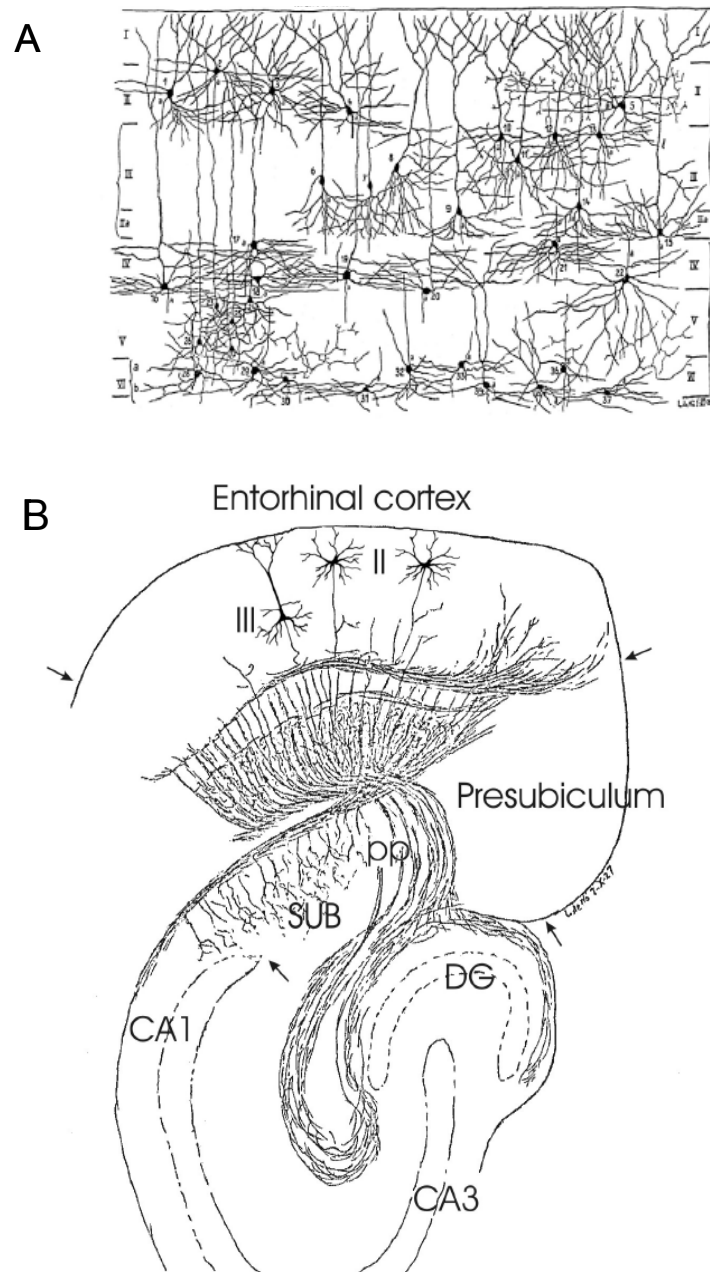


Abb.12 A) Schichten des EC. Schematische Darstellung der sechs Schichten des EC mithilfe der Golgi-Färbung. **B) Projektionen des EC.** Schematische Darstellung eines horizontalen Schnitts durch den EC und den Hippocampus. Der Tractus perforans (pp) hat seinen Ursprung in der zweiten und dritten Schicht des EC und projiziert zum Gyrus dentatus (DG), wobei er durch das Subiculum (SUB) hindurch verläuft. Von dort verläuft die Signalweiterleitung über die CA3-Region zur CA1-Region und von dort zum Subiculum. Die Pfeile geben die Grenzen der jeweiligen Areale an (modifiziert nach Lorente de Nó, 1934).

Der EC ist zwar Teil des Allocortex, jedoch ist er nicht wie der Hippocampus dreischichtig, sondern besteht aus sechs Schichten. Dabei bilden die Schichten II und III den Ursprung des Tractus Perforans, welcher den Hauptinnervationspfad zum Hippocampus darstellt (Steward, 1976; Steward and Scoville, 1976; Witter et al., 2000). Dabei zieht die Schicht II zum Gyrus dentatus und in die CA3 Region, während die Schicht III vornehmlich zur CA1 Region und zum Subiculum projiziert. Die tiefergelegenen Schichten V und VI des EC bilden dahingegen die Ausgangsstrukturen und projizieren zurück zu den Assoziationscortices (Dolorfo and Amaral, 1998b, a; van Haeften et al., 2000). Neben der Einteilung in verschiedene Schichten kann der EC darüber hinaus sowohl im Hinblick auf seine Verschaltung und Funktion in zwei Bereiche unterteilt werden; den medialen EC (MEC) und den lateralen EC (LEC) (Eichenbaum and Lipton, 2008).

Beide Bereiche erhalten ihre Informationen aus jeweils unterschiedlichen Regionen der parahippocampalen Region. Zudem unterscheidet sich die Art der Information voneinander, die über die einzelnen Pfade geleitet wird. Dabei erhält der perirhinale Cortex Projektionen aus Cortexarealen, die für die nicht-räumliche Identifizierung eines Stimulus verantwortlich sind, während der parahippocampale Cortex Afferenzen aus Cortexarealen erhält, die Informationen über räumliche Aspekte des Stimulus beinhalten (Burwell and Amaral, 1998; Eichenbaum and Lipton, 2008). Diese Trennung von räumlicher und nicht-räumlicher Information setzt sich bis zum EC fort, d.h. der LEC wird vom perirhinalen und der MEC vom parahippocampalen Cortex innerviert. Dementsprechend werden im LEC nicht-räumliche und im MEC räumliche Informationen über die Identität eines Stimulus verarbeitet (Witter et al., 2000). Die beiden Bereiche des EC wiederum innervieren die unterschiedlichen hippocampalen Areale an verschiedenen Stellen. Während der LEC und der MEC sowohl den Gyrus dentatus als auch die CA3-Region an derselben Stelle innervieren, sind die Projektionen der beiden Areale des EC zur CA1-Region und dem Subiculum unterschiedlich. Der LEC sendet seine Efferenzen zu Regionen, die nahe an der Grenze der CA1-Region und des Subiculus liegen. Dahingegen projiziert der MEC in Bereiche, die fern der Grenze der CA1-Region und des Subiculus liegen (Witter et al., 2000). Durch diese Innervationsmuster wird die Segregation des nicht-räumlichen und des räumlichen Pfades bis zum Hippocampus beibehalten (Eichenbaum and Lipton, 2008) (Abb. 13). Neben den Efferenzen, die vom EC aus zurück zu den Assoziationscortices ziehen, entsendet der EC auch eine Vielzahl an Projektionen an subkortikale Strukturen. Hierbei zählen der endopiriforme Nukleus des olfaktorischen Systems, die Amygdala, der Thalamus, sowie das dorsale und ventrale Striatum zu den Hauptinnervationsgebieten der subcorticalen Projektionen (Totterdell and Meredith, 1997; Kerr et al., 2007; Canto et al., 2008).

Im nächsten Abschnitt werden auf der Grundlage der komplexen Verschaltung des EC seine vielfältigen Leistungen bei der Steuerung kognitiver Funktionen aufgezeigt.

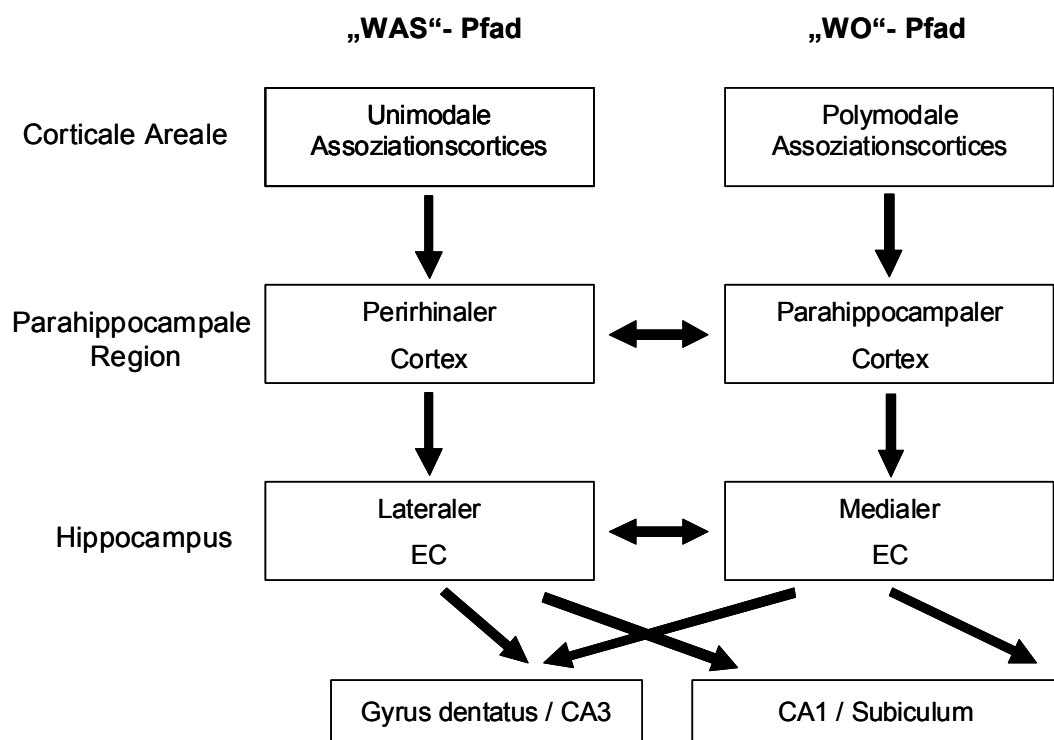


Abb.13 Funktionelle Unterteilung des Hippocampus. Schematische Darstellung des nicht-räumlichen („WAS“) und des räumlichen Pfades („WO“). Der perirhinale Cortex empfängt hauptsächlich Informationen aus unimodalen Cortexarealen, die mit der Identifikation des Stimulus, z.B. einem Gesicht, beschäftigt sind und leitet diese an den lateralen EC weiter. Gleichzeitig empfängt der parahippocampale Cortex Informationen aus polymodalen Cortexarealen, die die Informationen über den Kontext eines Stimulus verarbeiten, z.B. wo das Gesicht schon einmal gesehen wurde. Diese werden dann an den medialen EC weitergeleitet. Die Projektionen des lateralen und medialen EC zum Hippocampus unterscheiden sich ebenfalls. Während die Afferenzen des LEC und des MEC den Gyrus dentatus und die CA3-Region in denselben Bereichen innervieren, ist dies bei der CA1-Region und dem Subiculum nicht der Fall. Während der LEC zur Grenzregion von CA1 und Subiculum projiziert, sendet der mediale EC Efferenzen zu Arealen, die weit entfernt von dieser Grenzregion liegen. D.h. in unterschiedlichen Bereichen des Hippocampus werden unterschiedliche Aspekte eines Ereignisses verarbeitet (modifiziert nach Eichenbaum and Lipton, 2008).

5.5.2 Funktionen des entorhinalen Cortex

Da der EC die Haupteingangs- und Ausgangsstruktur zum Hippocampus darstellt, ist es nicht verwunderlich, dass Läsionen des EC ähnliche Defizite nach ziehen, wie Läsionen des Hippocampus (O'Keefe and Nadel, 1978; Schenk and Morris, 1985; Cho et al., 1993; Eichenbaum et al., 1994; Holscher and Schmidt, 1994; Johnson and Kesner, 1994; Myers et

al., 1995; Nagahara et al., 1995; Galani et al., 1997). So zeigen Tiere mit einer Läsion des EC sowohl Defizite bei räumlichen Orientierungsaufgaben im Wasserlabyrinth (Schenk and Morris, 1985; Nagahara et al., 1995; Galani et al., 1997) wie auch in Aufgaben in einem 8-Arm-Labyrinth (Olton et al., 1978; Jarrard et al., 1984; Cho et al., 1993; Holscher and Schmidt, 1994; Johnson and Kesner, 1994) und in einem T-Labyrinth (Loesche and Steward, 1977; Ramirez and Stein, 1984; Ramirez et al., 1988; Bannerman et al., 2001). Hierbei ist jedoch anzumerken, dass bei all diesen Studien der gesamte EC läsiert wurde und die anatomische Unterteilung des EC in einen lateralen (LEC) und einen medialen (MEC) Bereich keine Beachtung fand.

Versuche, die die anatomische Unterteilung berücksichtigten, konnten jedoch nachweisen, dass diese Unterteilung auch funktionell relevant ist. So erhält der LEC Projektionen aus Arealen, die vornehmlich an der Objekterkennung beteiligt sind, wie z.B. dem ventralen visuellen Pfad bei Affen bzw. dem polymodalen temporalen Assoziationsareal bei Ratten. Der MEC hingegen erhält Afferenzen aus Arealen, die vornehmlich die räumliche Orientierung steuern, wie z.B. dem dorsalen visuellen Pfad bei Affen bzw. dem posterioren parietalen Cortex bei Ratten (Burwell and Amaral, 1998; Eichenbaum and Lipton, 2008). Zahlreiche weitere Studien konnten dies bestätigen. So konnten Young et al. (1997) nachweisen, dass ca. 35% der Neurone im LEC von Ratten spezifisch auf olfaktorische Stimuli reagierten. Bei Affen zeigten ca. 50% der Neurone eine selektive Aktivität auf spezifische Stimuli (Suzuki et al., 1997). Somit scheinen die Neurone des LEC besonders auf die spezifische sensorische Identität eines Stimulus zu reagieren, eine Vermutung die durch Suzuki und Eichenbaum (2000) weiter bekräftigt werden konnte. Ähnliches konnte bei einer bildgebenden Studie am Menschen nachgewiesen werden, bei der die Neurone des LEC beim Anblick bekannter Objekte mit einer besonders erhöhten Aktivität reagierten (Stern et al., 1996). Eine große Übersichtsarbeit kommt zu dem Ergebnis, dass 13 von 16 wichtigen Studien eine erhöhte neuronale Aktivität im LEC messen konnten, wenn die Aufgabe es verlangte sich an die Identität eines bestimmten Stimulus zu erinnern, unabhängig vom Kontext, in dem der Stimulus wahrgenommen wurde (Eichenbaum et al., 2007).

Dahingegen scheint der MEC, wie es seine anatomischen Verbindungen vermuten lassen, eine prominente Rolle bei der räumlichen Orientierung zu spielen. So konnten Wan et al. (1999) immer dann eine erhöhte c-fos Expression im MEC bei Ratten nachweisen, wenn die absolvierte Aufgabe eine räumliche Komponente hatte, nicht aber wenn die Identität eines Objektes bewertet werden musste. Weitere Arbeiten an Ratten und Affen ergaben, dass die Wiedererkennung eines Objekts vom LEC abhängt, wohingegen die Erinnerung an den Aufenthaltsort eines Objektes durch den MEC vermittelt wird (Malkova and Mishkin, 2003;

Gaffan et al., 2004; Alvarado and Bachevalier, 2005; Norman and Eacott, 2005). Diese Ergebnisse konnten durch bildgebende Arbeiten weiter bestätigt werden, in denen eine Änderung der Identität eines Objekts Neurone des LEC aktiviert, während eine Änderung der Position eines Objektes den MEC aktiviert (Pihlajamaki et al., 2004; Buffalo et al., 2006). Des Weiteren wurden im MEC von Ratten Zellen entdeckt, die ortsspezifisch aktiv sind (Fyhn et al., 2004; Hargreaves et al., 2005). Diese Zellen werden Platz-Zellen genannt und kommen innerhalb des EC nur im MEC vor. Ortsspezifisch aktiv bedeutet in diesem Zusammenhang, dass die Platz-Zellen im MEC den explorierten Raum abbilden, in dem sich eine Ratte bewegt. Kleine, stark voneinander abgegrenzte Neuronenverbände feuern selektiv, wenn sich das Tier an einem bestimmten Ort befindet. Wechselt das Tier den Ort, wird eine andere Neuronengruppe aktiv. Dadurch ist eine Art Umgebungskarte im MEC der Ratte abgelegt, die es dem Tier ermöglicht, einen zuvor besuchten Ort wiederzuerkennen und sich im Raum zu orientieren.

Zusammengenommen lässt sich sagen, dass im EC eine strukturelle und funktionelle Heterogenität besteht. Während der LEC die spezifischen sensorischen Eigenschaften eines Stimulus kodiert und damit die Identität („WAS“), bilden die Neurone des MEC eine Art kognitive Karte der Umgebung und vermitteln somit die räumliche Orientierung („WO“). Somit spielen die vom EC repräsentierten Informationen bei der Steuerung zahlreicher kognitiver Leistungen eine wichtige Rolle, insbesondere dann, wenn Handlungen durch Stimuli gesteuert werden.

5.6 Cortico-striatale Schaltkreise

Wie in den vorigen Abschnitten geschildert wurde, sind die Basalganglien, der PFC und der EC Schlüsselstrukturen bei der Steuerung zahlreicher kognitiver Leistungen. Darüberhinaus nehmen sie auch wichtige Positionen bei der Steuerung des zielgerichteten und des Gewohnheitsverhaltens ein. Im Folgenden werden nun der Aufbau der beiden Schaltkreise, sowie ihre verhaltenssteuernden Funktionen eingehend erläutert.

5.6.1 Aufbau und Funktionen des assoziativen cortico-striatalen Schaltkreises

Wird ein Verhalten neu gelernt, werden relevante Informationen zunächst im assoziativen Schaltkreis, welcher das zielgerichtete Verhalten steuert, gespeichert. Von dort werden sie bei

Bedarf wieder abgerufen und über das assoziative Pallidum zu den ausführenden Regionen geleitet (Abb. 14). Bei diesem Schaltkreis spielt das DMS eine zentrale Rolle, da in mehreren Versuchen gezeigt wurde, dass das DMS sowohl für das Lernen als auch für das Abrufen zielgerichteten Verhaltens bedeutsam ist. Sowohl Zellkörperläsionen des DMS vor Beginn des Trainings (Lernen), als auch nach dem Training (Abrufen) führten dazu, dass diese Tiere insensitiv gegenüber einer Ergebnisdevaluation und einer Kontingenzdegradation waren (Yin et al., 2005a; Yin et al., 2005b).

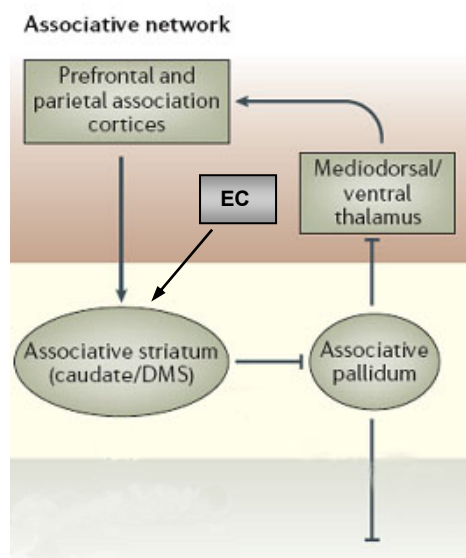


Abb. 14 Assoziativer cortico-striataler Schaltkreis. Im Mittelpunkt des assoziativen Schaltkreises steht das DMS, das beim Lernen und Abrufen zielgerichteter Informationen eine zentrale Rolle spielt. Zudem erhält das DMS Afferenzen aus dem PL, welcher das initiale Lernen einer neuen R-O-Assoziation steuert, nicht jedoch für das Abrufen der Assoziation verantwortlich ist. Des Weiteren projiziert der EC zum DMS, wodurch kontextuelle Informationen in die Handlungssteuerung integriert werden. Über den MDT gelangen die Informationen vom DMS zurück zum Cortex, wodurch der assoziative cortico-striatale Schaltkreis geschlossen wird (modifiziert nach Yin and Knowlton, 2006).

Das DMS wird hauptsächlich von Arealen des PFC innerviert, die beim Lernen von R-O Assoziationen eine wichtige Rolle spielen. So haben mehrere Experimente nachgewiesen, dass der PL für das Lernen von R-O Assoziationen essentiell ist (Corbit and Balleine, 2003), nicht aber für das Abrufen dieser Informationen. Tiere mit einer Zellkörperläsion des PL waren nur dann insensitiv gegenüber einer Ergebnisdevaluation und einer Kontingenzdegradation, wenn die Läsion vor dem Beginn des Trainings durchgeführt wurde, nicht jedoch, wenn sie erst nach dem Training erfolgte (Ostlund and Balleine, 2005). Daraus geht hervor, dass das DMS die gelernten Assoziationen speichert und wieder abrufen, während der PL nur für die initiale Akquisition der R-O Assoziation nötig ist.

Corbit und Balleine (2003) entdeckten, dass der mediodorsale Thalamus (MDT) ebenfalls an der Verarbeitung von R-O Assoziationen beteiligt ist, da auch Tiere mit einer Zellkörperläsion des MDT Defizite in beiden Verhaltenstests zeigten. Dies lässt darauf schließen, dass die vom PL kommenden und im pDMS weiterverarbeiteten Informationen über den MDT wieder zurück zum Cortex geleitet werden. Somit scheinen an der Steuerung zielgerichteten Verhaltens hauptsächlich jene Areale beteiligt zu sein, die laut Alexander et al. (1986) zum „dorsolateralen präfrontalen Schaltkreis“ der Basalganglien gehören.

Darüber hinaus ergab eine zusätzliche Studie, dass der EC ein wichtiger Bestandteil des assoziativen cortico-striatalen Schaltkreises ist, da Zellkörperläsionen des EC zu Störungen des Kontingenzlernens führten (Corbit et al., 2002). Dieses Defizit ist vermutlich auf Beeinträchtigungen bei der Verarbeitung kontextueller Informationen zurückzuführen (Corbit et al., 2002). Des Weiteren konnte gezeigt werden, dass auch limbische Strukturen Teil des assoziativen cortico-striatalen Schaltkreises sind. So führten Zellkörperläsionen der basolateralen Amygdala (Balleine et al., 2003) und des NAc core (Corbit et al., 2002) zu Defiziten in der Verarbeitung des Wertes einer Belohnung.

Mit anderen Worten: Der assoziative cortico-striatale Schaltkreis ist kein in sich abgeschlossenes System, sondern erhält Signale von weiteren Hirnarealen, wie dem EC, der BLA und dem NAc core, die räumliche, emotionale oder motivationale Informationen verarbeiten.

Besonderes Augenmerk verdient die Tatsache, dass die Ergebnisse aus den Tierstudien auch auf den Menschen übertragbar sind. In neueren Studien konnte nachgewiesen werden, dass sowohl die Fähigkeiten des Kontingenzlernens als auch die Kodierung des Wertes einer Belohnung durch homologe Areale des menschlichen Gehirns vermittelt werden. So wies Tricomi et al. (2004) mittels einer funktionellen Magnetresonanztomographie (fMRT) nach, dass bei einer bestimmter Handlung der Nucleus caudatus, das homologe Areal zum DMS bei Ratten, immer dann eine besonders starke Aktivität aufwies, wenn die Kontingenz zwischen Handlung und Ergebnis hoch war. Bei einer weiteren Aufgabe, mussten Probanden einen Knopf drücken, um eine Geldbelohnung zu erhalten (Tanaka et al., 2008). Im Laufe des Versuches wurde die objektive Kontingenz zwischen Knopfdruck und Geldbelohnung mehrfach geändert, wobei die Probanden die subjektive Kontingenz, d.h. ihre persönliche Einschätzung über den kausalen Zusammenhang ihrer Handlung und dem Ergebnis, benennen mussten. Dabei konnte zum einen gezeigt werden, dass die persönlichen Einschätzungen über die subjektive Kontingenz sehr genau der tatsächlichen, objektiven Kontingenz entsprach. Zum anderen konnte gezeigt werden, dass sowohl die Aktivität des mPFC als auch des Nucleus caudatus signifikant mit der objektiven Kontingenz korrelierte; d.h. hohe Kontingenz

gleich hohe Aktivität und niedrige Kontingenzen gleich niedrige Aktivität in den beiden Hirnarealen. Somit konnte in diesen Experimenten nachgewiesen werden, dass analog zu den Erkenntnissen der Tierversuche, homologe Areale des Menschen an der Vermittlung der Kontingenzen zwischen einer Handlung und dem Handlungsergebnis beteiligt sind.

Der Nachweis der Kodierung des Wertes einer Belohnung und der daran beteiligten Strukturen im menschlichen Gehirn gelang Valentin et al. (2007). Menschliche Probanden mussten zwei instrumentelle Handlungen erlernen, wobei jede mit einer anderen Belohnung assoziiert war. Nach dem Lernen dieser Assoziationen wurde ein Devaluationstest durchgeführt, so wie er auch im Tierexperiment Anwendung findet. Mittels einer fMRT-Untersuchung konnte gezeigt werden, dass der orbitofrontale Cortex (OFC) immer dann eine besonders hohe Aktivität aufzeigte, wenn sich die Probanden zwischen der devaluierten und der nicht-devaluierten Handlung entscheiden mussten. Dies deckt sich mit den Erkenntnissen aus Tierstudien die aufzeigen konnten, dass der OFC den Wert einer zu erwartenden Belohnung kodiert (Schoenbaum et al., 1998; Gallagher et al., 1999; Schoenbaum et al., 1999; Schoenbaum and Setlow, 2001; Pickens et al., 2003).

Zusammengenommen konnte somit in zahlreichen tier- und humanexperimentellen Arbeiten nachgewiesen werden, dass die Detektion eines kausalen Zusammenhanges zwischen einer Handlung und einem Ergebnis, sowie die Erkennung des Wertes einer Belohnung sowohl beim Menschen als auch bei der Ratte in homologen Arealen stattfindet, und dass diese Areale einem Schaltkreis angehören welcher im besonderen Maße an der Verarbeitung zielgerichteten Verhaltens beteiligt ist.

5.6.2 Aufbau und Funktionen des sensomotorischen cortico-striatalen Schaltkreises

Wenn ein zielgerichtetes Verhalten immer wieder in gleicher Weise wiederholt wird, und sich dabei der Kontext in dem das Verhalten gezeigt wird nicht ändert, wird die Verhaltenssteuerung vom sensomotorischen cortico-striatalen Schaltkreis übernommen. Von dort werden die relevanten Informationen wieder abgerufen und über das motorische Pallidum zu den ausführenden Regionen geleitet (Abb. 15).

Im Zentrum dieses Netzwerkes steht das DLS. Aus Experimenten geht hervor, dass Ratten mit einem läsierten DLS nicht in der Lage waren eine Gewohnheit auszubilden und weiterhin sensitiv gegenüber einer Ergebnisdevaluation blieben, obwohl ein Trainingsschema gewählt wurde, welches bei Kontrolltieren ein Gewohnheitsverhalten erzeugt und damit

einhergehend zu einer Insensitivität gegenüber einer Ergebnisdevaluation führt (Yin et al., 2004, 2006a).

Das DLS wird darüber hinaus von sensomotorischen Cortexarealen innerviert. So konnte experimentell nachgewiesen werden, dass der infralimbische Cortex (IL) für das Lernen einer Gewohnheit essentiell ist. Unter Verwendung eines Trainingschemas, bei dem Kontrolltiere eine Gewohnheit entwickeln, und somit insensitiv gegenüber einer Ergebnisdevaluation werden, waren Tiere mit einer Zellkörperläsion des IL weiterhin sensitiv gegenüber der Veränderung des Wertes der Belohnungen (Killcross and Coutureau, 2003).

Durch die Verbindung des IL mit dem DLS ergibt sich beim sensomotorischen Schaltkreis somit ein ähnliches Bild wie beim assoziativen Schaltkreis, in dem der IL und das DLS eine funktionelle Schleife bilden.

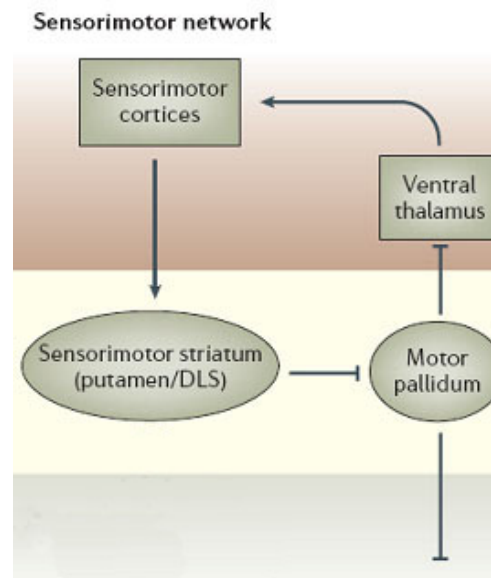


Abb. 15 Sensomotorischer cortico-striataler Schaltkreis. Im Mittelpunkt des sensomotorischen Schaltkreises steht das DLS, welches zudem von sensomotorischen Cortexarealen, insbesondere dem IL, innerviert wird. Über den ventralen Thalamus gelangen die Informationen vom DLS zurück zum Cortex, wodurch der sensomotorische cortico-striatale Schaltkreis geschlossen wird (modifiziert nach Yin and Knowlton, 2006).

5.6.3 Interaktionen des assoziativen und des sensomotorischen cortico-striatalen Schaltkreises

Anhand der Experimente zur Untersuchung des zielgerichteten und des Gewohnheitsverhaltens ist deutlich geworden, dass beide Verhaltensweisen durch getrennte und scheinbar in sich geschlossene cortico-striatale Schaltkreise gesteuert werden. Was

jedoch noch nicht beantwortet wurde, ist die Frage nach den Interaktionen der beiden Schaltkreise. Werden zu Beginn des Lernens beide Schaltkreise parallel aktiviert, wobei zunächst der assoziative Schaltkreis den sensomotorischen überlagert, so dass zielgerichtetes Verhalten möglich ist? Oder werden die Schaltkreise seriell aktiviert; zu Beginn des Lernen bestimmt der assoziative Schaltkreis die Handlungssteuerung, und nach vielen Wiederholungen der Handlung übernimmt der sensomotorische Schaltkreis die Kontrolle über das Verhalten? Diese Frage, nach der parallelen oder seriellen Aktivierung ist nicht abschließend geklärt, und wird zur Zeit diskutiert (Balleine et al., 2009).

Für eine parallele Aktivierung der beiden Schaltkreise spricht die Beobachtung, dass Tiere, die nach einem Trainingsschema konditioniert wurden, welches bei Kontrolltieren zur Bildung einer Gewohnheit führt, nach einer Inaktivierung des DLS nach dem Training, wieder zielgerichtet agierten (Yin et al., 2006a). Dies lässt darauf schließen, dass die Unterdrückung des sensomotorischen Schaltkreises dazu führt, dass der assoziative Schaltkreis die Handlungssteuerung übernimmt (Balleine et al., 2009).

Einen weiteren, wenn auch indirekten Hinweis für eine parallele Aktivierung, liefert die Erforschung der instrumentellen Konditionierung (siehe Abschnitt 5.1.3). Dabei hat sich herausgestellt, dass während einer instrumentellen Konditionierung nicht nur eine reine R-O Assoziation gelernt wird, sondern auch der Stimulus (S) Bestandteil der Assoziation ist, wodurch es zu einer S-(R-O) Assoziation kommt. Da das Gewohnheitsverhalten durch eine S-R Assoziation abgebildet wird, deutet dies darauf hin, dass auch während des initialen Lernens einer neuen Aufgabe eine Repräsentation des Stimulus an der Handlungssteuerung beteiligt ist.

Den bedeutensten Hinweis für eine serielle Interaktion der beiden Schaltkreise liefern die Ergebnisse einer anatomischen Studie. Haber et al. (2000) konnten zeigen, dass ein spiralartiges Netzwerk zwischen den Arealen des Mittelhirns und des Striatums existiert (Abb. 16). Dabei projizieren dopaminerge Neurone der VTA zur NAc shell. Die NAc shell ist ihrerseits reziprok mit der medialen VTA verbunden und hemmt die dopaminergen Neurone der medialen VTA mittels GABAerger Neurone. Gleichzeitig sendet die NAc shell GABAerge Projektionen zur lateralen VTA und aktiviert dort die dopaminergen Neurone mittels einer Disinhibition vorgeschalteter GABAerger Interneurone. Die so aktivierten dopaminergen Neurone der lateralen VTA senden Efferenzen zum NAc core. Der NAc core ist wie die NAc shell reziprok mit dem ihn innervierenden Areal verbunden, hemmt dieses ebenfalls via GABAerger Neurone und aktiviert ebenfalls gleichzeitig die dopaminergen Neurone der SNc. Nach diesem Prinzip der rückwärtigen Hemmung und vorwärts gerichteter Aktivierung können Informationen weiter über das DMS bis hin zum DLS geleitet werden.

Eine neuere Arbeit stützt die Hypothese der seriellen Aktivierung, da gezeigt werden konnte, dass eine Diskonnektion zwischen NAC und DLS dazu führte, dass die läsonierten Tiere weiterhin ihre Handlungen flexibel anpassen konnten, wohingegen Kontrolltiere eine Gewohnheit ausbildeten (Belin and Everitt, 2008).

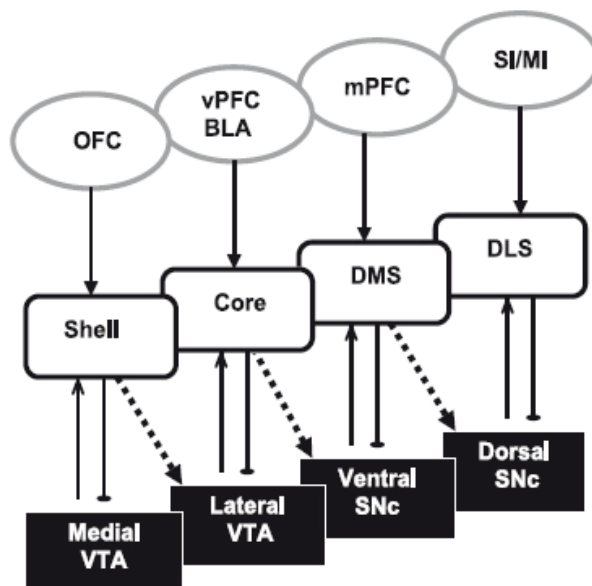


Abb. 16 Spiralnetzwerke. Die spiralartigen Verbindungen vom Mittelhirn zum Striatum und zurück zum Mittelhirn erlauben die Weitergabe von Informationen innerhalb hierarchisch organisierter Netzwerke (nach Yin et al., 2008). BLA, Basolaterale Amygdala; core, Nucleus Accumbens core; DLS, Dorsolaterales Striatum; DMS, Dorsomediales Striatum; mPFC, medialer präfrontaler Cortex; OFC, orbitofrontaler Cortex; shell, Nucleus Accumbens shell; SI/MI, primäre sensorische und corticale Areale; SNc, Substantia Nigra pars compacta; vPFC, ventraler präfrontaler Cortex; VTA, ventrales tegmentales Areal

Ebenso deuten die Ergebnisse aus einer humanen Studie auf eine serielle Verschaltung hin. So wurde mittels einer fMRT-Untersuchung nachgewiesen, dass die Aktivität des Nucleus caudatus, das homologe Areal zum DMS bei Ratten, zu Beginn einer Versuch und Irrtums-Aufgabe besonders hoch war, mit zunehmendem Lernerfolg jedoch abnahm (Delgado et al., 2005). Dies könnte darauf hinweisen, dass die Verhaltenssteuerung im Verlauf des Lernens der Aufgabe von einer anderen Gehirnstruktur als dem Nucleus caudatus übernommen wurde. Aufgrund der inkonsistenten Erkenntnisse, die sowohl die parallele als auch die serielle Aktivierungshypothese stützen, ist letztlich nicht geklärt, welche Hypothese zutrifft. Aufgrund der komplexen Anatomie des assoziativen und des sensomotorischen Schaltkreises, die zahlreiche Möglichkeiten zur Konvergenz, Divergenz, Integration und Interaktion untereinander zulässt, sind beide Hypothesen nach wie vor realistisch (Balleine et al., 2009).

5.7 Die Rolle von Dopamin bei der Verhaltenssteuerung

Die anatomischen Arbeiten von Haber et al. (Haber et al., 2000; Haber, 2003; Haber and Knutson, 2009) haben gezeigt, dass der assoziative und der sensomotorische Schaltkreis durch Dopamin moduliert werden. Bevor die funktionelle Bedeutung dieser Modulation erläutert wird, sollen grundlegende Aspekte sowie der Aufbau des Dopaminsystems verdeutlicht werden.

5.7.1 Biosynthese, Wiederaufnahme und Abbau von Dopamin

Dopamin (3,4-Dihydroxyphenethylamin) (DA) gehört zusammen mit den Neurotransmittern Adrenalin und Noradrenalin zu den Katecholaminen. Den Ausgangspunkt in der Synthese aller Katecholamine bildet die Aminosäure Tyrosin, welche sowohl im Blutplasma als auch im ZNS in hoher Konzentration vorliegt (Zigmond et al., 1999). Die Abfolge der enzymatischen Schritte, an deren Ende der Neurotransmitter DA steht, sind seit vielen Jahren bekannt (Bhagvat et al., 1939; Nagatsu et al., 1964). Abbildung 17 veranschaulicht die Abfolge der einzelnen Reaktionen, die zur Synthese von DA führen.

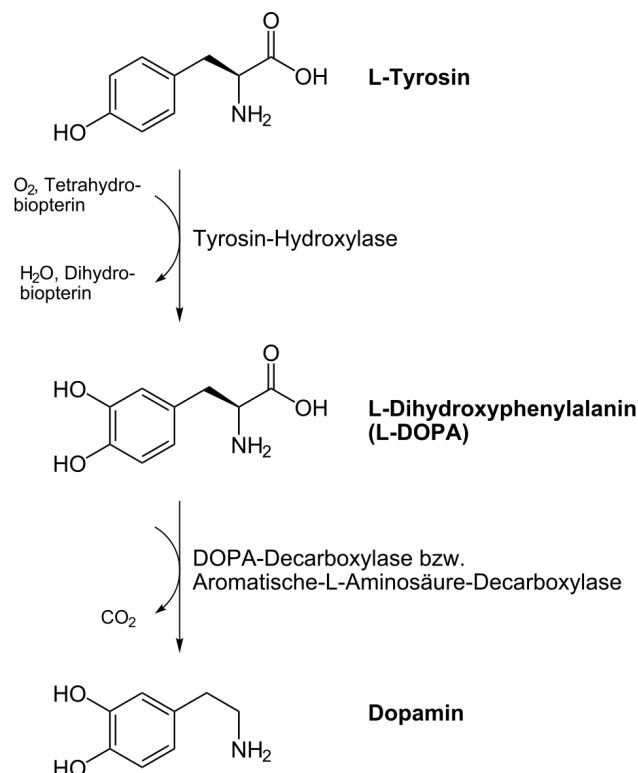


Abb.17 Dopaminsynthese. Schematische Darstellung der Synthese von Dopamin ausgehend von der Aminosäure Tyrosin.

Dabei wird Tyrosin zunächst mittels des Enzyms Tyrosin-Hydroxylase (TH) in L-DOPA umgewandelt. In einem weiteren Schritt wird L-DOPA mittels der Aromatischen-Aminosäure-Decarboxylase (AADC) in DA umgewandelt. Innerhalb dieser Enzymkette stellt die Umwandlung von Tyrosin zu L-DOPA durch die TH den geschwindigkeitsbestimmenden Schritt dar, da Tyrosin zu jeder Zeit in so hohen Konzentrationen vorliegt, dass eine Sättigung aller TH-Moleküle permanent gegeben ist. Die TH-Aktivität kann darüber hinaus durch zwei Prozesse gesteuert werden. Zum einen durch Phosphorylierung an vier Serin-Stellen, die eine Aktivität des Enzyms überhaupt erst ermöglichen, und zum anderen mittels einer negativen Rückkopplung durch das Endprodukt DA.

Die Umwandlung von L-DOPA in DA durch die AADC erfolgt durch die hohe Aktivität des Enzyms so schnell, dass die L-DOPA Konzentration im Blut unter der Nachweisgrenze liegt. Nach Abschluss der Synthese wird DA mittels einer Mg^{2+} -abhängigen Reaktion durch den Vesikulären Monoamin-Transporter (VMAT) in Vesikel überführt und bei Eintreffen von Aktionspotentialen in der Synapse durch einen Ca^{2+} -abhängigen Mechanismus mittels Exocytose in den synaptischen Spalt entlassen. Nach der Diffusion durch den synaptischen Spalt binden die Dopaminmoleküle anschließend an verschiedene DA-Rezeptoren und üben so ihre spezifische Wirkung aus, d.h. je nach Rezeptortyp hemmen oder fördern sie die Signalweiterleitung (siehe 5.7.2). Nach der Freisetzung werden die Dopaminmoleküle rasch aus dem synaptischen Spalt entfernt. Um dies schnell und effizient zu bewerkstelligen arbeiten parallel drei unterschiedliche Mechanismen: 1) Abdiffusion von den Rezeptoren mit anschließender Verdünnung in der extrazellulären Flüssigkeit in unter-schwellige Konzentrationen; 2) Aufnahme mittels des membranständigen Dopamintransporters (DAT) zurück in die Präsynapse mit darauffolgender Metabolisierung durch die Monoamin-Oxidase (MAO); 3) durch Verstoffwechselung mittels der Catechol-o-methyltransferase (COMT) (Zigmond et al., 1999). Von diesen drei möglichen Reaktionen ist der enzymatische Abbau von DA durch die MAO bzw. die COMT im ZNS am wichtigsten.

Die MAO sitzt in der äußeren Mitochondrienmembran und wandelt DA durch Desaminierung in 3,4-Dihydroxyphenylelessigsäure (DOPAC) um, welches anschließend durch die COMT methyliert und so zu Homovanillinsäure (HVA) umgewandelt wird. Der zweite Weg führt über eine Methylierung von DA durch die COMT zur Bildung von 3-Methoxytyramin (3-MT), welches durch die MAO ebenfalls in HVA umgewandelt wird (Abb. 18). Dabei ist zu beachten, dass lediglich DA, welches wiederaufgenommen und nicht wieder in Vesikel verpackt wurde, enzymatisch abgebaut wird.

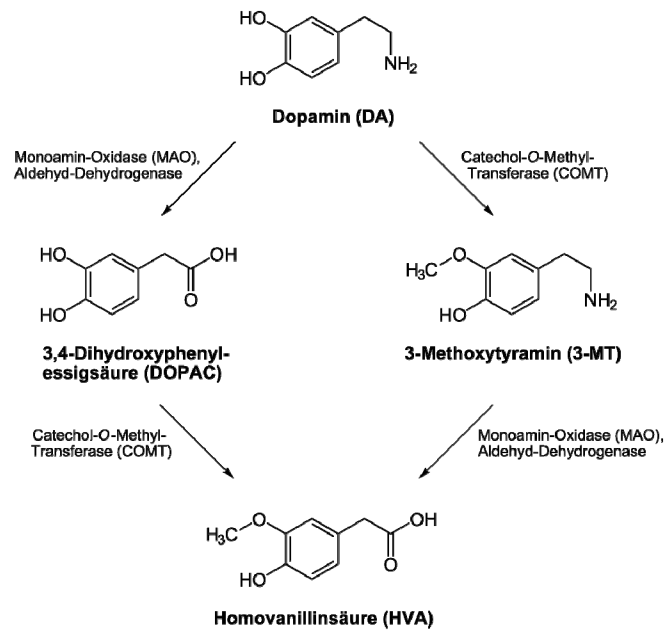


Abb.18 Abbauwege von Dopamin. Schematische Darstellung der beiden wichtigsten enzymatischen Abbauwege von Dopamin zu Homovanillinsäure .

5.7.2 Dopamin-Rezeptoren und Dopamin-Freisetzung

Dopamin-Rezeptoren:

Es gibt fünf verschiedene DA-Rezeptoren (D1 bis D5), die sich hinsichtlich ihrer biochemischen und pharmakologischen Eigenschaften in zwei Gruppen unterteilen lassen. Die D1- und D5-Rezeptoren werden zur D1-Gruppe zusammengefasst, während die D2-, D3- und die D4-Rezeptoren zur D2-Gruppe gezählt werden (Cooper et al., 2003). Die Rezeptoren beider Gruppen sind sogenannte metabotrope Rezeptoren, d.h. durch die Aktivierung des Rezeptors kommt es nicht direkt zu einem Ein-oder Ausstrom von Ionen, sondern es werden - in Abhängigkeit vom DA-Rezeptor - unterschiedliche intrazelluläre Signalkaskaden aktiviert. Rezeptoren der D1- als auch der D2-Gruppe sind G-Protein gekoppelt. Die Rezeptoren der D1-Gruppe sind an ein stimulierendes G-Protein (Gs) gekoppelt, welches seinerseits eine Adenylatcyclase (AC) aktiviert. AC sind Enzyme, deren Aufgabe die Katalyse von cyclischem Adenosinmonophosphat (cAMP) aus Adenosintriphosphat (ATP) ist; cAMP, ein „sekundärer Botenstoff“ aktiviert wiederum die Proteinkinase A, wodurch verschiedene intrazelluläre Prozesse in Gang gesetzt werden können, u.a. a) eine Phosphorylierung und Öffnung von Ca^{2+} -Kanälen; b) die Phosphorylierung von Transkriptionsfaktoren, wie z.B. CREB, was die Transkription cAMP-abhängiger Gene bewirkt. Im Gegensatz dazu sind die D2-Rezeptoren an inhibierende G-Proteine (Gi) gekoppelt. Gi-Proteine hemmen die AC, was

eine Abnahme der cAMP Produktion zur Folge hat. Letztendlich hat eine Aktivierung von D1-Rezeptoren eine exzitatorische Wirkung auf die nachfolgende Nervenzelle, die Aktivierung von D2-Rezeptoren eine inhibierende. Durch unterschiedliche cAMP-sowie Ca^{2+} -abhängige Mechanismen regulieren dopaminerge Neurone die neuronale Aktivität oder die synaptische Plastizität und beeinflussen so maßgeblich das Verhalten eines Organismus (Nicola et al., 2000; Seamans and Yang, 2004; Calabresi et al., 2007; Surmeier et al., 2007).

Sowohl die Rezeptoren der D1-Gruppe als auch die Rezeptoren der D2-Gruppe sitzen hauptsächlich postsynaptisch auf Dendritenbäumen dopaminrezeptiver Neurone (Yao et al., 2008). Ein Großteil dieser postsynaptischen Rezeptoren befinden sich auf den sogenannten dendritischen Dornenfortsätzen, knopf- bzw. pilzartigen Ausstülpungen der Dendriten, die neben der Oberflächenvergrößerung essentielle Aufgaben bei der Signalübertragung erfüllen (Kandel et al., 2000; Thompson, 2001; Yao et al., 2008). Häufig konvergieren dopaminerge und glutamaterge Axone auf solchen Dornenfortsätzen, so dass neben den DA-Rezeptoren ebenfalls häufig Glutamat-Rezeptoren zu finden sind (Freund et al., 1984; Goldman-Rakic et al., 1989; Smith et al., 1994). Den postsynaptischen Rezeptoren stehen die Autorezeptoren gegenüber, die ebenfalls zur D2-Gruppe gezählt werden. Autorezeptoren können sowohl auf der dopaminergen Präsynapse, als auch auf dem Soma oder den Dendriten dopaminergener Neurone sitzen. Da die Autorezeptoren zur Gruppe der D2-Rezeptoren gehören, sind sie an ein Gi-Protein gekoppelt. Durch die so entstehende inhibierende Wirkung bewirken die Autorezeptoren eine Hemmung des DA-Neurons auf dem sie sitzen, d.h. die dopaminerge Freisetzung wird gehemmt. Weil die Autorezeptoren fünf bis zehnmal sensitiver für DA sind als die postsynaptischen Rezeptoren, nehmen sie eine sehr wichtige regulierende Stellung innerhalb der dopaminergen Systems ein (Cooper et al., 2003). Bei einer geringen Aktivität des dopaminergen Systems kommt es so hauptsächlich durch eine Aktivierung der Autorezeptoren zu einer Hemmung des Systems. Erst eine entsprechend starke Aktivierung und damit verbunden eine hohe Ausschüttung von DA führt zu einer Aktivierung der postsynaptischen Rezeptoren.

Die Verteilung der D1- und D2-Rezeptoren ist in allen dopaminergen Systemen des ZNS sehr ähnlich. Da ca. 80% aller DA-Axone im dorsalen und ventralen Striatum sitzen, ist die Anzahl an D1- und D2-Rezeptoren dort entsprechend besonders hoch (Zigmond et al., 1999). Neben dem Striatum kommen beide Rezeptortypen u.a. im Cortex, im Hippocampus, im Hypothalamus, im Thalamus, im Kleinhirn, im Septum, im olfaktorischen Tuberkel und in der Amygdala vor. Lediglich in den Ursprungsgebieten der dopaminergen Systeme, der SN und der VTA gibt es nahezu ausschließlich D2-Autorezeptoren, was ihre Bedeutung bei der Regulation des gesamten DA-Systems unterstreicht.

Dopamin-Freisetzung:

Einmal in Vesikel verpackt kann Dopamin über zwei unterschiedliche Freisetzungsmodi, d.h. durch eine phasische oder tonische Freisetzung, in den synaptischen Spalt entlassen werden, wobei sich die beiden Freisetzungsarten erheblich voneinander unterscheiden. Dabei entspricht die phasische Freisetzung der synaptischen Freisetzung, bei der durch ein eintreffendes Aktionspotential der Neurotransmitter in den synaptischen Spalt entlassen wird (Abb. 19). Innerhalb von wenigen Millisekunden steigt die extrazelluläre Konzentration von DA im synaptischen Spalt von 5-10 nM auf 250-500 nM bei Ratten und auf 500–600 nM bei Affen (Kawagoe et al., 1992; Garris and Wightman, 1994; Cragg et al., 2000). Dieser Konzentrationsanstieg ist so hoch und geht so schnell vonstatten, dass die DA-Wiederaufnahmemechanismen kurzzeitig „überfordert“ sind (Ewing and Wightman, 1984; May et al., 1988). Dadurch kann das freigesetzte DA innerhalb weniger Millisekunden durch den synaptischen Spalt diffundieren (maximale Diffusionsstrecke 7-12 μm) und an die postsynaptischen Rezeptoren binden. Nach ca. 200 ms erreicht die DA-Konzentration, durch die Aktivität der Wiederaufnahmemechanismen wieder ihren Basalwert (Schultz, 2007).

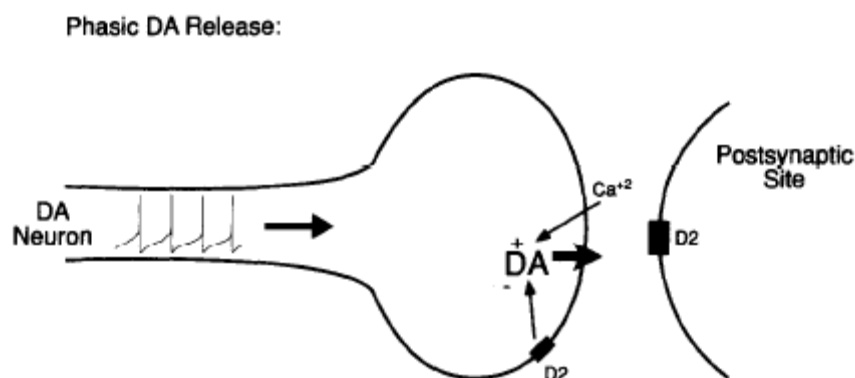


Abb.19 Phasische Dopaminfreisetzung. Schematische Darstellung der phasischen DA-Freisetzung, bei der durch Eintreffen von Aktionspotentialen DA über einen Ca^{2+} -abhängigen Mechanismus in den synaptischen Spalt entlassen wird. Das freigesetzte DA diffundiert durch diesen Spalt und bindet an die postsynaptischen DA-Rezeptoren, wodurch das Signal auf die nachfolgende Nervenzelle übertragen wird (modifiziert nach Grace, 1991).

Eine besondere Eigenschaft der DA-Neurone im Zusammenhang mit der phasischen Freisetzung ist ihre Fähigkeit durch kurzzeitige Salven von Aktionspotentialen innerhalb kürzester Zeit die DA-Freisetzung in vielen DA-Terminalen gleichzeitig zu erhöhen. Dies geschieht durch mehrere gleichzeitig ablaufende Mechanismen: 1) durch die hohe axonale Kollateralisation von DA-Neuronen kann ein einzelnes DA-Neuron im Striatum 500.000 bis 1.000.000 Synapsen bilden 2) durch die Fähigkeit topographisch organisierter DA-Neurone synchron zu feuern, 3) „ruhende“ DA-Neurone werden enthemmt und schütten zusätzlich DA

DA reicht jedoch nicht aus, um die postsynaptischen D1-Rezeptoren zu aktivieren. Die Dissoziationskonstante der D2-Autorezeptoren von ca. 5 nM (Seeman and Grigoriadis, 1985) liegt hingegen genau im Bereich der extrazellulären tonischen DA-Konzentration von ca. 4-20 nM (Zetterstrom et al., 1983; Sharp et al., 1986; Grace, 2000). Somit ist das tonische DA in der Lage die präsynaptischen Autorezeptoren zu aktivieren. Eine solche Aktivierung bewirkt eine rückwärtsgerichtete Hemmung, wodurch die phasische Freisetzung von DA gehemmt wird.

Die tonische und die phasische Aktivität sind somit zwar zwei getrennte Modi der Freisetzung, sind jedoch auf entscheidende Weise miteinander verbunden. Durch die corticale Aktivität glutamaterger Neurone wird die tonische Aktivität geregelt, und diese Aktivität hat ihrerseits einen wichtigen Einfluss auf die phasische Freisetzung des DA. So führt z.B. eine Verringerung der tonischen Aktivität zu einer Erhöhung der phasischen Aktivität und umgekehrt (Grace, 1991, 2000).

5.7.3 Anatomie des Dopaminsystems

Bevor die Bedeutung von DA Signalen bzw. die von DA Signalen übermittelten Informationen erläutert werden, sollte zunächst der anatomische Aufbau des DA-Systems des Gehirns vorgestellt werden. Noch heute hat die von Dahlström (1964) eingeführte Unterteilung des DA-Systems inklusive der Benennung der einzelnen Kerngebiete Bestand. Demnach existieren neun verschiedene DA-Ursprungsareale, mit den Bezeichnungen A8 bis A16, deren Verbreitungsgebiet vom Mesencephalon (Mittelhirn) (A8 bis A15) bis hin zum olfaktorischen Bulbus reicht (A16) (Abb. 21). Innerhalb dieser neun Kerngebiete kommt den Arealen A8, A9 und A10 des Mesencephalons eine besondere Bedeutung zu, da sie zum einen die mit Abstand meisten DA-Neurone beinhalten, und sich zum anderen durch weitreichende Projektionsbahnen auszeichnen. Die Zahl der DA-Neurone dieser drei Zellgruppen liegt bei Mäusen zwischen 20.000 und 30.000 Zellen, bei Ratten zwischen 40.000 bis 45.000, bei Primaten zwischen 160.000 bis 320.000 und beim Menschen zwischen 400.000 und 600.000 Zellen. Davon entfallen mehr als 70% auf die Zellgruppe A9 der Substantia Nigra (Bjorklund and Dunnett, 2007). Frühe histologische Arbeiten konnten bereits zeigen, dass die drei Kerngebiete A8, A9 und A10 des Mittelhirns drei unterschiedliche aufsteigende Projektionsbahnen bilden (Lindvall and Bjorklund, 1974; Fallon and Moore, 1978), wobei die jeweiligen DA-Projektionen topographisch organisiert sind, d.h. Axone nahe beieinander liegender Somata dopaminergener Neurone projizieren ebenfalls in nah beieinander liegende

Zielgebiete (Cooper et al., 2003). Dabei formen die Areale A8 und A10, die zusammen genommen die VTA bilden, zwei der drei aufsteigenden Bahnen. Die erste zieht von der VTA zum Cortex, weshalb dieses System als mesocorticales DA-System bezeichnet wird. Die zweite zieht, ausgehend von der VTA, zu limbischen Strukturen, und wird daher als mesolimbisches DA-System bezeichnet. Die Axone der DA-Neurone der SN (A9) ziehen ins Striatum, weshalb dieses System als das nigrostriatale DA-System bekannt ist (Cooper et al., 2003). Diese strikte und einheitliche Unterteilung hatte jedoch nur kurz Bestand. Mittlerweile ist bekannt, dass jedes System zwar seine „Hauptprojektionen“ gemäß der ursprünglichen Gliederung besitzt, darüber hinaus aber auch Projektionen in die Zielareale der jeweils zwei anderen Kerngebiete entsendet (Bjorklund and Lindvall, 1984; Bentivoglio and Morelli, 2005).

Welche Rolle DA in allen drei Systemen bei der Steuerung des Verhaltens spielt, soll im nächsten Abschnitt erläutert werden.

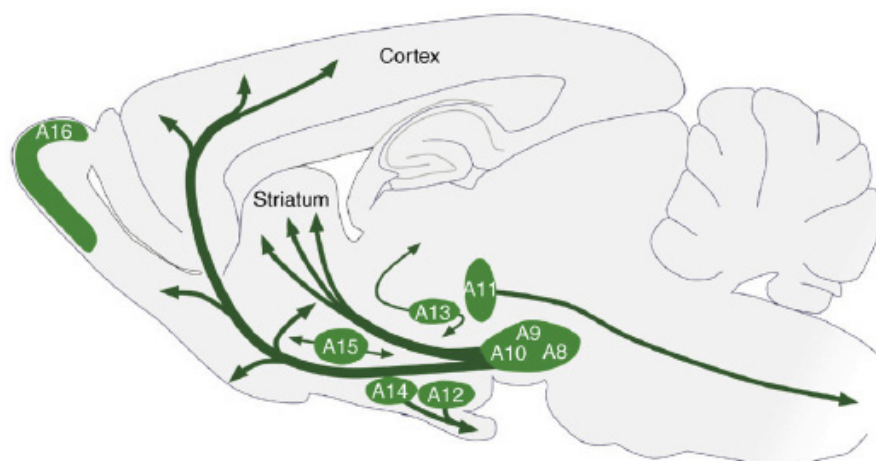


Abb.21 Aufbau des Dopaminsystems. Das Dopaminsystem besteht insgesamt aus neun verschiedenen Kerngebieten (A8 bis A16), die vom Mesencephalon bis zum olfaktorischen Bulbus reichen (modifiziert nach Bjorklund and Dunnett, 2007). Dabei sind die Kerngebiete A8 bis A10 des Mesencephalons von besonderer Bedeutung, da sie zum einen die mit Abstand größte Anzahl DA-Neurone beinhalten und zum anderen weitreichende Projektionen ins Striatum, zu limbischen Arealen als auch zum Cortex bilden (modifiziert nach Bjorklund and Dunnett, 2007).

5.7.4 Hypothesen zur Funktion von Dopamin bei der Verhaltenssteuerung

Im Jahr 2007 jährte sich die Entdeckung, dass DA ein Neurotransmitter ist, zum 50ten Mal (Carlsson et al., 1957; Montagu, 1957; Carlsson et al., 1958). Carlson entdeckte damals, dass durch Reserpin bewegungsunfähig gemachte Kaninchen durch die Gabe von 3,4-

Dihydroxyphenylalanine (DOPA) wieder in der Lage waren sich zu bewegen (Carlsson et al., 1957). Kurz darauf wurde nachgewiesen, dass das Striatum der Bereich mit der höchsten DA-Konzentration im ZNS ist. Diese Befunde legten nahe, dass DA im Striatum eine wichtige Funktion bei der Steuerung motorischer Vorgänge einnimmt (Bertler and Rosengren, 1959; Carlsson, 1959; Sano et al., 1959). Dies wurde dadurch bekräftigt, dass einige Jahre später durch post-mortem Analysen an menschlichen Gehirnen gezeigt werden konnte, dass Parkinson-Patienten eine deutliche Verringerung der DA-Konzentration im Striatum aufweisen. Damit war klar, dass DA eine zentrale Rolle bei Steuerung motorischer Vorgänge einnimmt (Ehringer and Hornykiewicz, 1960). Diese Entdeckungen kulminierten in den folgenden Jahren im erfolgreichen Einsatz der Substanz L-DOPA zur Behandlung der Parkinsonschen Krankheit. L-DOPA passiert nach Applikation die Blut-Hirn-Schranke, gelangt ins Gehirn und ist dort in der Lage die bei Parkinson-Patienten beeinträchtigte DA-Neurotransmission wieder annähernd zu normalisieren (Birkmayer and Hornykiewicz, 1961; Cotzias et al., 1967). Viele Jahre herrschte die Meinung vor, DA sei ausschließlich für die Steuerung motorischer Vorgänge essentiell. Dies änderte sich jedoch in den 70er Jahren als man entdeckte, dass DA ebenfalls eine wichtige Rolle bei einigen neuropsychischen Erkrankungen und kognitiven Vorgängen spielt (siehe Review von Iversen and Iversen, 2007). Durch eine große Anzahl weiterer Studien ist heutzutage gesichert, dass DA eine zentrale Rolle bei vielen verschiedenen kognitiven Leistungen und im besonderen bei belohnungsbezogenen Verhaltensweisen spielt (siehe u.a. Berridge and Robinson, 1998; Schultz, 2002; Grace et al., 2007; Surmeier et al., 2007). Ob DA dabei aber eine einheitliche Rolle spielt, d.h. bei all diesen Vorgängen dieselbe Funktion ausübt oder ob DA in unterschiedlichen Arealen verschiedene Prozesse vermittelt, ist bis heute Gegenstand heftiger Diskussionen. Daher sollen im weiteren Verlauf die bekanntesten Hypothesen zu den nicht-motorischen Funktionen von DA aufgezeigt und Ihre Stärken und Schwächen erläutert werden.

Anhedonie-Hypothese:

Die erste große Hypothese, die versuchte die Rolle von DA bei belohnungsbezogenen Verhaltensweisen zu erklären, war die sogenannte „Anhedonie-Hypothese“ von Wise (Wise et al., 1978; Wise, 1982). Wise postulierte damals, „dass Orte an denen DA-Neurone konvergieren, Haltestellen sind, an denen sensorische Informationen in hedonische Nachrichten umgewandelt werden, die wir als genussvoll und euphorisch erleben“ (aus Wise, 1980, S.94). Mit anderen Worten besagt diese Theorie, dass DA das „mögen“ eines Stimulus, wie z.B. einer bestimmten Nahrung, vermittelt. Eine Blockade der DA-Neurotransmission,

hervorgerufen durch DA-Antagonisten (z.B. Neuroleptika), blockiert dagegen eine hedonische Reaktion; es kommt zu einer Art „Lustverlust“ (Anhedonie) (Wise, 1982, 1985). Die Anhedonie-Hypothese erfreute sich in den laufenden Jahrzehnten großer Beliebtheit innerhalb der Neurowissenschaften, da immer wieder festgestellt werden konnte, dass viele belohnende Stimuli (z.B. Nahrung, Sex, Drogen) das mesolimbische DA-System aktivieren und zur Ausschüttung von DA führen (Fiorino et al., 1997; Ahn and Phillips, 1999; Becker et al., 2001; Everitt and Robbins, 2005; Cheng and Feenstra, 2006; Phillips et al., 2007). Auch einige moderne Arbeiten unterstützen die Hypothese von Wise. Mittels bildgebender Verfahren (z.B. durch die Positronen-Emissions-Tomographie, kurz: PET) konnte gezeigt werden, dass das subjektive Empfinden von Genuss und Euphorie mit der DA-Rezeptorbelegung im NAc korreliert (Volkow et al., 1999; Small et al., 2003). Jedoch gibt es auch kritische Stimmen, die die Anhedonie-Hypothese anzweifeln. Der bekannteste Kritiker der Hypothese von Wise ist Kent C. Berridge. Zusammen mit weiteren Kollegen entwickelte er ein Testverfahren, welches es ermöglichte die objektiv empfundene Hedonie als Antwort auf einen belohnenden Stimulus zu messen (Grill and Norgren, 1978; Berridge, 2000; Steiner et al., 2001). Dieses Testverfahren misst die affektiven Gesichtsreaktionen nach Nahrungszufuhr, die über viele Spezies hinweg im Laufe der Evolution konserviert wurden, und auch bei menschlichen Säuglingen hervorgerufen werden können (Steiner, 1973; Berridge, 2000). Dabei lösen süß und bitter schmeckende Flüssigkeiten besonders charakteristische Zungenbewegungen als Reaktion auf den Geschmack hervor. Süße Flüssigkeiten werden dabei als „positiv“ bewertet und sind durch rhythmische Vor- und Zurückbewegungen der Zunge gekennzeichnet. Bitter schmeckende Flüssigkeiten werden dahingegen als „negativ“ bewertet, was sich durch ein weites Aufsperrn des Mundes beobachten lässt. Bemerkenswert ist dabei, dass diese Reaktionen bei Ratten und neugeborenen Menschen äußerst ähnlich ablaufen (Abb. 22) (Berridge and Robinson, 2003; Berridge, 2007, 2009). Grund für die Kritik von Berridge an der Hypothese von Wise sind Ergebnisse, die zeigen, dass selbst nach einer massiven Zerstörung von DA-Neuronen im ZNS, die affektiven Gesichtsreaktionen intakt bleiben (Berridge et al., 1989; Berridge and Robinson, 1998). Süße Flüssigkeiten werden weiterhin als „positiv“, also als hedonisch empfunden, und lösen weiterhin die charakteristischen Zungenbewegungen hervor. Gleichzeitig führte die Gabe von Neuroleptika, welche die DA-Neurotransmission blockieren, nicht zu einem Wechsel der hedonischen zur anhedonischen Reaktion, den man erwarten würde, wenn DA für das „mögen“ einer Belohnung verantwortlich ist (Parker and Leeb, 1994; Pecina et al., 1997).



Abb.22 Hedonische und anhedonische Reaktionen. Dargestellt sind hedonische und anhedonische Reaktionen nach Gabe einer süßen bzw. bitter schmeckenden Substanz bei der Ratte und bei einem neugeborenen Menschen. Die hedonische Reaktion besteht aus rhythmischen Vor- und Zurückbewegungen der Zunge (Bilder links oben und unten), während die anhedonische Reaktion durch das weite Aufsperrn des Mundes gekennzeichnet ist (Bilder rechts oben und unten) (modifiziert nach Berridge, 2007).

Die Ergebnisse aktueller Studien deuten ebenfalls eindrucksvoll daraufhin, dass DA das „mögen“, z.B. einer Substanz, nicht vermittelt. Mittels elektrophysiologischer Methoden konnte auch nachgewiesen werden, dass DA-Neurone aufhören zu „feuern“, sobald ein Stimulus zuverlässig eine Belohnung vorhersagt (Schultz, 1997, 2006). DA-defiziente Mäuse, denen DA künstlich zugeführt wurde, zeigen ebenfalls keine Änderung der hedonischen Reaktion auf die Gabe einer süßen Zuckerlösung (Pecina et al., 2003). Durch die Gabe von Amphetamin, einem DA-Wiederaufnahmehemmer, konnte ebenso keine Änderung des „Mögens“ festgestellt werden (Wyvell and Berridge, 2000). Diese Ergebnisse deuten daraufhin, dass DA das „Mögen“ einer Belohnung nicht vermittelt, eine Tatsache die mittlerweile auch vom Begründer der Anhedonie-Hypothese, Roy Wise, akzeptiert wird (Wickelgren, 1997).

Lerntheorie:

Die zweite große Hypothese über die Funktion von DA betrifft einen gänzlich anderen Funktionsbereich; im Mittelpunkt steht die Rolle von DA beim Lernen von Stimulus-Stimulus (S-S) und Stimulus-Antwort (S-R) Beziehungen. Laut dieser „Lerntherorie“ ist DA nötig, um die synaptische Plastizität, die das Lernen begleitet, zu beeinflussen. Dies geschieht durch das „Einbrennen“ assoziativer S-S oder S-R-Verbindungen, durch präsynaptisch freigesetztes DA, welches als „Lernsignal“ bezeichnet werden kann (Berridge, 2007). Der bekannteste Vertreter

dieser Hypothese ist Wolfram Schultz, der Ende der 90er Jahre entdeckte, dass die DA-Neurone des Mittelhirns ein „Vorhersage-Fehler-Signal“ kodieren (Schultz, 1997; Schultz et al., 1997; Schultz, 1998). Dabei reagieren die DA-Neurone auf unerwartete Belohnung mit einer erhöhten phasischen Aktivität, wobei der Grad der Aktivierung von dem Grad der Erwartung abhängt; je genauer der Erhalt einer Belohnung vorhergesagt werden kann (z.B. durch das graduelle Lernen einer S-S Beziehung innerhalb einer klassischen Konditionierung; siehe Abschnitt 5.1.2), desto geringer fällt die phasische Aktivität aus. Bei einer vollständig antizipierten Belohnung bleibt sie schließlich ganz aus. Bleibt hingegen eine, durch einen CS+ vorhergesagte Belohnung überraschenderweise aus, kommt es exakt zum Zeitpunkt, an dem die Belohnung normalerweise erhalten worden wäre, zu einer Hemmung der phasischen Aktivität.

Eine weitere Besonderheit der Beobachtungen von Schultz ist die Tatsache, dass die phasische Aktivität der DA-Neurone im Laufe des Trainings von der Belohnung (US) zum CS+ „wandert“. Auf den CS+ hin erfolgt daraufhin immer eine erhöhte neuronale Aktivität. Kommt es dann zu einer Belohnungsgabe, d.h. tritt das Erwartete ein, erfolgt auf die Belohnung selber, keine Aktivitätsänderung (Abb. 23).

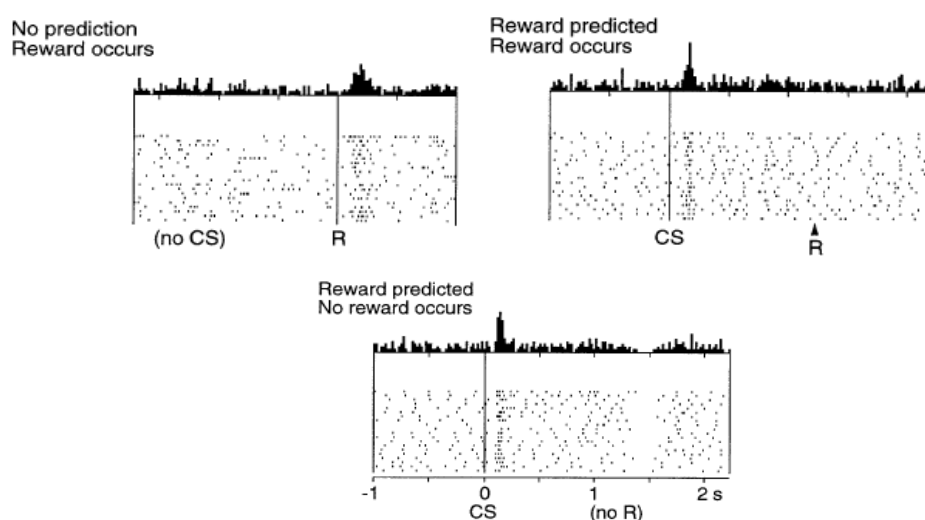


Abb.23 Vorhersage-Fehler-Signal DA-Neurone. *Oben links:* Ohne einen CS+, der eine Belohnung vorhersagt, kommt diese völlig unerwartet und löst eine starke phasische Aktivierung der DA-Neurone aus. *Oben rechts:* Im Laufe des klassischen Trainings erfolgt eine „Wanderung“ der phasischen Aktivität von der Belohnung zum belohnungsankündigenden CS+. Tritt die angekündigte Belohnung im Folgenden ein, bleibt die phasische Aktivierung zum Zeitpunkt der Belohnungsgabe aus. *Unten:* Tritt die angekündigte Belohnung nicht ein, d.h. die Belohnung bleibt nach Präsentation des CS+ aus, erfolgt zum Zeitpunkt der normalen Belohnungsgabe eine Hemmung der DA-Aktivität (modifiziert nach Schultz, 1997).

Zusammengenommen kommt es somit immer dann zu einer phasischen Aktivierung der DA-Neurone, wenn etwas Unerwartetes eintritt und zu einer Hemmung, wenn etwas Erwartetes nicht eintritt; daher der Name „Vorhersage-Fehler-Signal“. Eine weitere Besonderheit, die der „Lerntheorie“ zunehmend Akzeptanz verschafft, ist die Tatsache, dass das „Vorhersage-Fehler-Signal“ gut mit theoretischen Modellen des Lernens übereinstimmt. Eines der einflussreichsten Modelle des assoziativen Lernens ist das „Rescorla-Wagner-Modell“ (Rescorla and Solomon, 1967). Dieses Modell beschreibt die klassische Konditionierung anhand eines „Schritt-für-Schritt-Prinzips“ bei dem der Lernerfolg einer jeden CS+-US Paarung separat untersucht wird. Das Modell sagt aus, dass der Lernerfolg zu Beginn des Trainings am größten ist, und mit jeder CS+-US Paarung geringer wird, bis zum dem Punkt an dem die CS+-US Paarung vollständig gelernt wurde und kein weiterer Trainingseffekt zu beobachten ist. Die progressive Abnahme des Lernerfolgs mit jeder weiteren CS+-US Paarung ähnelt dabei auf verblüffende Weise dem Verlauf des „Vorhersage-Fehler-Signals“ der DA-Neurone während eines Lernvorgangs. Auch hier ist zu Beginn des Lernens die phasische Aktivität der DA-Neurone zum Zeitpunkt der Belohnungsgabe am höchsten, da die Belohnung vollständig unerwartet eintritt. Je häufiger dann während des Trainings die Belohnung auf den CS+ folgt, desto vorhersagbarer wird die Belohnung und desto geringer ist die phasische Aktivität zum Zeitpunkt der Belohnungsgabe. Diese physiologische Beobachtung passt sehr gut zu den lerntheoretischen Vorhersagen des „Rescorla-Wagner-Modells“.

Das „Vorhersage-Fehler-Signal“ bewirkt also, dass Tiere Ihr Verhalten solange ändern, bis dieses Signal nicht mehr generiert wird, da genau zu diesem Zeitpunkt die jeweilige S-S bzw. S-R-Assoziation vollständig gelernt wurde. DA fungiert in diesem Modell somit als eine Art „Melder“ der signalisiert, ob eine Änderung des Verhaltens weiterhin nötig ist und nimmt daher eine zentrale Rolle beim Lernen ein.

So elegant dieses Modell zur Funktion von DA auch scheint, bleibt laut Berridge (2007) doch die Frage, ob DA-Signale für Lernvorgänge notwendig sind, oder ob DA-Signale lediglich Korrelate von Lernvorgängen darstellen. Um diese Annahme zu überprüfen wurde ein transgenes Mausmodell entwickelt, bei dem die Tiere aufgrund des Fehlens des Enzyms Tyrosin-Hydroxylase kein DA synthetisieren können (Zhou and Palmiter, 1995). Unbehandelt würden diese Tiere verhungern und verdursten, da sie sich nicht bewegen können. Wenn man Ihnen jedoch L-DOPA zuführt, verhalten sie sich während der Wirkdauer des Medikaments normal, so dass die Nahrungs- und Wasseraufnahme intakt ist. Eine weitere Besonderheit dieser Mäuse ist es, dass man sie nicht nur durch eine Applikation von L-DOPA, sondern auch durch die Gabe von Koffein motorisch aktivieren kann. Diese Eigenschaften wurden in

Lernexperimenten genutzt. Man untersuchte das Lernverhalten von Mäusen, die durch die Gabe von Koffein motorisch aktiv waren, denen jedoch DA fehlte. An solchen dopamindefizienten (DD-)Mäusen konnte mehrfach gezeigt werden, dass sich ihre Lernleistung in verschiedenen Lernparadigmen nicht von Kontrolltieren unterscheidet (Hnasko et al., 2005; Robinson et al., 2005).

Weitere Unterstützung für die Annahme, dass DA nicht für das Lernen notwendig ist, kommt von Messungen an einem anderen Mausstamm, der im Gegensatz zu den DD-Mäusen hyperdopaminerg ist. Diese Tiere verfügen nur über 10% der normalen Anzahl an Dopamin-Transportern (DAT), die für die Wiederaufnahme des Transmitters in die Präsynapse verantwortlich sind. Dies führt zu einem um 170% erhöhten DA-Spiegel im Striatum. Ein solch hoher DA-Spiegel müsste ein massives „Vorhersage-Fehler-Signal“ erzeugen, was laut der Fehler-Vorhersage-Hypothese dazu führen sollte, dass diese Tiere im Vergleich zu Kontrolltieren schneller lernen. Diese Annahme konnte in mehreren Experimenten jedoch nicht bestätigt werden. DAT-defiziente Mäuse waren weder in der Lage eine S-S-Assoziation schneller zu lernen als Kontrolltiere (Cagniard et al., 2006), noch schneller in einem T-Labyrinth den Weg zum Ziel zu finden (Pecina et al., 2003) und sie erlernten eine instrumentelle Aufgabe ebenfalls nicht rascher (Yin et al., 2006b). Zusammengenommen deuten diese Ergebnisse daraufhin, dass das „Vorhersage-Fehler-Signal“ somit unter Umständen kein notwendiges Lernsignal ist, sondern mit Lernvorgängen korreliert ist bzw. eine Konsequenz des Lernens darstellt (Berridge, 2007).

Anreiz-Salienz-Hypothese:

Diese Vermutung führt direkt zur dritten großen DA-Hypothese, die von Kent C. Berridge und Terry E. Robinson (1998) entwickelt wurde und als „Anreiz-Salienz-Hypothese“ bezeichnet wird (Salienz = ein aus dem Kontext hervorgehobener Reiz, der dem Bewusstsein leichter zugänglich gemacht wird; (aus Jonas et al., 2007)). Diese Hypothese geht zunächst davon aus, dass belohnungsgerichtetes Handeln drei Komponenten enthält: „Mögen“, „Lernen“ und „Wollen“ (Berridge, 2007). Jede dieser drei Komponenten existiert unabhängig voneinander als neuronale Repräsentation und kann experimentell getrennt von den übrigen untersucht werden. Damit jedoch eine Belohnung vollständig zu einem Handlungsziel wird, bedarf es aller drei Komponenten. „Lernen“ ohne „Mögen“ und „Wollen“ führt dazu, dass ein Organismus inaktiv bleibt und weder auf den Stimulus zugeht, noch ihn erfahren kann. „Mögen“ alleine würde bedeuten, dass ein Organismus zwar um den hedonischen Wert einer Belohnung „weiß“, aber nicht in der Lage ist diesen selbständig aufzusuchen, da ihm zum einen der Antrieb („Wollen“) und zum anderen die Mittel sie zu erhalten fehlen („Lernen“).

„Wollen“ alleine ist zwar eine aktivierende Komponente, kann aber ohne „Lernen“ nicht anhaltend zielführend sein. Eine Ausnahme innerhalb dieses Drei-Komponentensystems existiert jedoch: „Wollen“ kann unter besonderen Umständen ohne „Mögen“ stattfinden. Im Laufe einer Suchtentwicklung beim Menschen kann es dazu kommen, dass ein Süchtiger die Droge immer mehr „will“, sie aber aufgrund der negativen körperlichen und sozialen Konsequenzen jedoch immer weniger „mag“ (Berridge, 2007).

Die „Anreiz-Salienz“ wird dieser Hypothese zufolge als eine konditionierte Motivation angesehen, die einem Stimulus zugeordnet und durch diesen abgerufen werden kann. Dies entspricht damit der „Wollen“-Komponente einer Belohnung (Berridge and Robinson, 1998, 2003; Berridge, 2007). Wenn ein Tier eine Belohnung „will“, ist es bereit für den Erhalt der Belohnung zu arbeiten. Anhand der Geschwindigkeit des Zuwendens zur Belohnung bzw. dem Grad der Arbeit, den ein Tier zu leisten bereit ist, lässt sich erkennen wie sehr diese Belohnung „gewollt“ ist. Die Zuordnung von „Wollen“ zu einer Belohnung hängt dabei im Wesentlichen von der Integration zweier Komponenten ab: a) der erlernten Bedeutung des belohnungsprädiktiven CS+ und b) dem physiologischen Zustand, in dem sich der Organismus befindet (Hunger, Durst, etc.).

Die Anreiz-Salienz-Generierung findet in 3 Phasen statt. In der ersten Phase wird einer hedonischen Belohnung ein „Wollen“-Wert zugeordnet. Etwas das ein Tier „mag“, „will“ es auch. Die zweite Phase entspricht einer klassischen Konditionierung. Zu Beginn wird der zunächst neutrale Stimulus zu einem CS+, welcher zuverlässig eine Belohnung vorhersagt. Jeder erneute Kontakt mit der Belohnung führt danach zu einer Aktualisierung des Wertes und damit des „Wollens“ der Belohnung. Zwei eingängige Beispiele sind Sättigung bzw. Hunger; Sättigung erniedrigt den „Wollen“-Wert, wohingegen Hunger ihn ansteigen lässt. Dabei ist die Anhebung bzw. Senkung eines „Wollen“-Wertes auf die jeweilige Belohnung hin sehr spezifisch, d.h. es findet kein allgemein erhöhtes „Wollen“ auf alle Belohnungen statt, wenn man Hunger hat. Somit ist die Aktualisierung des „Wollen“-Wertes eine zentrale Komponente der Anreiz-Salienz-Generierung. In der dritten und letzten Phase wird dem CS+ selbst ein „Wollen“-Wert zugeschrieben, so dass bereits der Anblick eines CS+ ausreicht, um bei einem Tier das „Wollen“ einer Belohnung auszulösen. In bestimmten Fällen kann dieses „Wollen“ sogar auf den CS+ selbst gerichtet sein. Solche Reaktion findet man z.B. beim sogenannten *autoshaping*, bei der eine Konditionierung auch auf den CS+ hin bewirkt wird. Tauben und Ratten, die auf diese Weise konditioniert werden zeigen häufig neben einer Bewegung zum CS+ hin auch konsumatorische Verhaltensweisen gegenüber dem Stimulus (Nagen bzw. Picken an einem Stimuluslicht oder Hebel etc.) (Tomie, 1996; Uslaner et al., 2006). Die zentrale Annahme der Anreiz-Salienz-Hypothese besteht darin, dass das „Wollen“

durch DA vermittelt wird, „Mögen“ oder „Lernen“ jedoch nicht durch DA reguliert wird (Berridge and Robinson, 1998; Berridge, 2007).

Ein überaus geeignetes Modell, um die postulierte Beteiligung von DA am „Wollen“ einer Belohnung zu untersuchen, stellt der PIT da (siehe Abschnitt 5.1.3). In einem solchen Versuch ist es möglich, das durch den CS+ in der Transferphase ausgelöste „Wollen“ unabhängig vom „Lernen“ und „Mögen“ einer Belohnung zu untersuchen. Denn das „Lernen“ hat bereits in den ersten beiden Phasen des Trainings stattgefunden und das „Mögen“ hat keinen Einfluss, weil der entscheidende Transfertest in Extinktion, d.h. ohne eine Belohnungsgabe, stattfindet. In einem ersten Versuch zur Untersuchung der Rolle von DA beim „Wollen“ konnte eindrucksvoll nachgewiesen werden, dass durch eine Amphetamin-Gabe direkt vor dem Transfertest der PIT-Effekt, d.h. die Erhöhung der Hebeldruckrate während der Darbietung des CS+, im Vergleich zu einer Kontrollgruppe, die kein Amphetamin bekommen hatte, signifikant erhöht war (Wyvell and Berridge, 2000) (Abb.24). Dies deutete daraufhin, dass DA die Stärke mit der ein Tier auf den „Wollen“-auslösenden CS+ reagiert, erhöht.

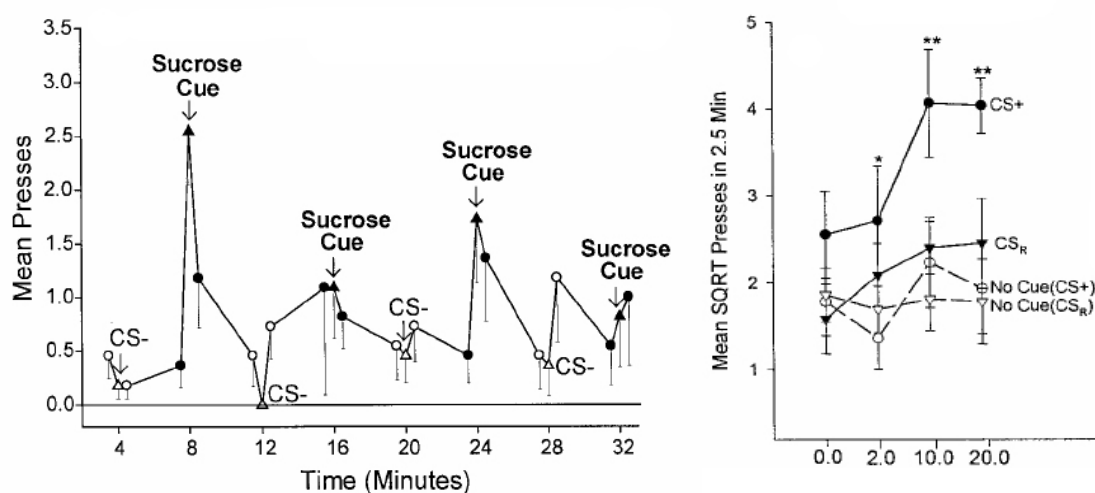


Abb.24 Spezifität des CS+ ausgelösten „Wollens“. Links: Alleinige Präsentation eines Sucrose-prädiktiven CS+ (sucrose cue) löst ein verstärktes Hebeldrücken aus, während ein nichtkonditionierter Kontrollstimulus (CS-) keine Erhöhung der Hebeldruckrate bewirkt. Rechts: Die Hebeldruckrate in Anwesenheit des CS+ ist höher als in Anwesenheit des Kontrollstimulus (CS_R), sowie in Abwesenheit der Stimuli (No Cue CS+; No Cue CS_R) (modifiziert nach Wyvell and Berridge, 2000).

Dies bestätigte sich in einem weiteren Versuch, bei dem die Tiere nach den beiden Trainingsphasen 6 Tage lang einer Amphetamin-Sensitivierung unterzogen wurden. Nach einer Abstinenzphase von weiteren 10 Tagen konnte im anschließenden Transfertest eine deutliche Erhöhung des PIT-Effekts gegenüber einer Kontrollgruppe festgestellt werden (Wyvell and Berridge, 2001). Der erhöhte PIT-Effekt der sensitivierten Tiere war in diesem

zweiten Versuch ähnlich hoch wie bei den Tieren des ersten Versuches, die direkt vor dem Test eine Amphetamin-Injektion bekommen hatten (Wyvell and Berridge, 2001). Das besondere an beiden Versuchen ist zudem, dass die erhöhte Hebeldruckrate im Transfertest nur dann auftrat, wenn der CS+ eingespielt wurde.

Neben dem Modell des PIT haben Untersuchungen an anderen Modellen dazu beigetragen, die Hypothese von der DA-abhängigen Vermittlung des „Wollens“ einer Belohnung zu stärken. So konnte in einem Modell mit hyperdopaminergen DAT-Mäusen festgestellt werden, dass diese Tiere bereit waren mehr für eine Belohnung zu arbeiten (Cagniard et al., 2006), schneller ein T-Labyrinth durchquerten, um eine Belohnung zu erhalten (Pecina et al., 2003), sowie ein erhöhtes konditioniertes Verhalten in einer Aufgabe mit instrumentellen und klassischen Komponenten aufwiesen (Yin et al., 2006b). Da weder das „Mögen“ (Pecina et al., 2003) noch das „Lernen“ (Cagniard et al., 2006; Yin et al., 2006b) bei diesen transgenen Tieren erhöht war, deuten die Ergebnisse insgesamt darauf hin, dass der permanent erhöhte DA-Spiegel aufgrund der DAT-Modifikation dazu führt, selektiv das „Wollen“ einer Belohnung zu erhöhen. Die Ergebnisse aus dem DAT-Modell konnten in einem weiteren transgenen Mausmodell, dem DD-Modell, bestätigt werden. DD-Mäuse können, wie weiter oben bereits beschrieben, kein Dopamin synthetisieren. Durch eine Koffein-Injektion kann man diese Mäuse jedoch motorisch aktivieren ohne ihr DA-System zu nutzen. Mithilfe dieses Mausmodells konnte mehrfach nachgewiesen werden, dass DA weder zum „Mögen“ einer Belohnung noch zum „Lernen“ benötigt wird (Cannon and Palmiter, 2003; Hnasko et al., 2005; Robinson et al., 2005). Lediglich die Geschwindigkeit mit der sich ein Tier der Belohnung annährte, war bei DD-Mäusen im Vergleich zu Kontrolltieren deutlich reduziert; ein weiterer Hinweis, dass DA die Motivation bei der Verhaltenssteuerung eine Belohnung zu „wollen“ beeinflusst (Robinson et al., 2005).

Zusammengenommen lässt sich somit feststellen, dass sich trotz der intensiven Untersuchungen zur Rolle von DA in den letzten Jahrzehnten bis heute keine einheitlich und vollkommen akzeptierte Hypothese durchgesetzt hat. Während die Anhedonie-Hypothese von Wise (1980, 1982, 1985) als widerlegt gilt, sind sowohl die „Fehler-Vorhersage-Hypothese“ als auch die „Anreiz-Salienz-Hypothese“ bedeutende Konzepte, die jede für sich eine zentrale Funktion von DA im ZNS beschreibt. Die „Anreiz-Salienz-Hypothese“ weist DA eine modulatorische und auf die Motivation bezogene Funktion zu, bei der bestimmte Stimuli mit Salienz belegt werden, was dazu führt, dass diese Stimuli besonders stark „gewollt“ werden. Dahingegen steht in der „Fehler-Vorhersage-Hypothese“ DA als Lernsignal im Mittelpunkt und scheint eine Art Melderfunktion zu besitzen, durch die angezeigt wird, ob eine Verhaltensänderung notwendig ist, um ein bestimmtes Ziel zu erreichen.

5.8 Zielsetzung und Fragestellung

Zielgerichtetes Verhalten beruht auf Vorhersagen, welche Verhaltensweisen das Erreichen von Zielen, wie z.B. bestimmten Futterbelohnungen, bedingen. Dazu muss ein Organismus die ursächlichen Beziehungen zwischen Verhalten und erzielter Belohnung, sowie Änderungen dieser Beziehungen rasch detektieren. Diese Verhaltensflexibilität ist essentiell, um sich an wechselnde Umweltbedingungen anzupassen; sie sichert das Überleben und die Fortpflanzung des Individuums und erfüllt fundamentale biologische Funktionen im Rahmen der Evolution. Zielgerichtete Verhaltensweisen und die beteiligten Lernprozesse werden maßgeblich durch den assoziativen cortico-striatalen Schaltkreis gesteuert. Vor allem zwei ihrer Schlüsselstrukturen, der PL und das pDMS tragen zum Erlernen und zur Ausführung zielgerichteter Verhaltensweisen bei. Beide Strukturen erreichen dopaminerge Projektionen, die Teil des mesolimbischen und mesostriatalen DA-Systems sind und ihren Ursprung in der VTA und der SNc haben. Es ist zwar bekannt, dass DA-Neurone Lernvorgänge unterstützen, z.B. in dem sie Signale übermitteln, die den Lernfortschritt kodieren („*prediction error*“), jedoch ist die Rolle von DA im assoziativen cortico-striatalen Schaltkreis bei der Modulation des zielgerichteten Verhaltens unklar. Ist DA nötig um zielgerichtete Verhaltensweisen nach der Definition von Dickinson und Balleine (1994; 1998) zu ermöglichen? Wenn ja, in welchen Arealen übt DA diese Funktion aus? Eine Antwort auf diese Fragen würde das Verständnis von den Funktionen, die DA in dem assoziativen cortico-striatalen Schaltkreis ausübt, erheblich verbessern. Zudem wäre dies ein erster Schritt herauszufinden, welche Neurotransmitter an der Steuerung des zielgerichteten Verhaltens beteiligt sind.

Daher war es das Ziel dieser Arbeit die Rolle von DA beim zielgerichteten Verhalten innerhalb des assoziativen cortico-striatalen Schaltkreises zu untersuchen. Dafür wurden die von Balleine und Dickinson (1994; 1998) entwickelten Testprotokolle zur Untersuchung des zielgerichteten Verhaltens herangezogen. In drei aufeinanderfolgenden Experimenten wurde überprüft, ob DA für die Vermittlung einer Ergebnisdevaluation und einer Kontingenzdegradation in unterschiedlichen Arealen des assoziativen cortico-striatalen Schaltkreises verantwortlich ist. Im ersten Experiment dieser Arbeit wurde mittels einer 6-OHDA-Läsion die Bedeutung der dopaminergen Signalübertragungsvorgänge im PL und im pDMS beim Lernen zielgerichteter Verhaltensweisen erfasst. Im zweiten Experiment wurde die mögliche Beteiligung von DA im pDMS genauer untersucht, wobei hier eine mögliche funktionelle Verbindung des EC mit dem pDMS im Mittelpunkt stand. Im dritten und abschließenden Experiment wurde überprüft, ob DA im NAc core eine wichtige Funktion in der Steuerung des zielgerichteten Verhaltens einnimmt.

6. Durchgeführte Arbeiten

6.1 Übersicht

6.1.1 Experiment 1: The Role of Dopamine in the Prelimbic Cortex and the Dorsomedial Striatum in Instrumental Conditioning

Seiten: 81 - 91

6.1.2 Experiment 2: Disconnection of the entorhinal cortex and the dorsomedial striatum impairs the sensitivity to instrumental contingency degradation

Seiten: 92 - 100

6.1.3 Experiment 3: The role of nucleus accumbens dopamine in outcome encoding in instrumental and Pavlovian conditioning

Seiten: 101 - 108

Cerebral Cortex Advance Access published August 12, 2009

Cerebral Cortex
doi:10.1093/cercor/bhp151

The Role of Dopamine in the Prelimbic Cortex and the Dorsomedial Striatum in Instrumental Conditioning

Bjoern Lex and Wolfgang Hauber

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

The prelimbic (PL) region of the prefrontal cortex and the posterior subregion of the dorsomedial striatum (pDMS) are components of a corticostriatal circuit subserving instrumental learning. Here, we examined whether dopamine (DA) signals conveyed to the PL and pDMS are critical for instrumental learning. Rats with 6-hydroxydopamine or vehicle infusion into the PL and pDMS were trained to press 2 levers, either for food pellets or a sucrose solution. Thereafter, we tested whether the animals were sensitive 1) to a selective degradation of 1 of 2 outcomes using a specific satiety procedure and 2) to a selective degradation of 1 of 2 contingencies controlling instrumental behavior. Rats with PL DA depletion displayed a reduced rate of lever presses but appeared to be sensitive to outcome devaluation and contingency degradation. Thus, PL DA seems to modulate lever pressing but does not support instrumental conditioning. In contrast, rats with pDMS DA depletion had intact response rates and were sensitive to selective outcome devaluation; however, they showed a reduced sensitivity to contingency degradation. Therefore, pDMS DA signaling seems not to be involved in maintaining lever pressing but instead contributes to instrumental conditioning by supporting the detection of causal relationships between an action and its consequences.

Keywords: instrumental conditioning, posterior dorsomedial striatum, prelimbic cortex, rat

Introduction

Evidence from rodent studies suggests that in instrumental conditioning rats encode the contingency between their actions and the incentive value of the outcomes (Dickinson and Balleine 1994; Balleine and Dickinson 1998). Hence, posttraining devaluation of 1 of 2 outcomes contingent upon distinct actions selectively reduced performance of the action that leads to the devalued outcome. Likewise, posttraining degradation of 1 of 2 action-outcome contingencies selectively reduced performance of the action that is no longer causal to the delivery of a particular reward. Sensitivity to outcome devaluation and contingency degradation are key features of goal-directed behavior (Dickinson and Balleine 1994; Balleine and Dickinson 1998). Behavioral studies in rodents suggest that the prelimbic region of the prefrontal (PL) cortex and the posterior subregion of the dorsomedial striatum (pDMS) may form a corticostriatal circuit subserving instrumental learning. For instance, cell body lesions of the PL and the pDMS produced an insensitivity to outcome devaluation and contingency degradation (Balleine and Dickinson 1998; Corbit and Balleine 2003; Killcross and Coutureau 2003; Yin et al. 2005). Likewise, studies in humans implicated the PL cortex and the dorsomedial striatum in encoding the causal effects of actions,

thereby indicating that brain systems involved in controlling goal-directed action seem to be highly conserved across mammalian species (Tanaka et al. 2008).

Dopamine (DA) plays a crucial role in modulating synaptic plasticity in corticostriatal pathways and impact on the temporal coordination of activity in corticostriatal pathways (Wickens et al. 2007). Furthermore, DA signals conveyed to the target areas of DA fibers such as striatum and PL cortex, encode a prediction error (Tobler et al. 2005; Schultz 2007a), a teaching signal that may be critical for instrumental conditioning. Consistent with this notion, electrophysiological recordings revealed that the activity of DA neurons is modulated by the value of upcoming actions (Morris et al. 2006; Roesch et al. 2007). Furthermore, reinstatement of DA signaling in the dorsal striatum by viral gene transfer restored instrumental conditioning in DA depleted mice (Robinson et al. 2007). However, little is known about the contribution of DA signals in different target areas of midbrain DA neurons in controlling goal-directed behavior.

Here, we investigated the role of DA in the PL and pDMS in goal-directed behavior. Rats subjected to 6-hydroxydopamine (OHDA) lesions of the PL and the pDMS, respectively, were tested for their sensitivity to outcome devaluation and contingency degradation. If DA in the PL and pDMS is important for the acquisition of action-outcome contingencies underlying goal-directed behavior, then, DA depletion in either area should render rats insensitive to outcome devaluation and contingency degradation.

Materials and Methods

Experiment 1: Effect of PL DA Depletion on Outcome Devaluation and Contingency Degradation

Subjects and Apparatus

The subjects were 18 naive male Lister-hooded rats (Harlan-Winkelmann, Borcheln, Germany) weighing between 200 and 230 g upon arrival. The rats were housed in groups of 4 in transparent plastic cages (55 × 39 × 27 cm, Ferplast, Nürnberg, Germany) in a temperature- and humidity-controlled room (20 ± 2 °C, 50–60%) on a 12:12-h light-dark cycle (lights on at 7.00 AM). Throughout the experiment the rats had ad libitum access to water. Standard laboratory maintenance chow (Altromin, Lage, Germany) was given ad libitum for 2 days after arrival, after which food was restricted to 15 g per animal per day to maintain them at ~85% of their free-feeding weight. All animal experiments were conducted according to the German law on animal protection and approved by the proper authorities.

Training and testing took place in identical operant chambers (24 × 21 × 30 cm, Med Associates, St Albans, VT) housed within sound attenuating cubicles. Each operant chamber was equipped with a pellet dispenser that delivered 45-mg Noyes Pellets (formula A/I; Sandown Scientific, Hampton, Middlesex, UK) into a dual pellet/liquid cup

receptacle which was positioned in the middle of the right wall and a syringe pump that delivered 0.1 mL of a 20% sucrose solution into the same receptacle. Each chamber also contained 2 retractable levers located on either side of the dual pellet/liquid cup receptacle. A 24 V/3 W houselight mounted on the top center of the opposite wall illuminated the chambers and an electric fan integrated into the cubicle provided a constant background noise (~70 dB). A computer with the PC program MED-PC IV controlled the equipment and recorded the data.

Surgery

After pretreatment with atropine (0.2 mg/kg intraperitoneal [i.p.]; WDT, Garbsen, Germany), the animals were anaesthetized with sodium pentobarbital (60 mg/kg i.p.; Medial GmbH, Hallbergmoos, Germany) and xylazine (4 mg/kg intramuscularly [i.m.]; Bayer AG, Leverkusen, Germany) before being placed in a stereotaxic frame (Kopf Instruments, Tujunga, CA). The skull surface was exposed and 2 small holes were drilled bilaterally above the PL. Animals subjected to DA depletion ($n = 9$) received bilateral intra-PL injections of 4 μ g 6-OHDA hydrobromide (Sigma Aldrich, Steinheim, Germany) in 0.4 μ L saline containing 0.01% ascorbic acid (Sigma Aldrich) at the following coordinates using a 1- μ L Hamilton syringe: anterior-posterior (AP) +3.3; mediolateral (ML) \pm 0.7; dorsoventral (DV) -3.5 with the tooth bar -3.3 mm below the interaural line. Coordinates were determined from the atlas of Paxinos and Watson (2007). Sham controls ($n = 9$) received injections of 0.4- μ L vehicle, that is, saline containing 0.01% ascorbic acid, at the same coordinates. The infusion time was 2 min and the needle was left in place for an additional 5 min to allow for diffusion. Animals were allowed to recover for at least 7 days before behavioral testing.

Procedure

The behavioral procedure was similar to a protocol by Corbit et al. (2003). Unless otherwise stated each training session lasted for 20 min, began with the illumination of the houselight as well as the insertion of the appropriate lever and ended with the retraction of the lever and the turning off of the houselight.

Magazine and lever-press training First, all animals received 2 magazine training sessions in which both outcomes (pellets and 20% sucrose solution) were delivered on independent random-time schedules (RT-60) with both levers withdrawn. Thereafter, lever-press training was started; for half of the animals of each lesion group pressing the left lever earned one pellet and pressing the right lever earned 0.1 mL 20% sucrose solution. The other half received the opposite action-outcome pairings. All animals received 2 daily lever-press training sessions in which only one lever and one outcome was available. After the first training session, there was at least a 2-h break before the second training session with the other lever-outcome pairing began. The order of the pellet and sucrose sessions was alternated each day. Lever-press training was conducted for 11 consecutive days with progressively leaner random ratio (RR-) schedules of reinforcement, except for the first day in which a continuous reinforcement (CRF) schedule was used (Day 1 = CRF, $P(O/A) = 1.0$; Day 2-5 = RR-5, $P(O/A) = 0.2$; Day 6-8 = RR-10, $P(O/A) = 0.1$; Day 9-11 = RR-20, $P(O/A) = 0.05$).

Outcome devaluation test in extinction. In these experiments, transparent plastic feeding cages (42 \times 26 \times 18 cm, Ferplast) were used for prefeeding. To familiarize animals to these cages, they were placed into the cages immediately before their training session for 20 min on the last 3 days of lever-press training (RR-20). On the day after the last instrumental training session, all animals were given 1-h ad libitum access to 1 of the 2 outcomes in the feeding cages (1 animal per cage). Half of the animals of each lesion group received pellets (in a glass bowl) and the other half received the sucrose solution (in a drinking bottle). Immediately after prefeeding, the rats were placed into the operant chambers and a 10-min choice extinction test was conducted, in which both levers were inserted but no outcomes were given. On the next day, the rats received 2 retraining session (RR-20; one session on each lever) after which they were given a second devaluation test.

This second devaluation test was identical to the first one except that those animals that had received free access to the pellets on the first test were given free access to the sucrose solution and "vice versa."

Outcome devaluation test under reward. A potential failure to show a selective devaluation effect in extinction could have several reasons, that is, the encoding of the value of the different outcomes could be impaired or, alternatively, the ability to remember and discriminate the 2 outcomes. Therefore, sensitivity to outcome devaluation was also tested with rewards being given. An intact sensitivity to outcome devaluation in the rewarded test suggests that the rat's ability to remember and discriminate the outcomes is not impaired. A retraining session (RR-20; one session on each lever) was conducted on the day after the second devaluation test in extinction. On the following day, rats received a third devaluation test in which half of the animals of each group received pellets in a glass bowl and the other half received sucrose solution in a drinking bottle. This test was identical to the first devaluation test except that responding on the levers was rewarded, that is, each outcome was delivered on an independent RR-20 schedule.

Contingency degradation training On the 2 days following the rewarded devaluation test, rats received retraining sessions (RR-20; one session on each lever), after which the contingency training began. To assess whether the rats were sensitive to a degradation of the instrumental contingency, a protocol was applied in which the same outcome earned by pressing 1 of the 2 levers was additionally given in a noncontingent manner with the same probability in each second without a response, that is, the probability of outcome delivery by pressing a lever was $P(O/A) = 0.05$ and the probability of outcome delivery by not pressing a lever was $P(O/no A) = 0.05$. Thus the experienced probability of outcome delivery was the same regardless if the animal performed that action or not, a protocol which should degrade this action-outcome association (for details, see Balleine and Dickinson 1998). Because the animals received 2 training sessions each day (one with each action-outcome pairing) and the outcome given noncontingently was the same in both sessions, one action-outcome association was degraded, whereas the other action-outcome association was not degraded. For half of the animals of each lesion group, the lever-pellet contingency was degraded (i.e., pellets were the noncontingently given outcome), whereas for the other half, the lever-sucrose contingency was degraded. The rats received two 30-min training sessions each day (one on each lever) and had a break of at least 2 h between the 2 sessions. The order of the 2 sessions was alternated each day and training continued for 6 days.

Contingency degradation test in extinction. Subsequently, we tested whether the effect of contingency degradation during training persisted in a test conducted in extinction. Therefore, on the day after the last contingency training session a 10 min-choice extinction test was given. Both levers were inserted but no rewards were given.

Immunohistochemistry

Tyrosinehydroxylase (TH) immunohistochemistry was used to assess the exact location and extent of the loss of DA terminals within the PL cortex. After the 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 μ m; Microm HM550, Microm GmbH, Walldorf, Germany) in the region of the PL. 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) in TBS containing 0.2% Triton X-100 (Sigma Aldrich; TBS-T). Slices were incubated overnight at 4 $^{\circ}$ C in a primary antibody (mouse, anti-TH, 1:7500 in TBS-T containing 4% NHS; Immunostar, Hudson, WI), then washed in TBS-T (3 \times 10 min) and incubated in a secondary antibody (horse, antimouse, 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 × 10 min), and stained with 3,3'-diaminobenzidine (DAB Substrate Kit, Vector Laboratories). The brain slices were then washed in TBS (3 × 10 min), mounted on coated slides, dried overnight, dehydrated in ascending alcohol concentrations, treated with xylene, and finally coverslipped using DePex (Serva, Heidelberg, Germany). To determine the size and placement of the lesions, the TH immunoreactivity was analyzed under a microscope with reference to the atlas of Paxinos and Watson (2007).

Experiment 2: Effect of pDMS DA Depletion on Outcome Devaluation and Contingency Degradation

Unless otherwise noted, the same procedures as in Experiment 1 were used.

Subjects and Apparatus

Subjects were 29 naive male Lister-hooded rats (Harlan-Winkelmann) weighing between 200 and 230 g upon arrival.

Surgery

After pretreatment with atropine (0.2 mg/kg i.p.; WDT), the animals were anaesthetized with sodium pentobarbital (60 mg/kg i.p.; Medial GmbH) and xylazine (4 mg/kg i.m.; Bayer AG) before being placed in a stereotaxic frame (Kopf Instruments). The skull surface was exposed and 2 small holes were drilled bilaterally above the pDMS. Animals subjected to DA depletion ($n = 15$) received bilateral intra-pDMS injections of 6 μg 6-OHDA hydrobromide (Sigma Aldrich) in 0.4 μL saline containing 0.01% ascorbic acid (Sigma Aldrich) at the following coordinates using a 1- μL Hamilton syringe: AP -0.4; ML ± 2.6 ; DV -4.5 with the toothbar -3.3 mm below the interaural line. Coordinates were determined from the atlas of Paxinos and Watson (2007). Sham controls ($n = 14$) received injections of 0.4 μL vehicle, that is, saline containing 0.01% ascorbic acid, at the same coordinates. The infusion time was 2 min and the needle was left in place for an additional 5 min to allow for diffusion. Animals were allowed to recover for at least 7 days before behavioral testing.

Procedure

Magazine and lever-press training The instrumental training procedure was identical to Experiment 1 except that training was given on 10 rather than 11 consecutive days with the following schedule: Day 1 = CRF, P (O/A) = 1; Day 2-4 = RR-5, P (O/A) = 0.2; Day 5-7 = RR-10, P (O/A) = 0.1; Day 8-10 = RR-20, P (O/A) = 0.05.

Results

Experiment 1: Effect of PL DA Depletion on Outcome Devaluation and Contingency Degradation

Histology

The lesion placements were assessed by reconstructing the damaged areas on standard stereotaxic atlas templates from Paxinos and Watson (2007). TH-positive fibers in the PL were abundant in sham-lesioned rats ($n = 9$) but rare in rats with 6-OHDA lesions ($n = 9$). The loss of TH-positive fibers was relatively consistent across all rats with 6-OHDA lesions; the areas which were nearly devoid of TH immunoreactivity appeared from +4.2 to +2.2 relative to bregma and were restricted predominantly to the PL with occasional and minimal damage to the anterior cingulate cortex and the infralimbic cortex (Fig. 1). No evidence for a subcortical loss of TH-positive fibers was found. Consistent with this description, Pycock et al. (1980) demonstrated that PL 6-OHDA infusion had relatively restricted effects around the infusion site and did not affect

adjacent areas. Furthermore, PL 6-OHDA infusions of comparable concentrations (4-6 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$) markedly reduced DA levels by up to 80% (Pycock et al. 1980; Bubser 1994; McGregor et al. 1996) and produced cognitive impairments in maze tasks (Bubser and Schmidt 1990) and operant tasks (Kheramin et al. 2004). Likewise, in monkeys multiple injections of 6-OHDA (6 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$) induced a profound PL DA depletion (60-80%) and disrupted performance in a spatial delayed responses test (Roberts et al. 1994). Moreover, Bubser and Schmidt (1990) demonstrated that PL 6-OHDA injection produced a relatively persistent DA depletion; therefore recovery of DA terminals seems unlikely. Thus, it seems unlikely that negative results in animals with PL DA depletions reflect learning-related plasticity accounted for by minimal amounts of residual DA. In addition, consideration of the TH immunoreactivity presented in Figure 1 illustrates that almost no DA terminals remained in the PL.

Lever-Press Training

After recovery from surgery, all animals received instrumental training on both levers, one delivering food pellets, the other sucrose solution. Sham controls and animals with PL DA depletion both showed increased response rates, as the ratio schedule parameter increased across consecutive training days (Fig. 2). However, relative to sham controls, performance of animals with PL DA depletion was reduced. An analyses of variance (ANOVA) with repeated measures revealed a significant main effect of group ($F_{1,16} = 5.01$, $P < 0.05$), a main effect of training day ($F_{10,160} = 73.48$, $P < 0.001$), and a significant interaction of group × training day ($F_{10,160} = 4.43$, $P < 0.001$).

Outcome Devaluation Test in Extinction

After the specific satiety devaluation procedure, both groups displayed a selective devaluation effect, that is, fewer responses were emitted to the lever that in training delivered the now devaluated outcome (Fig. 3A). This observation was confirmed by the statistical analysis. An ANOVA with repeated measures revealed a significant effect of devaluation ($F_{1,16} = 26.74$, $P < 0.001$), but no effect of group ($F < 1$, not significant [n.s.]), and no interaction of lesion × devaluation ($F < 1$, n.s.).

Outcome Devaluation Test under Reward

Thereafter, the sensitivity of the animals to outcome devaluation was tested with the 2 outcomes being delivered. Results demonstrate a devaluation effects in both groups, that is, they emitted fewer responses to the lever for which the outcome has been devaluated relative to the other (Fig. 3B). As animals were rewarded, lever-press rates in both groups were substantially higher relative to those in the outcome devaluation test performed in extinction. In addition, the overall performance of animals with PL DA depletion was lower. A repeated measures ANOVA revealed a significant effect of group ($F_{1,16} = 7.49$, $P < 0.05$), a significant effect of devaluation ($F_{1,16} = 9.69$, $P < 0.01$) but no group × devaluation interaction ($F < 2.5$, n.s.).

Contingency Degradation Training

Then, performance was tested in sessions in which the contingency between one action and outcome was selectively degraded, whereas the other action-outcome contingency was not altered. Results demonstrated a selective contingency degradation effects in both groups. As already observed during training and outcome devaluation testing, overall

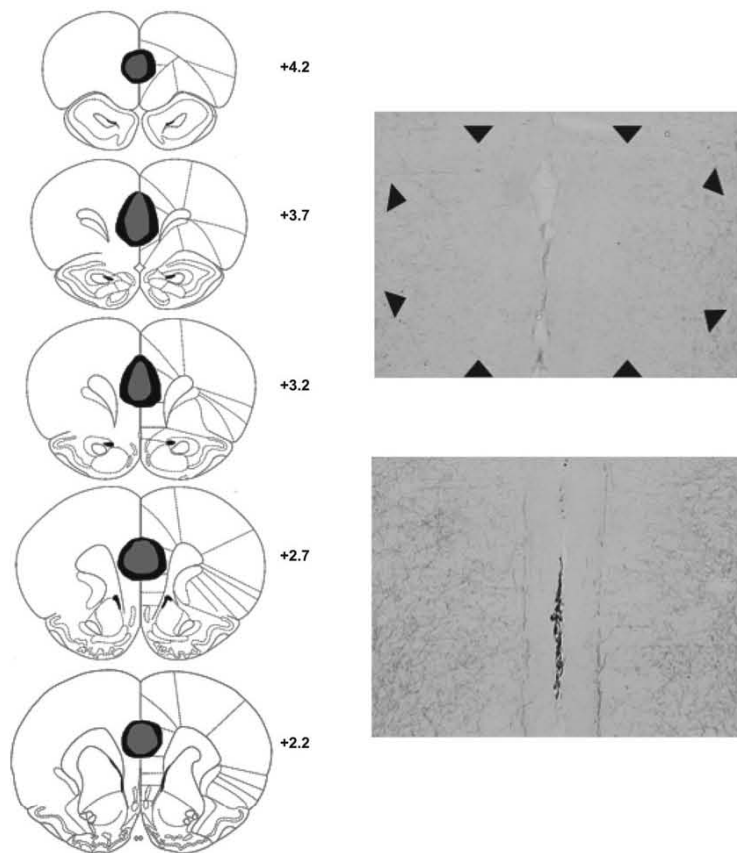


Figure 1. Localization and extent of PL DA depletions. Left panel. Schematic illustration of PL DA depletions in coronal sections; gray areas represent the smallest extent and black areas the largest extent of regions that were nearly devoid of tyrosine hydroxylase-immunoreactive fibers. Numbers indicate distance from bregma in mm. Right panel. Representative photomicrographs of tyrosine hydroxylase-immunoreactive fibers in rats with 6-hydroxydopamine (top) and vehicle (bottom) infusions into the PL. Photomicrographs are from a PL region marked by the box in the left panel.

lever-press rates in animals with PL DA depletion were somewhat lower (Fig. 4A). A repeated measures ANOVA revealed a significant effect of degradation ($F_{1,16} = 20.8, P < 0.001$). In addition, there was a tendency for a group ($F_{1,16} = 3.65, P = 0.074$) and a group \times degradation interaction ($F_{1,16} = 3.72, P = 0.071$) that did not reach significance. Furthermore, there was a day \times degradation interaction ($F_{5,80} = 7.92, P < 0.001$) but no day \times degradation \times group interaction ($F < 2, n.s.$) indicating the contingency degradation effect became greater over the course of the training in both groups. It is important to note that the trend for a group \times degradation interaction might not reflect an insensitivity to contingency degradation in animals with PL DA depletion but primarily resulted from their reduced overall lever-press rates. A further analysis of the contingency degradation effects by planned contrasts for each training day confirmed this description. Animals with DA PL depletion showed significant contingency degradation effects on a number of training days (Fig. 4A). Correspondingly, animals with PL DA depletion were sensitive to the contingency degradation in the subsequent test performed in extinction.

Contingency Degradation Test in Extinction

When tested in extinction, both groups demonstrated a degradation effect (Fig. 4B). A repeated measures ANOVA indicated

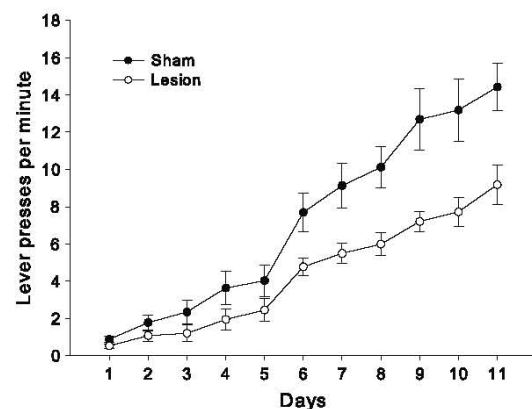


Figure 2. Lever training in animals with PL DA depletion and sham controls. Mean lever presses per minute averaged for both actions. Ratio schedules increased across training days as follows: Day 1 = CRF, Days 2-5 = RR-5, Days 6-8 = RR-10, Days 9-11 = RR-20. Lever-press rates in animals with PL DA depletion were lower than in sham controls ($P < 0.05$, ANOVA).

a significant effect of degradation ($F_{1,16} = 19.23, P < 0.001$), but no effect of group ($F < 2.5, n.s.$) and no group \times degradation interaction ($F < 3.5, n.s.$).

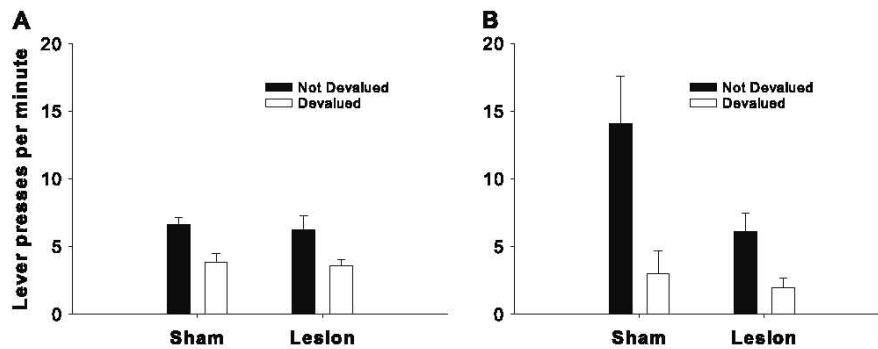


Figure 3. Outcome devaluation in animals with PL DA depletion and sham controls. (A) Extinction test. Mean lever presses per minute on the devalued and not devalued lever during the 10-min choice extinction test, after one of the outcomes was devalued. Both levers were inserted but no outcomes were given. An ANOVA revealed a significant effect of devaluation ($P < 0.001$) but no group \times devaluation interaction. (B) Rewarded test. Mean lever presses per minute on the devalued and not devalued lever during the 10-min choice rewarded test, after one of the outcomes was devalued. Both levers were inserted, and the respective outcomes were delivered under a RR-20 schedule. An ANOVA indicated a significant effect of devaluation ($P < 0.01$) and group ($P < 0.05$) but no group \times devaluation interaction.

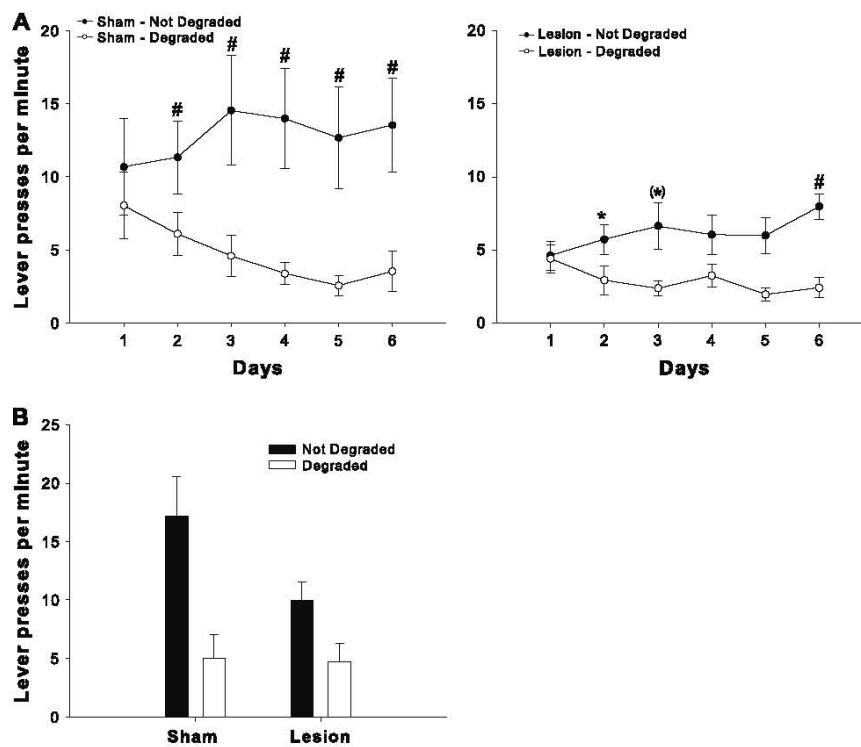


Figure 4. Contingency degradation in animals with PL DA depletion and sham controls. (A) Training. Mean lever presses per minute during contingency degradation training (left panel: sham group; right panel: lesion group). One action-outcome contingency was degraded by unpaired delivery of an outcome that was the same as that was earned by pressing the degraded lever. Contingency degradation effects were analyzed by an ANOVA and planned contrasts for each training day ($*P < 0.05$, $\#P < 0.01$, $(*)P = 0.06$). (B) Extinction test. Mean lever presses per minute during the 10 min-choice extinction test. Both levers were inserted but no outcomes were given. An ANOVA indicated a significant effect of degradation ($P < 0.001$) but no group \times degradation interaction.

Experiment 2: Effect of pDMS DA Depletion on Outcome Devaluation and Contingency Degradation

Histology

Figure 5 provides a schematic representation of the extent of striatal damage in animals with 6-OHDA lesions of the pDMS. The data from 2 animals of the pDMS-lesion group had to be excluded because of the absence of any detectable lesion in the target area. Furthermore, one animal in each group had to be

excluded due to very low lever-press rates during training (see below). The final group sizes were thus as follows: sham-lesioned rats ($n = 13$) and 6-OHDA lesioned rats ($n = 12$). TH-positive fibers in the pDMS were abundant in sham-lesioned rats but rare in rats with 6-OHDA lesions. Loss of TH-positive fibers in the pDMS appeared from about +0.2 to -0.8 relative to bregma with the maximum extension at around -0.4 mm relative to bregma. The lesions never extended more than 3.2 mm laterally from the midline indicating an intact DA

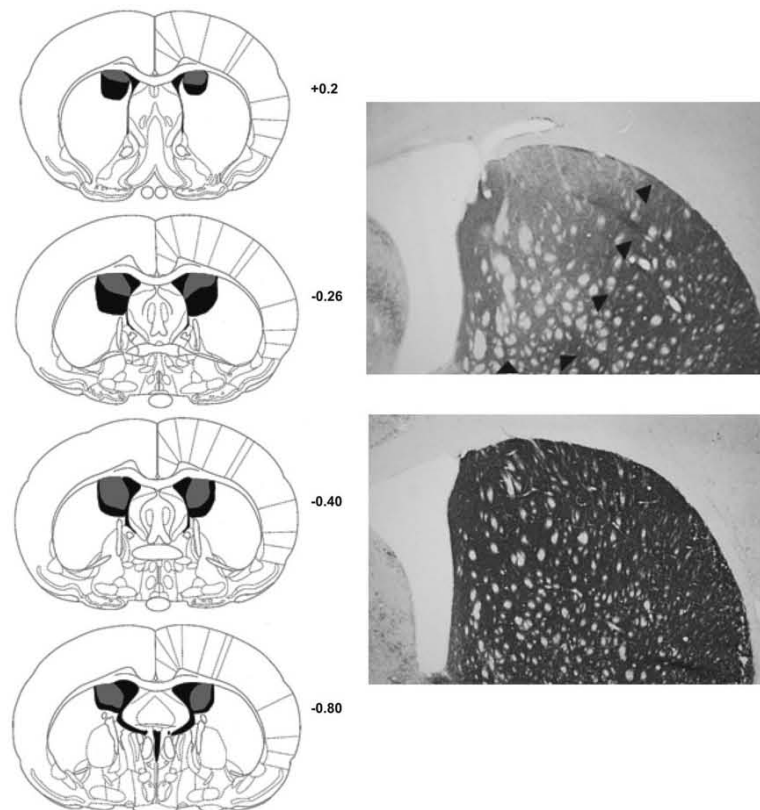


Figure 5. Localization and extent of pDMS DA depletions. Left panel. Schematic illustration of pDMS DA depletions in coronal sections; gray areas represent the smallest extent and black areas the largest extent of regions that were nearly devoid of tyrosine hydroxylase-immunoreactive fibers. Numbers indicate distance from bregma in mm. Right panel. Representative photomicrographs of tyrosine hydroxylase-immunoreactive fibers in rats with 6-hydroxydopamine (top) and vehicle (bottom) infusions into the pDMS.

innervation of the dorsolateral striatum. Moreover, lesions never extended beyond +0.2 mm anterior to bregma indicating an intact DA innervation of the anterior dorsomedial striatum. No evidence of any damage outside the striatum was found. Accordingly, intra-pDMS infusion of the excitotoxin N-methyl-D-aspartate in the same volume as used here for 6-OHDA infusions produced a comparable focal lesion of the pDMS (Yin et al. 2005). Consistent with our observation that rats subjected to 6-OHDA infusions had a near complete pDMS DA depletion, intrastriatal infusion of solutions with lower concentrations of 6-OHDA (<7 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$) as used here (15 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$) profoundly reduced tissue concentrations of DA (>85%; e.g., Brown and Robbins 1991) as well as % density of TH-positive fibers (Yuan et al. 2005) and caused a significant DA denervation as assessed by DA transporter autoradiography (Winkler et al. 2002). Furthermore, it is unlikely that pDMS lesions did recover during the course of our experiments. A detailed analysis of the time course by Blandini et al. (2007) suggests that a 6-OHDA induced loss of striatal DA terminals remained stable over 4 weeks. Likewise, using a similar concentration and volume of 6-OHDA as in our study, Faure et al. (2005) demonstrated a massive striatal DA depletion 16 weeks postlesion.

Lever-Press Training

One animal from each group had to be excluded from the experiment because of very low lever-press rates. The

remaining animals of both groups acquired the instrumental task (Fig. 6). A repeated measures ANOVA indicated a significant effect of day ($F_{9,207} = 59.41$, $P < 0.001$) but no effect of group ($F < 1$, n.s.) and no lesion \times day interaction ($F < 1$, n.s.).

Outcome Devaluation Test in Extinction

Both groups showed a clear devaluation effect (Fig. 7A). This observation was confirmed by the statistical analysis. A repeated measures ANOVA revealed a significant effect of devaluation ($F_{1,23} = 16.47$, $P < 0.001$) but no effect of group ($F < 1.5$, n.s.) and no lesion \times devaluation interaction ($F < 1$, n.s.).

Outcome Devaluation Test under Reward

When tested in the rewarded conditions, both groups also displayed a devaluation effect (Fig. 7B). Accordingly, a repeated measures ANOVA demonstrated a significant effect of devaluation ($F_{1,23} = 39.09$, $P < 0.001$) but no effect of group ($F < 3$, n.s.) and no group \times devaluation interaction ($F < 4$, n.s.).

Contingency Degradation Training

As shown in Figure 8A, in sham controls there was a marked selective contingency degradation effect, whereas animals with pDMS DA depletion seemed to be sensitive to a degradation of the instrumental contingency, albeit to a lesser extent. A repeated measures ANOVA revealed a significant effect of degradation ($F_{1,23} = 15.53$, $P < 0.001$) but no effect of group

($F < 1$, n.s.). Furthermore, the group \times degradation interaction missed significance ($F_{1,23} = 2.13$, $P = 0.16$). Contingency degradation effects were analyzed in more detail using planned contrasts for each training day. As shown in Figure 8A, sham controls were sensitive to the contingency degradation in 5 out of 6 days, whereas animals with pDMS DA depletion were sensitive in only 2 out of 6 days. Furthermore, there was a near significant day \times degradation interaction ($F_{5,115} = 2.27$, $P = 0.051$) indicating that the contingency degradation effect became greater over the course of the training, regardless of the group (no day \times degradation \times lesion interaction; $F < 1$, n.s.).

Contingency Degradation Test in Extinction

As shown in Figure 8B, unlike sham controls, animals with pDMS DA depletion did not show a contingency degradation effect when tested in extinction. A repeated measures ANOVA revealed no effect of group ($F < 1$, n.s.), but a significant effect of degradation ($F_{1,23} = 11.22$, $P < 0.01$) and, most importantly, a significant interaction of group \times degradation ($F_{1,23} = 4.32$, $P < 0.05$). Simple main effects analyses further showed that sham controls were sensitive to the degradation of the

instrumental contingency ($F_{1,12} = 10.37$, $P < 0.01$), whereas animals with pDMS DA depletion were not ($F < 1.7$, n.s.).

Discussion

Our results revealed that rats with PL DA depletion displayed a lower rate of lever pressing but, like sham controls, showed a selective outcome devaluation and contingency degradation effect. These findings suggest that PL DA modulates lever pressing but might not support instrumental conditioning. By contrast, rats with pDMS DA depletion had intact overall response rates and were sensitive to a selective outcome devaluation procedure; however, they showed a reduced sensitivity to contingency degradation. Thus, pDMS DA signaling seems not to be involved in the control of lever pressing but in instrumental conditioning by supporting the detection of the causal relationship between an action and its consequence.

Prelimbic DA and Instrumental Conditioning

Cell body lesions aimed at the PL abolished the sensitivity to outcome devaluation and contingency degradation suggesting that this PL subregion plays a critical role in instrumental conditioning (Balleine and Dickinson 1998; Corbit and Balleine 2003; Killcross and Coutureau 2003). Results from Experiment 1 suggest that DA signals in the PL may not be involved in encoding the value of an outcome and learning the causal relationship between an action and its consequences. Furthermore, our data demonstrate that rats with PL DA depletion displayed a reduced lever-press performance during acquisition and throughout all subsequent tests. Similarly, during acquisition of a comparable task as used here overall lever-response rates were reduced by PL cell body lesions (Corbit and Balleine 2003). Furthermore, we observed a trend for a group \times degradation interaction that could have reached significance if using higher sample sizes, for example, as in Experiment 2. However, this trend for an interaction is predominantly due to the impaired overall lever-press rates in lesioned animals, that is, lever-press rates for the nondegraded lever were lower and differences between lever-press rates for the nondegraded versus degraded lever became smaller (Fig. 4). Notably, Naneix et al. (2009) also found that PL DA depletion did not affect sensitivity to outcome devaluation but—at variance with our findings—rendered animals insensitive to contingency

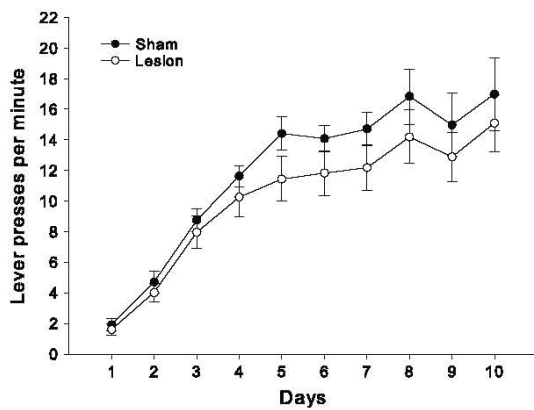


Figure 6. Lever training in animals with pDMS DA depletion and sham controls. Mean lever presses per minute averaged for both actions. Ratio schedules increased across training days as follows: Day 1 = CRF, Days 2–5 = RR-5, Days 6–8 = RR-10, Days 9–11 = RR-20. Lever-press rates in animals with pDMS DA depletion and in sham controls did not differ significantly.

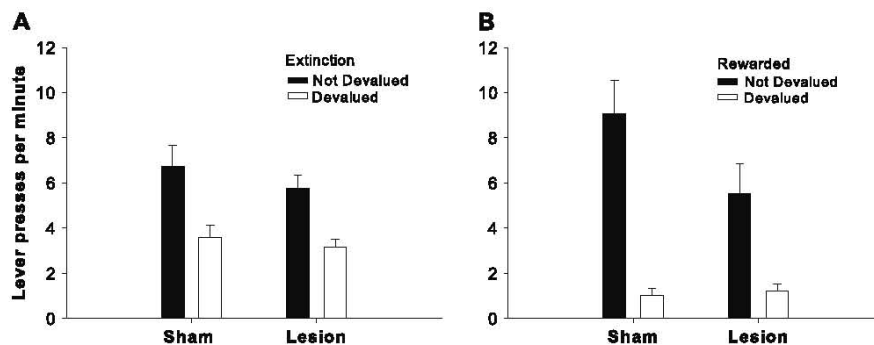


Figure 7. Outcome devaluation in animals with pDMS DA depletion and sham controls. (A) Extinction test. Mean lever presses per minute on the devalued and not devalued lever during the 10-min choice extinction test, after one of the outcomes was devalued. Both levers were inserted but no outcomes were given. An ANOVA revealed a significant effect of devaluation ($P < 0.001$) but no group \times devaluation interaction. (B) Rewarded test. Mean lever presses per minute on the devalued and not devalued lever during the 10-min-choice rewarded test, after one of the outcomes was devalued. Both levers were inserted, and the respective outcomes were delivered under a RR-20 schedule. An ANOVA demonstrated a significant effect of devaluation ($P < 0.001$) but no group \times devaluation interaction.

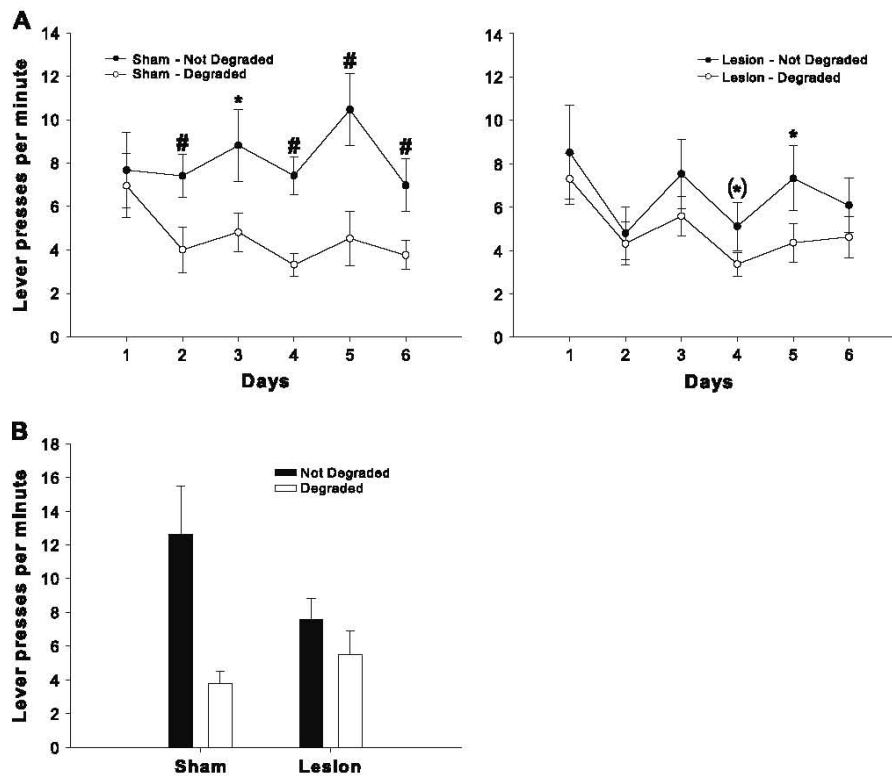


Figure 8. Contingency degradation in animals with pDMS DA depletion and sham controls. (A) Training. Mean lever presses per minute during contingency degradation training (left panel: sham group; right panel: lesion group). One action-outcome contingency was degraded by unpaired delivery of an outcome that was the same as that was earned by pressing the degraded lever. Contingency degradation effects were analyzed by an ANOVA and planned contrasts for each training day (* $P < 0.05$, # $P < 0.01$, (*) $P = 0.06$). (B) Extinction test. Mean lever presses per minute during the 10 min-choice extinction test. Both levers were inserted but no outcomes were given. An ANOVA revealed a significant effects of degradation and a group \times degradation interaction ($P < 0.05$); an analysis of simple main effects showed that sham controls were sensitive to contingency degradation (# $P < 0.01$), whereas animals with pDMS DA depletion were not.

degradation. Different contingency degradation protocols used in this and our study might account for these discrepancies. Importantly, while we used a RR-20 schedule during contingency degradation training, Naneix et al. (2009) employed a RR-10 schedule resulting in a relatively high rate of noncontingent reward delivery ((O|no A) = 0.1). Thus, a significant response competition between lever pressing and magazine-directed responses to check for reward could have occurred thereby reducing the lever-press rate for the degraded lever. Furthermore, at variance with the study by Naneix et al. (2009), we provided the noncontingent reward both in sessions with and without contingency degradation to check for the selectivity of contingency degradation. In addition, we also examined contingency degradation during extinction in order to test for previously learned associations without contamination by new learning.

As PL DA depletion or DA receptor blockade did not affect gross motor activity (Seamans et al. 1998), nonspecific motor impairments are unlikely to account for the reduced lever-press performance. Computational models suggest that tonic DA levels report the average reward rate in free operant tasks thereby providing one way to explain why low DA levels are generally associated with less vigorous responding (Niv et al. 2006). In a similar vein, a reduced expectation of average reward could be one explanation for reduced response rates in animals with PL DA depletion seen here. However, as those

animals seemed to be still sensitive to outcome devaluation and contingency degradation, it is unlikely that the reduced lever-press rates reflect impaired instrumental learning. Notably, sham controls pressed the valued lever more often in the rewarded outcome devaluation test than in the outcome devaluation test in extinction. There is evidence that instrumental conditioning involves many associative processes including the formation of outcome-response associations that support responding (see Corbit and Balleine 2003). Accordingly, in sham controls outcome delivery, by activating the valued outcome-response association, could selectively increase the rate of the associated action in the rewarded outcome devaluation test but not in the outcome devaluation test performed in extinction. By contrast, in animals with a PL DA depletion pressing of the valued lever was equally low both in the rewarded outcome devaluation test and the outcome devaluation test in extinction. Thus, it is conceivable that PL DA supports the formation of outcome-action associations. Yet, this speculation needs experimental support, for example, by analyzing whether PL DA depletions impair the specificity of instrumental reinstatement that depends on outcome-response associations. However, Corbit and Balleine (2003) showed that PL cell body lesions left outcome-response associations intact. Furthermore, Ostlund and Balleine (2005) recently demonstrated that cell body lesions of the medial PL cortex had no effect on the outcome-specificity of reinstatement but

attenuated the response invigorating effects of the outcome. These findings are more consistent with the view that PL DA may play a role in invigorating responding than in the formation of outcome-action associations.

Taken together, findings from Experiment 1 suggest that PL DA invigorates lever pressing but may not support the encoding of action-outcome associations.

Striatal DA and Instrumental Conditioning

As cell body lesions abolished both the sensitivity to outcome devaluation and contingency degradation, the pDMS has been implicated in encoding action-outcome associations (Yin et al. 2005). Experiment 2 revealed that animals with pDMS DA depletion were sensitive to changes in the outcome value and can thus integrate an imposed change in value into an association between a specific action and the related outcome. Furthermore, selective responding in the outcome devaluation tests suggests that pDMS DA depletions did not compromise the rat's ability to discriminate between the 2 actions or the 2 outcomes. Therefore, rats with pDMS DA depletion not only seem to be able to encode the current value of an outcome but also to encode and to retrieve action-outcome associations that guide selective responding. Hence, DA signaling in the pDMS seems not to be involved in encoding of action-outcome associations. By contrast, recent studies revealed that instrumental conditioning is compromised in DA depleted rodents, an impairment that can be restored by a reinstatement of DA signaling in the dorsal striatum using viral gene transfer (Robinson et al. 2007). Furthermore, electrophysiological studies showed that the activity of DA neurons is modulated by the value of upcoming actions (Morris et al. 2006; Roesch et al. 2007). However, these studies do not necessarily contradict our findings as DA signaling in target areas of DA neurons other than the PL or pDMS may contribute to instrumental conditioning. Alternatively, DA signaling may not support goal-directed behavior that depends on representations of contingencies and outcomes as suggested by computational accounts (Niv and Schoenbaum 2008). In line with this notion, Dickinson et al. (2000) demonstrated that a systemic DA receptor blockade did not interfere with incentive instrumental learning in rats.

Importantly, Experiment 2 further revealed that the sensitivity to contingency degradation was impaired in animals with pDMS DA depletion. In the extinction test, sham controls responded less often to the lever previously associated with the noncontingent reward relative to the other lever, whereas animals with pDMS DA depletion responded to both levers on about equally low rates. The extinction test which examined previously learned associations is critical as lesions that impair the sensitivity to contingency degradation tested in extinction do not necessarily impair the rates of acquisition during contingency degradation training (Corbit et al. 2003). Thus, animals with pDMS DA depletion display an altered sensitivity to contingency degradation. Similar observations were made after cell body lesions of the pDMS (Yin et al. 2005); in the extinction test, lesioned animals pressed both levers with equal intermediate rates. As animals with pDMS DA depletion showed an outcome devaluation effect that probably relies on an intact action-outcome association, an impairment in encoding action-outcome associations may not account for their reduced sensitivity to contingency degradation. Furthermore, it is

unlikely that pDMS DA depletion impaired the vigor of responding as during instrumental training lever pressing was unaffected on a RR-20 schedule, a schedule with high work requirements (Salamone et al. 2007). In addition, lesioned animals could have been unable to maintain high levels of responding in extinction because DA invigorates instrumental responding in particular in the absence of a reward. However, this possibility is unlikely because the mean lever-press rates for the degraded and for the nondegraded lever during contingency degradation training (overall mean over 6 days) and during extinction are almost identical in lesioned animals (data not shown).

Surprisingly, lever-press rates for the degraded lever were only moderately higher in lesioned versus sham-lesioned animals. Similar observations have been made in contingency degradation studies after lesion of various brain areas including pDMS, PL, entorhinal cortex, and mediodorsal thalamus (Balleine and Dickinson 1998; Corbit et al. 2002, 2003; Corbit and Balleine 2003; Yin et al. 2005). To date, the reasons for this phenomenon are yet unclear.

Considerable evidence suggests that in many situations behavioral responding is governed both by Pavlovian and instrumental mechanisms (Dickinson and Balleine 1994). In addition, DA in the nucleus accumbens has been implicated in Pavlovian conditioning (Dalley et al. 2002; Parkinson et al. 2002; Lex and Hauber 2008) and DA in the dorsal striatum in instrumental conditioning (Robinson et al. 2007). Thus, lever pressing in rats with pDMS DA depletions could be maintained predominantly by Pavlovian rather than instrumental contingencies. Furthermore, rodent studies indicate that autoshaped lever pressing is supported by Pavlovian mechanisms as it was only minimally affected when lever pressing prevented the delivery of the outcome (Locurto et al. 1976). Collectively, these findings point to the possibility that responding of pDMS DA depleted rats to the degraded lever could reflect an automatic Pavlovian approach behavior elicited by the lever that acts as an appetitive Pavlovian stimulus. Likewise, intact outcome devaluation in rats with pDMS DA depletion could be maintained by Pavlovian mechanisms as responding subserved by Pavlovian stimuli can be sensitive to outcome devaluation (e.g., Holland and Straub 1979). If so, such mechanisms may not govern devaluation performance in animals with cell body lesions of the pDMS as they were insensitive to outcome devaluation (Yin et al. 2005).

Alternatively, in normal rats, reduced instrumental performance associated with contingency degradation has been interpreted to reflect the result of a comparison of the validity that an action is predictive of reward and the validity that the background or context is predictive of reward (e.g., Colwill and Rescorla 1986; Corbit and Balleine 2000). Accordingly, another possible explanation of the results from the contingency test is that animals with pDMS DA depletion are less sensitive to the high probability of an outcome delivery even if they do not perform an action. In other words, their reduced sensitivity to contingency degradation could not be due to a failure to encode action-outcome associations but to assess the rate of reward in the absence of an action. Notably, cell body lesions of the entorhinal cortex produced the same pattern of results as seen here, that is, they left the sensitivity to outcome devaluation intact but affected the sensitivity to a degradation in the instrumental contingency (Corbit et al. 2002). It was hypothesized by the authors that the deficit in contingency sensitivity in

animals with entorhinal lesions resulted from a reduced ability to calculate the background rate of reinforcement, that is, the rate of reinforcement in the absence of an action. Deficits in context conditioning produced by lesions of the entorhinal cortex (e.g., Maren and Fanselow 1997; Majchrzak et al. 2006) might account for this deficit, that is, in lesioned animals, the context may not become a valid predictor for reward during contingency degradation (Corbit et al. 2002). Although it is well known that major components of the hippocampal formation such as the hippocampus, entorhinal cortex, or subiculum play a role in context conditioning (Majchrzak et al. 2006; Ji and Maren 2008), their contribution to instrumental conditioning is less well understood. Lesion studies in rats revealed that the dorsal hippocampus and the subiculum do not mediate the sensitivity to contingency degradation (Corbit and Balleine 2000; Corbit et al. 2002), whereas the role of the ventral hippocampus is still unknown. Thus, among the components of the hippocampal formation examined so far, the entorhinal cortex seems to be critical for the detection of changes in the instrumental contingency. There is consistent evidence that the striatum and the hippocampal formation can act in an independent or competitive manner (Packard and Knowlton 2002; Poldrack and Packard 2003). However, as entorhinal lesions and pDMS DA depletions selectively impaired the sensitivity to contingency degradation, it is conceivable that both structures could interact to mediate instrumental responding. According to this account, rats with pDMS DA depletion may fail to integrate context-related entorhinal information and, in turn, are less sensitive to contingency degradation. Consistent with this notion, anatomical evidence suggests that the more posterior regions of the pDMS receive significant projections from the entorhinal cortex (McGeorge and Faull 1987, 1989). However, we cannot rule out that other DA-dependent mechanisms compromised in lesioned animals contribute to the reduced sensitivity to contingency degradation. For instance, contingency degradation also involves a transition of the predictive value of an action that could entail a DA-dependent prediction error signal (Schultz 2007b). Therefore, it is plausible that in animals with pDMS DA depletion an impaired prediction error signaling prevented the detection of a change of the instrumental contingency.

Interestingly, studies that examined spatial navigation in mazes provided support to the notion that the DMS and the hippocampal formation may form a functional circuit (Ragozzino et al. 2002; Mulder et al. 2004; Yin and Knowlton 2006). For instance, Yin and Knowlton (2004) found that, unlike sham controls, animals with a pDMS cell body lesions tested in a cross-maze task used a response, instead of a place strategy, possibly due to an impaired representation of contextual cues. Based on this and other findings, Yin and Knowlton (2006) suggested that the hippocampus and the pDMS might form a functional circuit that mediates goal-directed behavior based on a representation of the environment. Goal-directed behavior tested in spatial navigation tasks and operant tasks as used here might involve different forms of learning, thus respective comparisons have to be done with caution. Yet, our findings in Experiment 2 are consistent with the view that the pDMS is a key component of a corticostriatal circuit that mediates flexible goal-directed behavior based on contextual representation (Yin and Knowlton 2006). In addition, our data suggest that DA could be important in enabling or regulating the contextual information flow from the hippocampal formation to the pDMS. In a similar vein, electrophysiological work demonstrated that reward-directed

behavior depends on the interaction between hippocampal inputs and neurons in the ventral striatum that is modulated by DA (Goto and Grace 2005).

Taken together, goal-directed instrumental action is characterized by 2 criteria: sensitivity to changes in the outcome value and changes in the contingency between action and outcome (Dickinson and Balleine 1994). Studies in humans (e.g., Tricomi et al. 2004; Tanaka et al. 2008) and rodents (e.g., Balleine and Dickinson 1998; Killcross and Coutureau 2003; Yin et al. 2005) implicated the medial PL cortex and the DMS in goal-directed action. For instance, cell body lesions of the PL in rats produced an insensitivity to outcome devaluation and contingency degradation (Balleine and Dickinson 1998; Corbit and Balleine 2003; Killcross and Coutureau 2003). Our present findings suggest that DA signals in the PL may not play a critical role in action-outcome learning. Furthermore, rodent studies using cell body lesions demonstrate that an inactivation of pDMS produced an insensitivity to outcome devaluation and contingency degradation (Yin et al. 2005). Our data show that DA signals in the pDMS are important for one aspect of goal-directed behavior, that is, they seem not to modulate sensitivity to outcome devaluation but may serve to detect changes in action-outcome contingencies. We propose that pDMS DA-modulation contributes to the control of goal-directed action by regulating the contextual information flow to the pDMS.

Funding

Deutsche Forschungsgemeinschaft (HA2340/8-2).

Notes

Conflict of Interest: None declared.

Address correspondence to Wolfgang Hauber, Pfaffenwaldring 57, Biologisches Institut, Abteilung Tierphysiologie, 70550 Stuttgart, Germany. Email: Hauber@bio.uni-stuttgart.de.

References

- Balleine BW, Dickinson A. 1998. Goal-directed instrumental action: contingency and incentive learning and their cortical substrates. *Neuropharmacology*. 37:407-419.
- Blandini F, Levandis G, Bazzini E, Nappi G, Armentero MT. 2007. Time-course of nigrostriatal damage, basal ganglia metabolic changes and behavioural alterations following intrastriatal injection of 6-hydroxydopamine in the rat: new clues from an old model. *Eur J Neurosci*. 25:397-405.
- Brown VJ, Robbins TW. 1991. 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.
- Bubser M. 1994. 6-Hydroxydopamine lesions of the medial prefrontal cortex of rats do not affect dopamine metabolism in the basal ganglia at short and long postsurgical intervals. *Neurochem Res*. 19:421-425.
- Bubser M, Schmidt WJ. 1990. 6-Hydroxydopamine lesion of the rat prefrontal cortex increases locomotor activity, impairs acquisition of delayed alternation tasks, but does not affect uninterrupted tasks in the radial maze. *Behav Brain Res*. 37:157-168.
- Colwill R, Rescorla R. 1986. Associative structures in instrumental learning. In: Bower G, editor. *The psychology of learning and motivation*. New York: Academic Press. p. 55-104.
- Corbit LH, Balleine BW. 2000. The role of the hippocampus in instrumental conditioning. *J Neurosci*. 20:4233-4239.
- Corbit LH, Balleine BW. 2003. The role of prefrontal cortex in instrumental conditioning. *Behav Brain Res*. 146:145-157.

- Corbit LH, Muir JL, Balleine BW. 2003. Lesions of mediodorsal thalamus and anterior thalamic nuclei produce dissociable effects on instrumental conditioning in rats. *Eur J Neurosci*. 18:1286-1294.
- Corbit LH, Ostlund SB, Balleine BW. 2002. Sensitivity to instrumental contingency degradation is mediated by the entorhinal cortex and its efferents via the dorsal hippocampus. *J Neurosci*. 22:10976-10984.
- Dalley JW, Chudasama Y, Theobald DE, Pettifer CL, Fletcher CM, Robbins TW. 2002. Nucleus accumbens dopamine and discriminated approach learning: interactive effects of 6-hydroxydopamine lesions and systemic apomorphine administration. *Psychopharmacology (Berl)*. 161:425-433.
- Dickinson A, Balleine BW. 1994. Motivational control of goal directed action. *Anim Learn Behav*. 22:1-18.
- Dickinson A, Smith J, Mirenowicz J. 2000. Dissociation of Pavlovian and instrumental incentive learning under dopamine antagonists. *Behav Neurosci*. 114:468-483.
- Faure A, Haberland U, Conde F, El Massioui N. 2005. Lesion to the nigrostriatal dopamine system disrupts stimulus-response habit formation. *J Neurosci*. 25:2771-2780.
- Goto Y, Grace AA. 2005. Dopaminergic modulation of limbic and cortical drive of nucleus accumbens in goal-directed behavior. *Nat Neurosci*. 8:805-812.
- Holland PC, Straub JJ. 1979. Differential effects of two ways of devaluing the unconditioned stimulus after Pavlovian appetitive conditioning. *J Exp Psychol Anim Behav Process*. 5:65-78.
- Ji J, Maren S. 2008. Lesions of the entorhinal cortex or fornix disrupt the context-dependence of fear extinction in rats. *Behav Brain Res*. 194:201-206.
- Kheramin S, Body S, Ho MY, Velazquez-Martinez DN, Bradshaw CM, Szabadi E, Deakin JF, Anderson IM. 2004. Effects of orbital prefrontal cortex dopamine depletion on inter-temporal choice: a quantitative analysis. *Psychopharmacology (Berl)*. 175:206-214.
- Killcross S, Coutureau E. 2003. Coordination of actions and habits in the medial prefrontal cortex of rats. *Cereb Cortex*. 13:400-408.
- Lex A, Hauber W. 2008. Dopamine D1 and D2 receptors in the nucleus accumbens core and shell mediate Pavlovian-instrumental transfer. *Learn Mem*. 15:483-491.
- Locurto C, Terrace HS, Gibbon J. 1976. Autoshaping, random control, and omission training in the rat. *J Exp Anal Behav*. 26:451-462.
- Majchrzak M, Ferry B, Marchand AR, Herbeaux K, Seillier A, Barbelivien A. 2006. Entorhinal cortex lesions disrupt fear conditioning to background context but spare fear conditioning to a tone in the rat. *Hippocampus*. 16:114-124.
- Maren S, Fanselow MS. 1997. Electrolytic lesions of the fimbria/fornix, dorsal hippocampus, or entorhinal cortex produce anterograde deficits in contextual fear conditioning in rats. *Neurobiol Learn Mem*. 67:142-149.
- McGeorge AJ, Faull RL. 1987. The organization and collateralization of corticostriate neurons in the motor and sensory cortex of the rat brain. *Brain Res*. 423:318-324.
- McGeorge AJ, Faull RL. 1989. The organization of the projection from the cerebral cortex to the striatum in the rat. *Neuroscience*. 29:503-537.
- McGregor A, Baker G, Roberts DC. 1996. Effect of 6-hydroxydopamine lesions of the medial prefrontal cortex on intravenous cocaine self-administration under a progressive ratio schedule of reinforcement. *Pharmacol Biochem Behav*. 53:5-9.
- Morris G, Nevet A, Arkadir D, Vaadia E, Bergman H. 2006. Midbrain dopamine neurons encode decisions for future action. *Nat Neurosci*. 9:1057-1063.
- Mulder AB, Tabuchi E, Wiener SI. 2004. Neurons in hippocampal afferent zones of rat striatum parse routes into multi-pace segments during maze navigation. *Eur J Neurosci*. 19:1923-1932.
- Naneix F, Marchand AR, Di Scala G, Pape JR, Coutureau E. 2009. A role for medial prefrontal dopaminergic innervation in instrumental conditioning. *J Neurosci*. 29:6599-6606.
- Niv Y, Joel D, Dayan P. 2006. A normative perspective on motivation. *Trends Cogn Sci*. 10:375-381.
- Niv Y, Schoenbaum G. 2008. Dialogues on prediction errors. *Trends Cogn Sci*. 12:265-272.
- Ostlund SB, Balleine BW. 2005. Lesions of medial prefrontal cortex disrupt the acquisition but not the expression of goal-directed learning. *J Neurosci*. 25:7763-7770.
- Packard MG, Knowlton BJ. 2002. Learning and memory functions of the basal ganglia. *Annu Rev Neurosci*. 25:563-593.
- Parkinson JA, Dalley JW, Cardinal RN, Bamford A, Fehner B, Lachenal G, Rudarakanchana N, Halkerton KM, Robbins TW, Everitt BJ. 2002. Nucleus accumbens dopamine depletion impairs both acquisition and performance of appetitive Pavlovian approach behaviour: implications for mesoaccumbens dopamine function. *Behav Brain Res*. 137:149-163.
- Paxinos G, Watson C. 2007. *The rat brain in stereotaxic coordinates*. San Diego (CA): Elsevier Academic Press.
- Poldrack RA, Packard MG. 2003. Competition among multiple memory systems: converging evidence from animal and human brain studies. *Neuropsychologia*. 41:245-251.
- Pycock CJ, Carter CJ, Kerwin RW. 1980. Effect of 6-hydroxydopamine lesions of the medial prefrontal cortex on neurotransmitter systems in subcortical sites in the rat. *J Neurochem*. 34:91-99.
- 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*. 116:105-115.
- Roberts AC, De Sclavia MA, Wilkinson LS, Collins P, Muir JL, Everitt BJ, Robbins TW. 1994. 6-Hydroxydopamine lesions of the prefrontal cortex in monkeys enhance performance on an analog of the Wisconsin Card Sort Test: possible interactions with subcortical dopamine. *J Neurosci*. 14:2531-2544.
- Robinson S, Rainwater AJ, Hnasko TS, Palmiter RD. 2007. Viral restoration of dopamine signaling to the dorsal striatum restores instrumental conditioning to dopamine-deficient mice. *Psychopharmacology (Berl)*. 191:567-578.
- 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.
- Salamone JD, Correa M, Farrar A, Mingote SM. 2007. Effort-related functions of nucleus accumbens dopamine and associated forebrain circuits. *Psychopharmacology (Berl)*. 191:461-482.
- Schultz W. 2007a. Behavioral dopamine signals. *Trends Neurosci*. 30:203-210.
- Schultz W. 2007b. Multiple dopamine functions at different time courses. *Annu Rev Neurosci*. 30:259-288.
- 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.
- Tanaka SC, Balleine BW, O'Doherty JP. 2008. Calculating consequences: brain systems that encode the causal effects of actions. *J Neurosci*. 28:6750-6755.
- Tobler PN, Fiorillo CD, Schultz W. 2005. Adaptive coding of reward value by dopamine neurons. *Science*. 307:1642-1645.
- Tricomi EM, Delgado MR, Fiez JA. 2004. Modulation of caudate activity by action contingency. *Neuron*. 41:281-292.
- Wickens JR, Horvitz JC, Costa RM, Killcross S. 2007. Dopaminergic mechanisms in actions and habits. *J Neurosci*. 27:8181-8183.
- 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*. 10:165-186.
- Yin HH, Knowlton BJ. 2004. Contributions of striatal subregions to place and response learning. *Learn Mem*. 11:459-463.
- Yin HH, Knowlton BJ. 2006. The role of the basal ganglia in habit formation. *Nat Rev Neurosci*. 7:464-476.
- Yin HH, Ostlund SB, Knowlton BJ, Balleine BW. 2005. The role of the dorsomedial striatum in instrumental conditioning. *Eur J Neurosci*. 22:513-523.
- 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*. 144:35-45.



Disconnection of the Entorhinal Cortex and Dorsomedial Striatum Impairs the Sensitivity to Instrumental Contingency Degradation

Bjoern Lex¹ and Wolfgang Hauber^{1*}

¹Abteilung Tierphysiologie, Biologisches Institut, Universität Stuttgart, Stuttgart, Germany

The capacity to detect changes in the causal efficacy of actions is mediated by a number of brain areas, including the entorhinal cortex (EC) and the posterior part of the dorsomedial striatum (pDMS). In this study we examined whether interactions between the EC and pDMS are required to detect changes in the instrumental contingency. Rats that received EC–pDMS disconnection lesions, that is, unilateral cell body lesions of the EC and contralateral dopamine depletions of the pDMS, were trained to press two levers, with one delivering food pellets and the other a sucrose solution. Thereafter, we tested whether rats were sensitive (1) to a selective devaluation of the value of one of two outcomes using a specific satiety procedure, and (2) to a selective degradation of one of two contingencies controlling instrumental choice behavior. Our results reveal that rats with EC–pDMS disconnection lesions were sensitive to outcome devaluation. However, unlike rats with sham lesions or unilateral EC and pDMS lesions, rats with EC–pDMS disconnection lesions showed a reduced sensitivity to contingency degradation. These findings suggest that EC and pDMS may be part of a neural system that supports the detection of changes in the causal relationship between an action and its consequences.

Neuropsychopharmacology advance online publication, 31 March 2010; doi:10.1038/npp.2010.46

Keywords: entorhinal cortex; posterior dorsomedial striatum; instrumental conditioning; dopamine; rat

INTRODUCTION

It is well known that animals can not only encode the causal relationship between actions and their consequences, but also detect changes in the causal efficacy of their actions. For instance, in instrumental conditioning post-training degradation of one of two action–outcome contingencies selectively reduced performance of the action that is no longer causal to the delivery of a particular reward (see Balleine and O'Doherty, 2010 for an excellent recent review).

A flexible control of actions in the pursuit of goals is crucial for adapting goal-directed behavior to changing environments. Recent studies suggest that the capacity to detect changes in the causal efficacy of actions is mediated by a number of brain areas, including the dorsomedial striatum (DMS). For example, using functional magnetic resonance imaging in humans, Tanaka *et al* (2008) revealed that neural responses in the caudate nucleus, which is the human homolog of the rat DMS, were modulated as a

function of the contingency between the rate of button pressing and the amount of money earned. Furthermore, Yin *et al* (2005) implicated a particular subregion of the DMS in mediating the sensitivity to changes in the instrumental contingency. The researchers showed in rats that cell body lesions of the posterior part of the DMS (pDMS) but not of the anterior part produced an insensitivity to contingency degradation. Similarly, Lex and Hauber (2010) recently revealed that 6-hydroxydopamine (6-OHDA) lesions in pDMS also produced an insensitivity to contingency degradation. In addition, another lesion study in rats indicated that among the major components of the hippocampal formation, the entorhinal cortex (EC) seems to be critical for the detection of changes in the instrumental contingency (Corbit *et al*, 2002). It has been suggested that deficits in context conditioning rendered animals with entorhinal lesions insensitive to contingency degradation because they have deficits in forming or representing associations between context and reward. Therefore, contextual cues did not compete with other predictors of reward during contingency degradation (Corbit and Balleine, 2000; Corbit *et al*, 2002). Notably, behavioral studies using maze tasks (Mulder *et al*, 2004; Ragozzino *et al*, 2002a; Yin and Knowlton, 2006) provided support to the notion that DMS and hippocampal formation may form a functional circuit that mediates goal-directed behavior based on a representation of the context (see Yin

*Correspondence: Dr/Professor Wolfgang Hauber, Department of Animal Physiology, Universität Stuttgart, Biologisches Institut, Abteilung Tierphysiologie, Pfaffenwaldring 57, D-70550 Stuttgart, Germany, Tel: +49-711-685-65003, Fax: +49-711-685-55000, E-mail: hauber@bio.uni-stuttgart.de
 Received 6 November 2009; revised 2 March 2010; accepted 5 March 2010



and Knowlton, 2006 for a review). In addition, anatomical studies revealed that DMS, including its posterior part, receives direct projections from the EC (McGeorge and Faull, 1987, 1989). Therefore, we wondered whether in instrumental conditioning the capacity to detect changes in the causal efficacy of actions depends on interactions between the EC and pDMS.

In this study we tested rats that received disconnection lesions of the unilateral EC and contralateral pDMS for their sensitivity to contingency degradation. Specifically, rats subjected to disconnection lesions received unilateral cell body lesions of the EC and contralateral dopamine depletion of the pDMS. A pDMS dopamine depletion was used because dopamine in the pDMS has been implicated in the detection of causal relationships between an action and its consequences (Lex and Hauber, 2010). Furthermore, reward-directed behavior critically depends on a striatal integration of hippocampal inputs mediated by dopamine (Goto and Grace, 2005). If interactions between EC and pDMS are important for monitoring action–outcome contingencies underlying goal-directed behavior, then lesions that disconnect EC and pDMS should render rats insensitive to contingency degradation. In instrumental conditioning, rats also encode the contingency between their actions and the incentive value of the outcomes (eg, Balleine and Dickinson, 1998; Dickinson and Balleine, 1994). Therefore, we also examined lesion effects on the sensitivity to outcome devaluation; that is, whether post-training devaluation of the value of one of two outcomes contingent upon distinct actions selectively reduced performance of the action that leads to the devalued outcome.

MATERIALS AND METHODS

All animal experiments were conducted according to the German Law on Animal Protection and were approved by the appropriate authorities.

Subjects and Apparatus

Subjects were 40 naive male Lister-Hooded rats (Harlan-Winkelmann, Borchon, Germany) weighing between 200 and 230 g upon arrival. The rats were housed in groups of four in transparent plastic cages (55 × 39 × 27 cm, Ferplast, Nürnberg, Germany) in a temperature- and humidity-controlled room (20 ± 2 °C, 50–60%) on a 12:12-h light–dark cycle (lights on at 0700 h). Throughout the experiment the rats had *ad libitum* access to water. Standard laboratory maintenance chow (Altromin, Lage, Germany) was given *ad libitum* for 2 days after arrival, after which food was restricted to 15 g per animal per day to maintain them at ~85% of their free-feeding weight.

Training and testing took place in identical operant chambers (24 × 21 × 30 cm; Med Associates, St Albans, VT) housed within sound-attenuating cubicles. Each operant chamber was equipped with a pellet dispenser that delivered 45 mg Noyes Pellets (formula A/I; Sandown Scientific, Hampton, Middlesex, UK) into a dual pellet/liquid cup receptacle that was positioned in the middle of the right wall, and a syringe pump that delivered 0.1 ml of a 20%

sucrose solution into the same receptacle. Each chamber also contained two retractable levers located on either side of the dual pellet/liquid cup receptacle. A 24V/3W house-light mounted on the top center of the opposite wall illuminated the chambers and an electric fan integrated into the cubicle provided a constant background noise (~70 dB).

Surgery

Before surgery, animals were assigned to four treatment groups (sham lesion, disconnection lesion, unilateral pDMS lesion, and unilateral EC lesion). Animals of the sham lesion group ($n = 11$) received unilateral vehicle infusions into the pDMS of one hemisphere and unilateral vehicle infusions into the EC of the contralateral hemisphere. Animals of the disconnection lesion group ($n = 9$) received unilateral 6-OHDA infusions into the pDMS of one hemisphere and unilateral *N*-methyl-D-aspartic acid (NMDA) infusions into the EC of the contralateral hemisphere. Animals of the unilateral pDMS group ($n = 11$) were subjected to a unilateral 6-hydroxydopamine (6-OHDA) infusion into the pDMS of one hemisphere and a unilateral vehicle infusion into the EC of the contralateral hemisphere; animals of the unilateral EC group ($n = 9$) received unilateral NMDA infusions into the EC of one hemisphere and vehicle infusions into the pDMS of the contralateral hemisphere. The sides of the lesions were balanced in each group, such that there were approximately equal numbers of rats with seven drug/vehicle infusions in the left or right hemispheres.

After pre-treatment with atropine (0.2 mg/kg i.p.; WDT, Garbsen, Germany), the animals were anesthetized with sodium pentobarbital (60 mg/kg i.p.; Medial GmbH, Hallbergmoos, Germany) and xylazine (4 mg/kg i.m.; Bayer AG, Leverkusen, Germany) before being placed in a stereotaxic frame (Kopf Instruments, Tujunga, CA) with the toothbar –3.3 mm below the interaural line. The skull surface was exposed and small holes were drilled above the respective sides. Infusions were made using a 1 µl Hamilton syringe at the following coordinates as determined from the atlas of Paxinos and Watson (2007): pDMS = AP –0.4; ML ± 2.6; DV –5.0; EC = AP –7.5; ML ± 4.6; DV –7.0 and at AP –8.2; ML ± 4.6; DV –5.5. 6-OHDA hydrobromide. 6 µg 6-OHDA hydrobromide were dissolved in 0.4 µl saline containing 0.01% ascorbic acid (Sigma Aldrich, Steinheim, Germany) and then infused into the pDMS. 8 µg NMDA were dissolved in 0.4 µl saline (Sigma Aldrich, Steinheim, Germany) and then infused into the EC. Intra-pDMS vehicle infusions consisted of 0.4 µl saline containing 0.01% ascorbic acid and intra-EC vehicle infusions consisted of 0.4 µl saline.

Procedure

The behavioral procedure was similar to a protocol used previously by Corbit and Balleine (2003).

Magazine and lever-press training. On the first day all animals received two magazine training sessions for 20 min, in which both outcomes (pellets and 20% sucrose solution) were delivered on independent random-time schedules



(RT-60). Thereafter, lever-press training was started; for half of the animals of each group pressing the left lever earned one pellet and pressing the right lever earned 0.1 ml 20% sucrose solution. The other half received the opposite action–outcome pairings. All animals received two daily 20-min lever-press training sessions, in which only one lever and one outcome was available. After the first training session, there was at least a 2-h break before the second training session with the other lever–outcome pairing began. The order of the pellet and sucrose sessions was alternated each day. Lever-press training was conducted for 8 consecutive days with progressively leaner random ratio (RR–) schedules of reinforcement, except for the first 2 days in which a continuous reinforcement schedule (CRF) was used (days 1 and 2 = CRF, $P(O|A) = 1.0$; days 3–5 = RR-5, $P(O|A) = 0.2$; and days 6–8 = RR-10, $P(O|A) = 0.1$).

Outcome devaluation test. On the day after the last instrumental training session, all animals were given a 1-h *ad libitum* access to one of the two outcomes in the feeding cages (1 animal per cage). Half of the animals of each group received pellets in a glass bowl and the other half received the sucrose solution in a drinking bottle. Immediately after pre-feeding, the rats were placed into the operant chambers and a 10-min choice extinction test was conducted, in which both levers were inserted but no outcomes were given. On the next day the rats received two retraining session (RR-10; one session on each lever) after which they were given a second choice extinction test. This second devaluation test was identical to the first one except that those animals that had received free access to the pellets on the first test were given free access to the sucrose solution and *vice versa*.

Contingency degradation training. Rats received 3 days of retraining under the RR-10 schedule (two sessions/day, one session on each lever), after which they were trained for another 3 days on an RR-20 schedule of reinforcement ($P(O|A) = 0.05$; two sessions/day, one session on each lever). Thereafter, the contingency training started. To assess whether the rats were sensitive to a degradation of the instrumental contingency, a protocol was applied in which the same outcome earned by pressing one of the two levers was given additionally in a non-contingent manner with the same probability in each second without a response; that is, the probability of outcome delivery by pressing a lever was $P(O|A) = 0.05$ and the probability of outcome delivery by not pressing a lever was $P(O|no A) = 0.05$. Thus, the experienced probability of outcome delivery was the same regardless of whether the animal performed that action or not, a protocol that degrades this action–outcome association (see Corbit and Balleine, 2003). The animals received two training sessions each day, one with each action–outcome pairing. The outcome given non-contingently was the same in both sessions; therefore, one action–outcome association was degraded whereas the other action–outcome association was not degraded. For half of the animals of each group the lever–pellet contingency was degraded (ie, pellets were the outcome given non-contingently), whereas for the other half the lever–sucrose contingency was degraded. The rats received two 30-min training sessions each day (one on each lever) and had a break of at least 2 h between the two sessions.

The order of the two sessions was alternated each day and training continued for 6 days.

Contingency degradation test. On the day after the last contingency training session, a 10-min choice extinction test was given. Both levers were inserted but no rewards were given.

Statistical Analysis

Lever training was given for 8 days and contingency degradation training for 6 days. Respective data were subjected to repeated-measures ANOVA with two within-subject factors (days of testing and degradation, ie, degraded vs non-degraded) and one between-subject factor (treatment groups: sham lesion, disconnection lesion, unilateral EC lesion, and unilateral pDMS lesion). Outcome devaluation and contingency degradation effects were tested in extinction in a single test day, respectively. The data were subjected to *a priori* comparisons to assess the sensitivity to outcome devaluation and contingency degradation of each treatment group. Presses for the devalued vs valued lever and the degraded vs not-degraded lever in each treatment group were analyzed separately using planned contrasts. All statistical computations were carried out with STATISTICA (version 7.1, StatSoft, Inc., Tulsa, OK).

Histology

After the behavioral testing, animals were killed by an overdose of isoflurane (cp-pharma, Burgdorf, Germany) and perfused transcardially as described previously (Lex and Hauber, 2010).

Tyrosine hydroxylase immunohistochemistry in the pDMS. Coronal brain sections were cut (40 μ m; HM550, Microm GmbH, Walldorf, Germany) in the region of the pDMS. Tyrosine-hydroxylase (TH) staining was performed as described previously (Calaminus and Hauber, 2009; Lex and Hauber, 2010). To determine the size and placement of the lesions, the TH immunoreactivity was analyzed under a microscope with reference to the atlas of Paxinos and Watson (2007).

Nissl staining in the EC. Coronal brain sections were cut (40 μ m; Microm HM550, Microm GmbH) in the region of the EC, mounted on coated slides, and stained with cresyl violet. Size and placement of lesions was analyzed under a microscope with reference to the atlas of Paxinos and Watson (2007).

RESULTS

Histology

Figures 1 and 2 provide photomicrographs of brain sections with lesions and schematic representations of the minimum and maximum extent of NMDA-induced cell body lesions of the EC and 6-OHDA-induced DA depletions of the pDMS across all lesion groups in one hemisphere, respectively.

In animals with EC–pDMS disconnection lesions, we observed a marked reduction of neuronal density in the

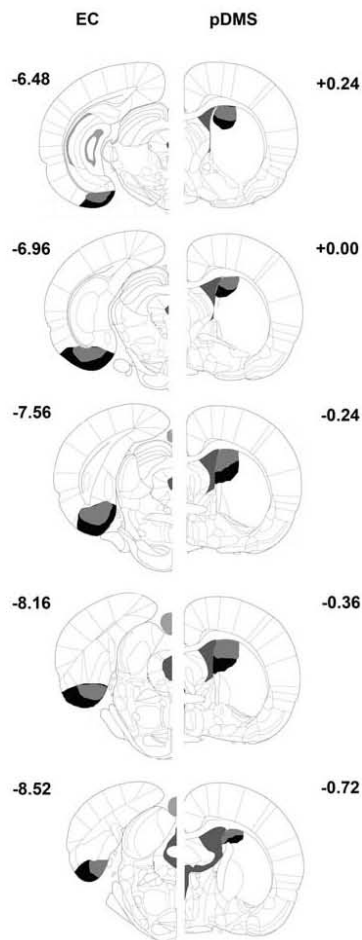


Figure 1 Schematic representations of the extent of neuronal damage in the EC (left hemisphere) and the areas devoid of TH immunoreactivity in the pDMS (right hemisphere) across all lesion groups. Animals received disconnection lesions using NMDA infusion into the ipsilateral EC, 6-OHDA infusion into the contralateral pDMS, unilateral NMDA infusions into the EC, or unilateral 6-OHDA into the pDMS. Gray areas represent the smallest extent and black areas the largest extent of lesions. Numbers indicate distance from bregma in mm.

unilateral EC accompanied by gliosis and an atrophy of neurons in the target area. Damage was mostly restricted to the caudomedial, medial, and ventral intermediate EC with occasional minimal damage to the parasubiculum. Unilateral damage of the EC seen here was comparable to damage observed in single hemispheres of bilaterally EC-lesioned animals in studies using similar infusion parameters (Corbit *et al.*, 2002; Coutureau *et al.*, 2000; Majchrzak *et al.*, 2006; Traissard *et al.*, 2007). In the contralateral side, TH-positive fibers in the pDMS were markedly reduced. There was no evidence of damage

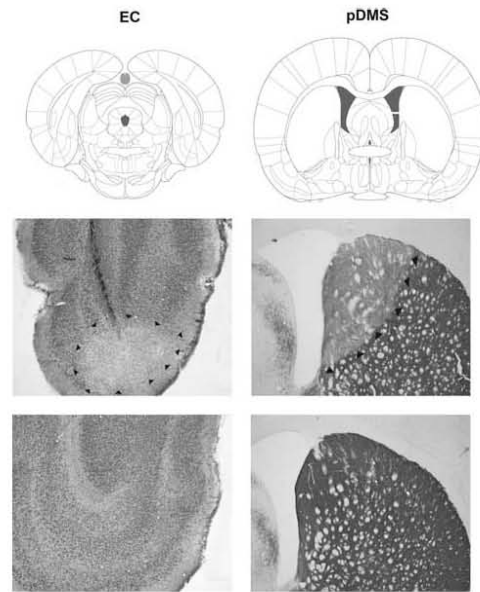


Figure 2 Representative photomicrographs of an NMDA induced cell body lesion of the EC and a 6-OHDA induced loss of tyrosine immunoreactive fibers in the pDMS. The panels on the left side show an EC lesion (middle) and an EC sham lesion (bottom), and the panels on the right side show a pDMS DA depletion (middle) and a pDMS sham lesion (bottom). The boxed regions in the top panel are shown at high magnification in the middle and bottom panels. Plates are adaptations from the atlas of Paxinos and Watson (2007); scales are relative to bregma.

outside the pDMS, that is, to areas more anterior than +0.2 mm from bregma and to areas more lateral than 3.2 mm from the midline. The volume and concentration of 6-OHDA in this experiment (6 µg/0.4 µl) was the same as in previous studies from our lab in which we found a marked reduction of TH immunoreactivity in the pDMS (Calaminus and Hauber, 2009; Lex and Hauber, 2010). A number of earlier studies reported that intrastriatal infusion of solutions with lower concentrations of 6-OHDA (<7 µg/µl), as used in this study (15 µg/µl), profoundly reduced tissue concentrations of DA (>85%) (Baunez and Robbins, 1999; Blandini *et al.*, 2007; Brown and Robbins, 1991; Faure *et al.*, 2005; Moukhles *et al.*, 1994). Similarly, intrastriatal infusions of solutions containing 3.5 µg/µl 6-OHDA caused a significant DA denervation (≈90%), as assessed by DA transporter autoradiography (Winkler *et al.*, 2002). Together, these findings provide support to our observation that rats subjected to a 6-OHDA infusion had an almost complete unilateral pDMS DA depletion. One caveat to note, however, is that we did not quantify the exact extent of the DA depletion, for example, by measuring striatal tissue levels of DA (Hauber *et al.*, 1994). Thus, we cannot exclude that the extent of DA depletion induced in our present study differed from those quantified in previous studies using lower concentrations of 6-OHDA (Baunez and Robbins, 1999; Blandini *et al.*, 2007; Brown and Robbins, 1991; Winkler *et al.*, 2002).

In animals with control lesions, that is, unilateral pDMS and unilateral EC lesions, neuronal density in the EC and TH immunoreactivity in the pDMS was reduced to a similar extent as observed in animals with disconnection lesions. In contrast, in animals subjected to sham lesions we observed only minimal damage along the injection cannulae tracks with no damage to the respective target area. We did not include a further control group with combined unilateral lesions of the pDMS and EC in the same hemisphere, as numerous studies using disconnection designs showed that ipsilateral lesions of two interconnected structures in the same hemisphere do not impair behavior relative to the effect of crossed disconnection lesions (Chudasama *et al.*, 2003; Dunnett *et al.*, 2005; Hauber and Sommer, 2009; Olton *et al.*, 1982; Warburton *et al.*, 2000).

Lever-Press Training

All animals acquired the instrumental task during training (Figure 3). First, we analyzed within each group whether the side of the lesions had an effect on performance. Separate repeated-measures ANOVA from data of each group (sham lesion, disconnection lesion, unilateral EC, and unilateral pDMS lesion) showed no significant effect of lesion side on lever pressing during training (sham lesion; lesion side $F_{(1,9)} = 0.55$, n.s.; day $F_{(7,63)} = 32.73$, $p < 0.001$; unilateral pDMS lesion: lesion side $F_{(1,9)} = 0.02$, n.s.; day $F_{(7,63)} = 49.15$, $p < 0.001$; unilateral EC lesion: lesion side $F_{(1,7)} = 0.15$, n.s.; day $F_{(7,49)} = 33.28$, $p < 0.001$; disconnection lesion: lesion side $F_{(1,7)} = 0.03$, n.s.; day $F_{(7,49)} = 51.97$, $p < 0.001$; no lesion side \times day interactions were observed) as well as in other tests (data not shown). Therefore, the possible effects of the lesion side were not considered further in subsequent statistical analyses. A repeated-measures ANOVA of lever pressing during training revealed a significant effect of day ($F_{(7,252)} = 171.58$, $p < 0.001$), but no effect of group ($F < 1$, n.s.) and no group \times day interaction ($F < 1$, n.s.).

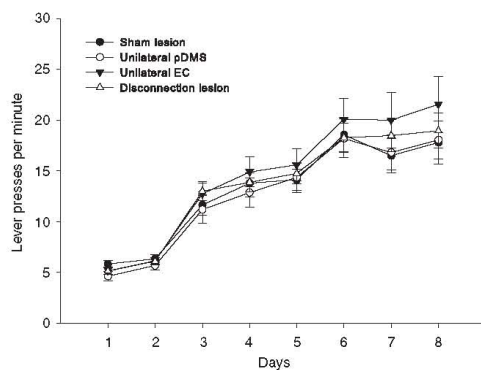


Figure 3 Lever training. Mean lever presses \pm SEM per minute averaged for both actions from animals of all four groups. Ratio schedules increased across training days as follows: days 1 and 2 = CRF, days 3–5 = RR-5, and days 6–8 = RR-10.

Outcome Devaluation

A clear outcome devaluation effect was observed in all treatment groups. Planned contrast analysis revealed that lever press rates in each treatment group were significantly different for the valued vs devalued reward (Figure 4).

Contingency Degradation

A selective degradation of the instrumental contingency over 6 days of degradation training had distinctive effects in treatment groups as shown in Figure 5. A repeated-measures ANOVA of the contingency training data revealed a significant effect of degradation ($F_{(1,34)} = 13.53$, $p < 0.001$), no effect of group ($F < 1$, n.s.), and no group \times degradation interaction ($F < 2$, n.s.). Although it is possible that the failure to find a reliable interaction reflects no difference between groups, an analysis of simple effects can be warranted even in the face of a nonsignificant interaction (Howell, 2007). Accordingly, an explorative simple effects analysis revealed that the sham lesion group ($F_{(1,10)} = 5.93$, $p < 0.05$), the unilateral pDMS lesion group ($F_{(1,9)} = 5.54$, $p < 0.05$), and the unilateral EC lesion group ($F_{(1,8)} = 6.06$, $p < 0.05$) showed a degradation effect, but this was not the case for the disconnection lesion group ($F < 2$, n.s.). Hence, animals with a disconnection of EC and the pDMS seemed to be less sensitive to the contingency degradation training procedure.

The critical contingency degradation test performed in extinction confirmed this observation and indicated that the sensitivity to contingency degradation was impaired in animals with a disconnection of the EC and the pDMS. Planned contrast analysis of the data from the degradation test in extinction revealed that, except for the disconnection lesion group, animals performed significantly less responses on the lever for which the contingency had been degraded (Figure 6).

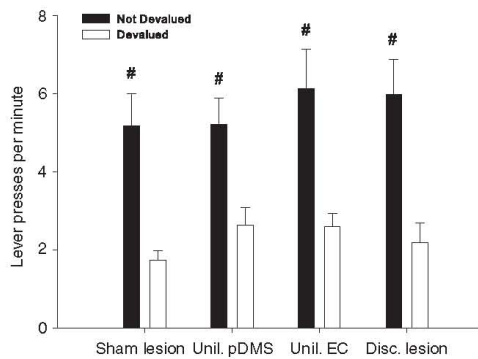


Figure 4 Outcome devaluation. Mean lever presses per minute \pm SEM on the devalued and not-devalued lever during the 10-min choice extinction test, after one of the outcomes was devalued using a specific satiety procedure. Both levers were inserted but no outcomes were given. Planned contrast analysis revealed that lever-press rates in each treatment group were significantly different for the valued vs devalued reward ($\#p < 0.01$).

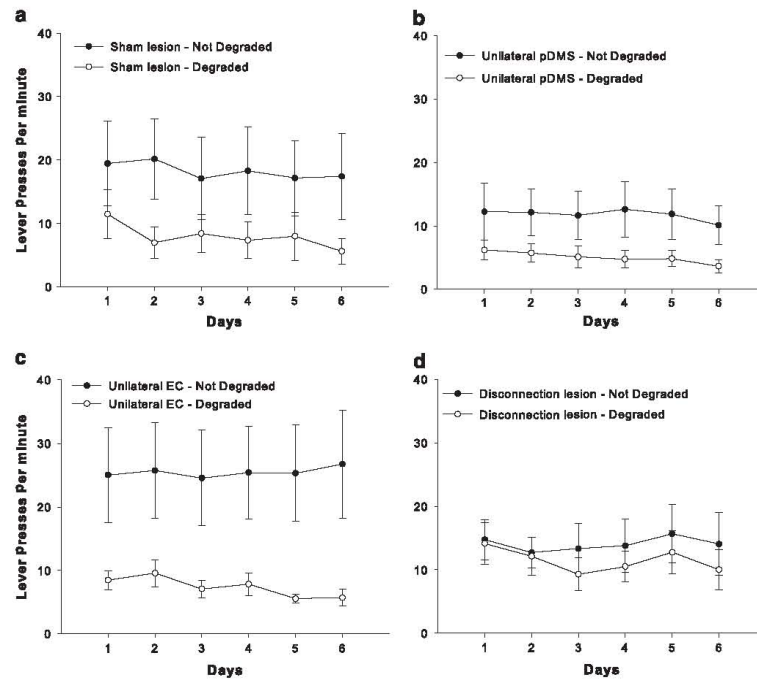


Figure 5 Contingency degradation training. Mean lever presses per minute \pm SEM during contingency degradation training. (a) Animals with sham lesions, (b) animals with unilateral pDMS lesions, (c) animals with unilateral EC lesions, and (d) animals with EC pDMS disconnection lesions. One action–outcome contingency was degraded by unpaired delivery of an outcome that was the same as that what was earned by pressing the degraded lever (RR-20).

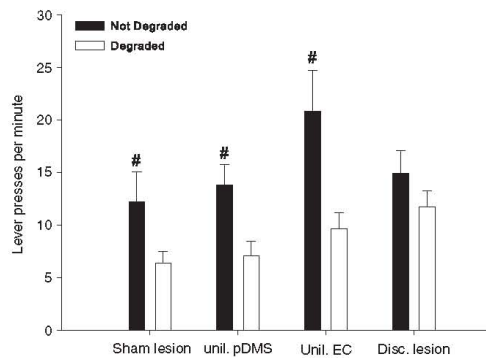


Figure 6 Contingency degradation test. Mean lever presses \pm SEM per minute during the 10-min choice extinction test from animals of all treatment groups. Both levers were inserted but no outcomes were given. Planned contrast analysis revealed that, except for the disconnection lesion group, animals performed significantly less responses on the lever for what the contingency had been degraded ($\#p < 0.01$).

DISCUSSION

Our results reveal that rats subjected to a disconnection of the EC and the pDMS were sensitive to outcome

devaluation, but showed a reduced sensitivity to the degradation of the instrumental contingency. Previous studies already showed that bilateral cell body lesions of the EC (Corbit *et al*, 2002) and the pDMS (Yin *et al*, 2005) as well as bilateral DA depletions of the pDMS (Lex and Hauber, 2010) impaired the sensitivity to contingency degradation. Therefore, our present data suggest that interactions between EC and pDMS support the detection of changes in the causal relationship between an action and its consequences.

Animals with EC–pDMS disconnection lesions responded selectively in the outcome devaluation test, indicating that their ability to discriminate between the two actions and the two outcomes was not compromised. Furthermore, lesioned rats were sensitive to changes in the outcome value and could integrate such a change in value into an association between a specific action and the related outcome. Hence, encoding the current value of an outcome as well as encoding and retrieval of action–outcome associations that guide selective responding does not depend on an interaction between the EC and the pDMS. Given the fact that the prelimbic region of the prefrontal cortex is critical for instrumental learning (Balleine and Dickinson, 1998; Balleine and O’Doherty, 2010; Corbit and Balleine, 2003; Killcross and Coutureau, 2003), interactions between prefrontal cortex and pDMS may have a crucial role in encoding actions and outcomes.

In contrast, animals with a disconnection lesion of the EC and the pDMS pressed the levers as if reward delivery was still dependent on their actions, even if one action was no longer causal to the delivery of a specific reward. This impairment was pronounced if animals with disconnection lesions were tested in extinction, but moderate if tested during contingency degradation training. Conversely, animals with sham lesions were already sensitive to the effects of the contingency degradation on the first day of training, which is in accordance with earlier observations (Corbit *et al.*, 2001, 2002; Corbit and Balleine, 2003). It is important to note that in the contingency degradation procedure the critical test is the extinction test, as it examines previously learned associations without contamination by new learning (Dickinson and Balleine, 1994; Niv *et al.*, 2006). Thus, lesions that impair the sensitivity to contingency degradation tested in extinction can have no (Corbit and Balleine, 2003) or moderate effects (eg, Corbit and Balleine, 2000; Corbit *et al.*, 2002; Lex and Hauber, 2010) on contingency degradation training. The impaired sensitivity might not reflect an impairment in encoding action–outcome associations *per se* as the same animals showed an outcome devaluation effect that relies on an intact action–outcome association. It has been argued that in normal rats reduced instrumental performance associated with contingency degradation results from a comparison of the validity that an action is predictive of reward and the validity that the background or context is predictive of reward (eg, Colwill and Rescorla, 1986; Corbit and Balleine, 2000). Previous studies showed that bilateral EC lesions impaired context conditioning (eg, Majchrzak *et al.*, 2006; Maren and Fanselow, 1997) and produced an insensitivity to a degraded instrumental contingency, but left intact the sensitivity to outcome devaluation (Corbit *et al.*, 2002). Therefore, Corbit *et al.* (2002) suggested that animals with bilateral EC lesions are insensitive to the contingency degradation procedure because they have deficits in forming or representing associations between context and reward. As a result, contextual cues did not compete with other predictors of reward during contingency degradation. Importantly, anatomical studies in rats using retrograde labeling revealed that the pDMS receives significant direct projections from the EC (McGeorge and Faull, 1987, 1989). Thus, the sensitivity to contingency degradation as tested here could rely on the contextual information flow from the EC to the pDMS. Accordingly, it is conceivable that the reduced sensitivity to contingency degradation in animals with EC–pDMS disconnections was due to an impaired processing of reward-related contextual information.

Our previous study showed that a bilateral DA depletion of the pDMS impaired the sensitivity to contingency degradation, but left the sensitivity to outcome devaluation intact. Therefore, we suggested that DA in the pDMS contributes to instrumental conditioning by supporting the detection of the causal relationship between an action and its consequences (Lex and Hauber, 2010). Consistent with this notion, the present disconnection study that involved pDMS DA depletions produced a similar pattern of impairments. Furthermore, our present results point to the possibility that DA signaling in the pDMS is important in enabling the integration of contextual information within the pDMS. In a similar vein, electrophysiological studies

showed that reward-directed behavior depends on the interaction between hippocampal inputs and neurons in the ventral striatum that is modulated by DA (Goto and Grace, 2005). Specifically, it has been suggested that a phasic DA release evoked when an animal encounters unexpected reward facilitates the hippocampal drive of nucleus accumbens neurons through action on D1 receptors. In contrast, a suppression of DA release could decrease tonic DA stimulation of D2 receptors and, in turn, input integration in the nucleus accumbens is shifted favoring prefrontal over hippocampal signals (Goto and Grace, 2008). Correspondingly, contingency degradation as tested here represents a situation involving an unexpected transition of the predictive value of the context. Such a change of the instrumental contingency could entail a prediction error signaled by a phasic DA release (Schultz, 1997, 1998) that facilitates the integration of entorhinal information by activation of D1 receptors. As phasic DA signaling was impaired in animals with EC–pDMS disconnection lesions, striatal processing of entorhinal signals might have been compromised such that the context did not become a predictor for the reward during contingency degradation. However, it is also evident that a large variety of behavioral processes simply rely on an appropriate level of tonic DA receptor stimulation (see Schultz, 2007 for a review). Given this enabling function of tonic DA transmission, a striatal integration of entorhinal signals underlying the sensitivity to contingency degradation could merely depend on tonic DA release. Thus, from our results it is not clear whether tonic or phasic DA release or an interaction between these DA states could be involved in the striatal regulation of EC input.

Notably, studies that examined spatial navigation in mazes provided support to the notion that DMS and hippocampal formation may form a functional circuit (Mulder *et al.*, 2004; Ragozzino *et al.*, 2002b). For instance, unlike sham controls, animals with pDMS cell body lesions tested in a cross maze task used a response, instead of a place strategy, possibly because of an impaired representation of contextual cues (Yin and Knowlton, 2004). Remarkably, bilateral DA depletions of the pDMS produced a similar strategy shift in the same task (B. Lex and W. Hauber, unpublished results). Therefore, the pDMS might represent a key component of a cortico-striatal circuit that mediates flexible goal-directed behavior based on contextual representation (Balleine and O'Doherty, 2010; Yin and Knowlton, 2006). Consistent with this notion, our present findings suggest that, possibly by processing contextual signals, direct pathways between EC and pDMS provide flexibility to goal-directed behavior if the context becomes a reliable predictor of reward. However, goal-directed behavior tested in operant tasks as used here and spatial navigation tasks might involve different forms of learning (see Yin *et al.*, 2008 for a recent review); therefore, respective inferences have to be made with caution.

Notably, studies using functional magnetic resonance imaging in humans showed an involvement of the caudate nucleus in contingency learning. For instance, Tricomi *et al.* (2004) showed that caudate activity is modulated by the action–outcome contingency, as a strong striatal activation occurred when subjects perceived a contingency between a button press response and an outcome. Similarly, Tanaka



et al (2008) revealed that neural activity in the caudate nucleus was modulated as a function of the contingency between the rate of button pressing and the amount of money earned. In addition, Delgado *et al* (2005) showed that during contingency learning the activity in the caudate nucleus was particularly robust during the early phases of learning but decreased as learning progressed. However, it is yet unknown whether a compromised striatal DA transmission, for example, in patients with Parkinson's disease or in patients treated with dopamine antagonists, impairs the sensitivity to a contingency degradation.

To conclude, a number of brain areas, such as the prelimbic region of the medial prefrontal cortex (Balleine and Dickinson, 1998; Killcross and Coutureau, 2003), the basolateral amygdala (Balleine *et al*, 2003), the pDMS (Yin *et al*, 2005), the mediodorsal thalamus (Corbit *et al*, 2003), and the EC (Corbit *et al*, 2002), have been implicated to mediate the sensitivity to contingency degradation. In addition, DA in the pDMS (Lex and Hauber, 2010), but not in the prelimbic subregion of the prefrontal cortex (but see Naneix *et al*, 2009), mediates the sensitivity to contingency degradation. However, interactions between these brain areas underlying sensitivity to contingency are largely unknown so far. The present results suggest that interactions between EC and pDMS are involved in the detection of changes in the causal relationship between an action and its consequences. Furthermore, our findings suggest that DA in the pDMS is critical to adapt goal-directed behavior to changing environments, possibly by modulating the contextual information flow from the EC to the pDMS.

ACKNOWLEDGEMENTS

This research was supported by the Deutsche Forschungsgemeinschaft (HA2340/8-2).

DISCLOSURE

Wolfgang Hauber has received an honorarium for consulting from Merz Pharmaceuticals GmbH (Frankfurt, Germany) within the past 3 years. The other authors declare no conflict of interest.

REFERENCES

- Balleine BW, Dickinson A (1998). Goal-directed instrumental action: contingency and incentive learning and their cortical substrates. *Neuropharmacology* 37: 407–419.
- Balleine BW, Killcross AS, Dickinson A (2003). The effect of lesions of the basolateral amygdala on instrumental conditioning. *J Neurosci* 23: 666–675.
- Balleine BW, O'Doherty JP (2010). Human and rodent homologies in action control: corticostriatal determinants of goal-directed and habitual action. *Neuropsychopharmacology* 35: 48–69.
- Baunez C, Robbins TW (1999). Effects of dopamine depletion of the dorsal striatum and further interaction with subthalamic nucleus lesions in an attentional task in the rat. *Neuroscience* 92: 1343–1356.
- Blandini F, Levandis G, Bazzini E, Nappi G, Armentero MT (2007). Time-course of nigrostriatal damage, basal ganglia metabolic changes and behavioural alterations following intrastriatal injection of 6-hydroxydopamine in the rat: new clues from an old model. *Eur J Neurosci* 25: 397–405.
- Brown VJ, Robbins TW (1991). Simple and choice reaction time performance following unilateral striatal dopamine depletion in the rat. Impaired motor readiness but preserved response preparation. *Brain* 114(Part 1B): 513–525.
- Calaminus C, Hauber W (2009). Modulation of behavior by expected reward magnitude depends on dopamine in the dorsomedial striatum. *Neurotox Res* 15: 97–110.
- Chudasama Y, Baunez C, Robbins TW (2003). Functional disconnection of the medial prefrontal cortex and subthalamic nucleus in attentional performance: evidence for corticosubthalamic interaction. *J Neurosci* 23: 5477–5485.
- Colwill R, Rescorla R (1986). Associative structures in instrumental learning. In: Bower G (ed). *The Psychology of Learning and Motivation*. Academic Press: New York. Vol 20, pp 55–104.
- Corbit LH, Balleine BW (2000). The role of the hippocampus in instrumental conditioning. *J Neurosci* 20: 4233–4239.
- 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.
- Corbit LH, Balleine BW (2003). The role of prelimbic cortex in instrumental conditioning. *Behav Brain Res* 146: 145–157.
- Corbit LH, Muir JL, Balleine BW (2003). Lesions of mediodorsal thalamus and anterior thalamic nuclei produce dissociable effects on instrumental conditioning in rats. *Eur J Neurosci* 18: 1286–1294.
- Corbit LH, Ostlund SB, Balleine BW (2002). Sensitivity to instrumental contingency degradation is mediated by the entorhinal cortex and its efferents via the dorsal hippocampus. *J Neurosci* 22: 10976–10984.
- Coutureau E, Galani R, Jarrard LE, Cassel JC (2000). Selective lesions of the entorhinal cortex, the hippocampus, or the fimbria-fornix in rats: a comparison of effects on spontaneous and amphetamine-induced locomotion. *Exp Brain Res* 131: 381–392.
- Delgado MR, Miller MM, Inati S, Phelps EA (2005). An fMRI study of reward-related probability learning. *Neuroimage* 24: 862–873.
- Dickinson A, Balleine BW (1994). Motivational control of goal directed action. *Anim Learn Behav* 22: 1–18.
- Dunnett SB, Meldrum A, Muir JL (2005). Frontal-striatal disconnection disrupts cognitive performance of the frontal-type in the rat. *Neuroscience* 135: 1055–1065.
- Faure A, Haberland U, Conde F, El Massioui N (2005). Lesion to the nigrostriatal dopamine system disrupts stimulus-response habit formation. *J Neurosci* 25: 2771–2780.
- Goto Y, Grace AA (2005). Dopaminergic modulation of limbic and cortical drive of nucleus accumbens in goal-directed behavior. *Nat Neurosci* 8: 805–812.
- Goto Y, Grace AA (2008). Limbic and cortical information processing in the nucleus accumbens. *Trends Neurosci* 31: 552–558.
- Hauber W, Bubser M, Schmidt WJ (1994). 6-Hydroxydopamine lesion of the rat prefrontal cortex impairs motor initiation but not motor execution. *Exp Brain Res* 99: 524–528.
- Hauber W, Sommer S (2009). Prefrontostriatal circuitry regulates effort-related decision making. *Cereb Cortex* 19: 2240–2247.
- Howell D (2007). *Statistical Methods for Psychology*, 6th edn. Thomson Wadsworth: Belmont.
- Killcross S, Coutureau E (2003). Coordination of actions and habits in the medial prefrontal cortex of rats. *Cereb Cortex* 13: 400–408.
- Lex B, Hauber W (2010). The role of dopamine in the prelimbic cortex and the dorsomedial striatum in instrumental conditioning. *Cereb Cortex* 20: 873–883.
- Majchrzak M, Ferry B, Marchand AR, Herbeaux K, Seillier A, Barbelivien A (2006). Entorhinal cortex lesions disrupt fear conditioning to background context but spare fear conditioning to a tone in the rat. *Hippocampus* 16: 114–124.

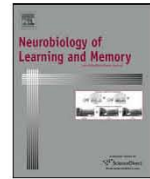


- Maren S, Fanselow MS (1997). Electrolytic lesions of the fimbria/fornix, dorsal hippocampus, or entorhinal cortex produce anterograde deficits in contextual fear conditioning in rats. *Neurobiol Learn Mem* 67: 142–149.
- McGeorge AJ, Faull RL (1987). The organization and collateralization of corticostriate neurons in the motor and sensory cortex of the rat brain. *Brain Res* 423: 318–324.
- McGeorge AJ, Faull RL (1989). The organization of the projection from the cerebral cortex to the striatum in the rat. *Neuroscience* 29: 503–537.
- Moukhles H, Amalric M, Nieoullon A, Daszuta A (1994). Behavioural recovery of rats grafted with dopamine cells after partial striatal dopaminergic depletion in a conditioned reaction-time task. *Neuroscience* 63: 73–84.
- Mulder AB, Tabuchi E, Wiener SI (2004). Neurons in hippocampal afferent zones of rat striatum parse routes into multi-pace segments during maze navigation. *Eur J Neurosci* 19: 1923–1932.
- Naneix F, Marchand AR, Di Scala G, Pape JR, Coutureau E (2009). A role for medial prefrontal dopaminergic innervation in instrumental conditioning. *J Neurosci* 29: 6599–6606.
- Niv Y, Joel D, Dayan P (2006). A normative perspective on motivation. *Trends Cogn Sci* 10: 375–381.
- Olton DS, Walker JA, Wolf WA (1982). A disconnection analysis of hippocampal function. *Brain Res* 233: 241–253.
- Paxinos G, Watson C (2007). *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*, 6th edn. Elsevier Academic Press: San Diego.
- Ragozzino ME, Jih J, Tzavos A (2002a). Involvement of the dorsomedial striatum in behavioral flexibility: role of muscarinic cholinergic receptors. *Brain Res* 953: 205–214.
- Ragozzino ME, Ragozzino KE, Mizumori SJ, Kesner RP (2002b). Role of the dorsomedial striatum in behavioral flexibility for response and visual cue discrimination learning. *Behav Neurosci* 116: 105–115.
- Schultz W (1997). Dopamine neurons and their role in reward mechanisms. *Curr Opin Neurobiol* 7: 191–197.
- Schultz W (1998). Predictive reward signal of dopamine neurons. *J Neurophysiol* 80: 1–27.
- Schultz W (2007). Multiple dopamine functions at different time courses. *Annu Rev Neurosci* 30: 259–288.
- Tanaka SC, Balleine BW, O'Doherty JP (2008). Calculating consequences: brain systems that encode the causal effects of actions. *J Neurosci* 28: 6750–6755.
- Traissard N, Herbeaux K, Cosquer B, Jeltsch H, Ferry B, Galani R et al (2007). Combined damage to entorhinal cortex and cholinergic basal forebrain neurons, two early neurodegenerative features accompanying Alzheimer's disease: effects on locomotor activity and memory functions in rats. *Neuropsychopharmacology* 32: 851–871.
- Tricomi EM, Delgado MR, Fiez JA (2004). Modulation of caudate activity by action contingency. *Neuron* 41: 281–292.
- Warburton EC, Baird AL, Morgan A, Muir JL, Aggleton JP (2000). Disconnecting hippocampal projections to the anterior thalamus produces deficits on tests of spatial memory in rats. *Eur J Neurosci* 12: 1714–1726.
- 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: 165–186.
- Yin HH, Knowlton BJ (2004). Contributions of striatal subregions to place and response learning. *Learn Mem* 11: 459–463.
- Yin HH, Knowlton BJ (2006). The role of the basal ganglia in habit formation. *Nat Rev Neurosci* 7: 464–476.
- Yin HH, Ostlund SB, Balleine BW (2008). Reward-guided learning beyond dopamine in the nucleus accumbens: the integrative functions of cortico-basal ganglia networks. *Eur J Neurosci* 28: 1437–1448.
- Yin HH, Ostlund SB, Knowlton BJ, Balleine BW (2005). The role of the dorsomedial striatum in instrumental conditioning. *Eur J Neurosci* 22: 513–523.



Contents lists available at ScienceDirect

Neurobiology of Learning and Memory

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ynlme

The role of nucleus accumbens dopamine in outcome encoding in instrumental and Pavlovian conditioning

Bjoern Lex, Wolfgang Hauber*

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

ARTICLE INFO

Article history:

Received 23 July 2009
 Revised 12 October 2009
 Accepted 15 November 2009
 Available online xxxx

Keywords:

Nucleus accumbens core
 Outcome devaluation
 Sensory-specific satiety
 Dopamine depletion
 Rat

ABSTRACT

Considerable evidence suggests that dopamine in the core subregion of the nucleus accumbens is not only involved in Pavlovian conditioning but also supports instrumental performance. However, it is largely unknown whether NAc dopamine is required for outcome encoding which plays an important role both in Pavlovian stimulus–outcome learning and instrumental action–outcome learning. Therefore, we tested rats with 6-hydroxydopamine (6-OHDA) induced dopamine depletion of the NAc core for their sensitivity to outcome devaluation in a Pavlovian and an instrumental task. Results indicate that 6-OHDA-lesioned animals were sensitive to outcome devaluation in an instrumental task. This finding provides support to the notion that NAc core dopamine may not be crucial in encoding action–outcome associations. However, during instrumental conditioning lever pressing rates in 6-OHDA-lesioned animals were markedly lower which could reflect an impaired behavioral activation. By contrast, after outcome-specific devaluation in a Pavlovian task, performance in 6-OHDA-lesioned animals was impaired, i.e. their magazine-directed responding was non-selectively reduced. One possibility to explain non-selective responding is that NAc core DA depletion impaired the ability of conditioned stimuli to activate the memory of the current value of the reinforcer.

© 2009 Elsevier Inc. All rights reserved.

1. Introduction

It is well known that Pavlovian conditioned approach behavior is sensitive to manipulations of the outcome value. For instance, in an outcome devaluation task (Holland & Straub, 1979) an animal first learns that a cue predicts the delivery of an appetitive outcome. Then, the value of the outcome is reduced, e.g. by using a specific satiety procedure. Thereafter, responding to the cue is assessed in the absence of the outcome. In an intact animal, responding to the cue is suppressed suggesting that performance is mediated by a representation of the outcome. Likewise, after instrumental training, devaluation of an outcome by pre-feeding reduced performance of the action that leads to the devalued outcome (Adams & Dickinson, 1981). The ability to integrate a shift in the outcome value into a previously acquired outcome representation is essential to adapt behavior to changing environments.

The sensitivity to outcome devaluation is mediated by a number of interconnected structures including the basolateral complex of the amygdala (Balleine, Killcross, & Dickinson, 2003; Blundell, Hall, & Killcross, 2003; Hatfield, Han, Conley, Gallagher, & Holland,

1996; Malkova, Gaffan, & Murray, 1997), the orbitofrontal cortex (Gallagher, McMahan, & Schoenbaum, 1999; Izquierdo, Suda, & Murray, 2004) and the mediodorsal thalamus (Corbit, Muir, & Balleine, 2003; Mitchell, Browning, & Baxter, 2007; Pickens, 2008). Furthermore, the sensitivity to outcome devaluation depends on the integrity of the nucleus accumbens (NAc). For instance, using an instrumental task Corbit, Muir, and Balleine (2001) revealed that cell body lesions of the NAc core reduced the sensitivity to outcome devaluation without altering the sensitivity to a degradation of the instrumental contingency. By contrast, cell body lesions of the NAc shell neither affected the sensitivity to outcome devaluation nor to contingency degradation (Corbit et al., 2001). Therefore, the NAc core might not encode instrumental contingencies, but may mediate outcome-specific biases on the selection of instrumental action (see Yin, Ostlund, & Balleine, 2008 for a recent review). Furthermore, the NAc plays a crucial role in Pavlovian conditioning (see Cardinal, Parkinson, Hall, & Everitt, 2002 for a review). However, the effects of NAc core lesions on outcome devaluation sensitivity in a Pavlovian task have not been examined so far.

Considerable evidence suggests that dopamine (DA) in the NAc is critical for Pavlovian conditioning (Cheng, de Bruin, & Feenstra, 2003; Dalley et al., 2002, 2005; Di Ciano, Cardinal, Cowell, Little, & Everitt, 2001; Parkinson et al., 2002) and supports instrumental performance as well (Baldwin, Sadeghian, & Kelley, 2002). However,

* Corresponding author. Address: Universität Stuttgart, Biologisches Institut, Abteilung Tierphysiologie, Pfaffenwaldring 57, D-70550 Stuttgart, Germany. Fax: +49 711 685 55003.

E-mail address: hauber@bio.uni-stuttgart.de (W. Hauber).

it is unknown whether DA in the NAc core is involved in outcome encoding which plays a crucial role both in Pavlovian stimulus–outcome and instrumental action–outcome learning. Therefore, in the present experiments we tested rats subjected to 6-hydroxydopamine (6-OHDA) lesions of the NAc core for their sensitivity to outcome devaluation in a Pavlovian and an instrumental task.

2. Materials and methods

2.1. Experiment 1: effect of NAc core DA depletion on instrumental conditioning

2.1.1. Subjects and apparatus

The subjects were 12 naive male Lister-Hooded rats (Harlan-Winkelmann, Borcheln, Germany) weighing between 200 and 230 g upon arrival. The rats were housed in groups of four in transparent plastic cages (55 × 39 × 27 cm, Ferplast, Nürnberg, Germany) in a temperature- and humidity- controlled room (20 ± 2 °C, 50–60%) on a 12:12-h light–dark cycle (lights on at 7.00 A.M.). Throughout the experiment the rats had *ad libitum* access to water. Standard laboratory maintenance chow (Altromin, Lage, Germany) was given *ad libitum* for 2 days after arrival, after which food was restricted to 15 g per animal per day to maintain them at ~85% of their free-feeding weight. All animal experiments were conducted according to the German Law on Animal Protection and approved by the proper authorities.

Training and testing took place in identical operant chambers (24 × 21 × 30 cm; Med Associates, St. Albans, VT, USA) housed within sound-attenuating cubicles. Each operant chamber was equipped with a pellet dispenser that delivered 45 mg Noyes Pellets (formula A/I; Sandown Scientific, Hampton, Middlesex, UK) into a dual pellet/liquid cup receptacle which was positioned in the middle of the right wall, and a syringe pump that delivered 0.1 ml of a 20% sucrose solution into the same receptacle. A head-entry detector consisting of a photo sensor was installed inside the dual pellet/liquid cup receptacles to detect head entries and to measure time spent in the food cup. Each chamber also contained two retractable levers located on either side of the dual pellet/liquid cup receptacle. A 24 V/3 W houselight mounted on the top-centre of the opposite wall illuminated the chambers and an electric fan integrated into the cubicle provided a constant background noise (~70 dB). A computer with the PC program MED-PC IV controlled the equipment and recorded the data.

2.1.2. Surgery

After pre-treatment with atropine (0.2 mg/kg *i.p.*; WDT, Garbsen, Germany), the animals were anaesthetized with sodium pentobarbital (60 mg/kg *i.p.*; Medial GmbH, Hallbergmoos, Germany) and xylazine (4 mg/kg *i.m.*; Bayer AG, Leverkusen, Germany) before being placed in a stereotaxic frame (Kopf Instruments, Tujunga, USA). The skull surface was exposed and two small holes were drilled bilaterally above the NAc core. Animals subjected to DA depletion ($n = 6$) received bilateral intra-core injections of 4 µg 6-OHDA hydrobromide (Sigma Aldrich, Steinheim, Germany) in 0.4 µl saline containing 0.01% ascorbic acid (Sigma Aldrich, Steinheim, Germany) at the following coordinates using a 1 µl Hamilton syringe: AP +1.2; ML ±2.1; DV –7.0 with the tooth bar –3.3 mm below the interaural line. Coordinates were determined from the atlas of Paxinos and Watson (2007). Sham controls ($n = 6$) received injections of 0.4 µl vehicle, *i.e.* saline containing 0.01% ascorbic acid, at the same coordinates. The infusion time was 4 min and the needle was left in place for an additional 5 min to allow for diffusion. Animals were allowed to recover for at least 7 days before behavioral testing.

2.1.3. Procedure

The behavioral procedure was similar to a protocol previously used in our lab (adapted from Corbit & Balleine, 2003). Unless otherwise stated each training session lasted for 20 min, began with the illumination of the houselight as well as the insertion of the appropriate lever and ended with the retraction of the lever and the turning off of the houselight.

2.1.3.1. Magazine training and instrumental conditioning. First, all animals received two magazine training sessions in which both outcomes (pellets and 20% sucrose solution) were delivered on independent random-time schedules (RT-60) with both levers withdrawn. Thereafter, lever-press training was started; for half of the animals of each lesion group pressing the left lever earned one pellet and pressing the right lever earned 0.1 ml of the 20% sucrose solution. The other half received the opposite action–outcome pairings. All animals received two daily lever-press training sessions in which only one lever and one outcome was available. After the first training session, there was at least a 2-h break before the second training session with the other lever–outcome pairing began. The order of the pellet and sucrose sessions was alternated each day. Lever-press training was conducted for 6 consecutive days with progressively leaner random ratio (RR-) schedules of reinforcement, except for the first two days in which a continuous reinforcement schedule (CRF) was used (days 1–2 = CRF, $P(O|A) = 1.0$ /days 3–4 = RR-5, $P(O|A) = 0.2$ /days 5–6 = RR-10, $P(O|A) = 0.1$).

2.1.3.2. Outcome devaluation test. In this test, transparent plastic feeding cages (42 × 26 × 18 cm, Ferplast, Nürnberg, Germany) were used for pre-feeding. To familiarize animals to these cages, they were placed into the cages immediately before their training session for 20 min on the last 2 days of lever-press training (RR-10). On the day after the last instrumental training session, all animals were given 1 h *ad libitum* access to one of the two outcomes in the feeding cages (1 animal per cage). Half of the animals of each lesion group received pellets (in a glass bowl) and the other half received the sucrose solution (in a drinking bottle). Immediately after pre-feeding, the rats were placed into the operant chambers and a 10 min choice extinction test was conducted, in which both levers were inserted but no outcomes were given. On the next day the rats received two instrumental retraining sessions (RR-10; one session on each lever) after which they were given a second devaluation test. This second devaluation test was identical to the first one except that those animals that had received free access to the pellets on the first test were given free access to the sucrose solution and *vice versa*.

2.1.4. Immunohistochemistry

Tyrosine hydroxylase (TH) immunohistochemistry was used to assess the exact location and extent of the loss of DA terminals within the NAc core. After the behavioral testing animals were euthanized 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 µm; Microm HM550, Microm GmbH, Walldorf, Germany) in the region of the NAc core. The slices were initially washed in TRIS-buffered saline (TBS; 3 × 10 min), treated for 15 min with TBS containing 2% hydrogen peroxide and 10% methanol, washed again in TBS (3 × 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 (3×10 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 (3×10 min) and stained with 3,3'-diaminobenzidine (DAB Substrate Kit, Vector Laboratories). The brain slices were then washed in TBS (3×10 min), mounted on coated slides, dried overnight, dehydrated in ascending alcohol concentrations, treated with xylene and finally coverslipped using DePex (Serva, Heidelberg, Germany). To determine the size and placement of the lesions the TH-immunoreactivity was analyzed under a microscope with reference to the atlas of Paxinos and Watson (2007).

2.2. Experiment 2: effect of NAc core DA depletion on Pavlovian conditioning

Unless otherwise noted the same procedures and analyses as in Experiment 1 were used.

2.2.1. Subjects and apparatus

Subjects were 16 naive male Lister-Hooded rats (Harlan-Winkelmann, Borch, Germany) weighing between 200 and 230 g upon arrival.

2.2.2. Surgery

The surgical procedure was identical to Experiment 1 with the 16 animals being assigned to two groups (lesion $n = 8$; sham $n = 8$).

2.2.3. Procedure

2.2.3.1. Magazine training and Pavlovian conditioning. First, all animals received two magazine training sessions in which both outcomes (pellets and 20% sucrose solution) were delivered on independent random-time schedules (RT-60). Thereafter, Pavlovian conditioning was given over 15 consecutive days. Two 80 dB auditory-stimuli (3-kHz tone and white-noise) served as conditioned stimuli (CS). Each CS was paired with either pellet or the sucrose solution. For half of the rats of each lesion group the tone was paired with pellet delivery and the white noise with sucrose solution. The other half of the animals of each lesion group were trained on the other stimulus-reward association, i.e. tone predicted sucrose and white-noise predicted pellet. Each stimulus was presented four times in random order interspersed with intervals (inter-trial interval, ISI) in which no stimulus was given. Each CS period lasted for 2 min in which the appropriate reward was given on a RT-30 s schedule of reinforcement followed by an ISI interval of 5 min. The approach ratio was calculated as a measure of Pavlovian conditioning (Cardinal et al., 2003; Lex & Hauber, 2008; Murschall & Hauber, 2005, 2006; Parkinson, Olmstead, Burns, Robbins, & Everitt, 1999). We measured the total time spent in the food cup during CS and ISI, respectively, and calculated the approach ratio as the time the animal spent in the food receptacle during the CS versus the time spent in the food cup during the ISI + CS $[(\%CS)/(\%CS + \%ISI)]$.

2.2.3.2. Outcome devaluation test. As in Experiment 1, transparent plastic feeding cages ($42 \times 26 \times 18$ cm, Ferplast, Nürnberg, Germany) were used for pre-feeding. To familiarize animals to these cages, they were placed into the cages immediately before their training session for 20 min on the last 2 days of Pavlovian conditioning training. On the day after the last Pavlovian training session, all animals were given 1 h *ad libitum* access to one of the two outcomes in the feeding cages (1 animal per cage). Half of the animals of each lesion group received pellets in a glass bowl

and the other half received the sucrose solution in a drinking bottle. Immediately after pre-feeding, the rats were placed into the operant chambers and a choice extinction test was conducted. This extinction test was identical to the Pavlovian training sessions except that ISI intervals were reduced from 5 min to 2 min and no food rewards were given in the CSs intervals.

On the next 2 days the rats received two Pavlovian retraining session (same protocol as in training; one session per day) after which they were given a second devaluation test. This second devaluation test was identical to the first one except that those animals that had received free access to the pellets on the first test were given free access to the sucrose solution and *vice versa*.

We measured the total time spent in the food cup during CS and ISI, respectively, and calculated the approach ratio as the time the animal spent in the food receptacle during the CS versus the time spent in the food cup during the ISI + CS $[(\%CS)/(\%CS + \%ISI)]$. Previous work has found that the time spent in food cup is the most sensitive measure to analyze outcome devaluation (Holland & Straub, 1979) and has been therefore used in many earlier studies (e.g. Schoenbaum & Setlow, 2005).

2.2.3.3. Reward consumption test. On the day after the second devaluation test, we tested whether the sensory-specific selective satiation devaluation treatment did effectively alter the rats preference for rewards *per se*. It was hypothesized that selective pre-feeding should reduce consumption of the prefed, but not of the non-prefed reward. A reward consumption test was conducted in which one of the two outcomes was devalued using the specific satiety procedure described above. Half of the animals of each lesion group were allowed 1 h free access to the pellets, whereas the other half had 1 h free access to the sucrose solution. Immediately after this devaluation procedure the animals were placed in a separate cage containing two glass bowls, each of which was either filled with 30 g pellets or 30 g sucrose solution. The animals had free access to both rewards for 20 min and the amount consumed of each reward was measured by subtracting the weight of each glass bowl before the 20 min consumption test and the weight of each glass bowl after the test.

3. Results

3.1. Experiment 1: effect of NAc core DA depletion on instrumental conditioning

3.1.1. Histology

The lesion placements were assessed by reconstructing the damaged areas on standard stereotaxic atlas templates from Paxinos and Watson (2007). In Experiment 1, TH-positive fibers in the NAc core were abundant in sham-lesioned rats ($n = 6$), but rare in rats with 6-OHDA lesions ($n = 6$). The histological analysis of 6-OHDA lesions in Experiment 2 revealed very similar results. As in Experiment 1, in 6-OHDA-lesioned animals ($n = 8$), the NAc core region was nearly devoid of TH-positive fibers. Therefore, we collapsed the data; Fig. 1 gives a schematic illustration of the minimum and maximum extend of the NAc core lesion including animals from Experiment 1 ($n = 6$) and Experiment 2 ($n = 8$). The loss of TH-positive fibers in the NAc core appeared from about +2.7 to +0.7 relative to bregma with the maximum extension at around 1.5–1.2 mm relative to bregma. Furthermore, 6-OHDA lesions spared the shell region of the NAc.

3.1.2. Instrumental training

Rats received instrumental training on both levers, one delivering food pellets, the other sucrose solution. Both in sham- and 6-OHDA-lesioned rats response rates became higher as the ratio

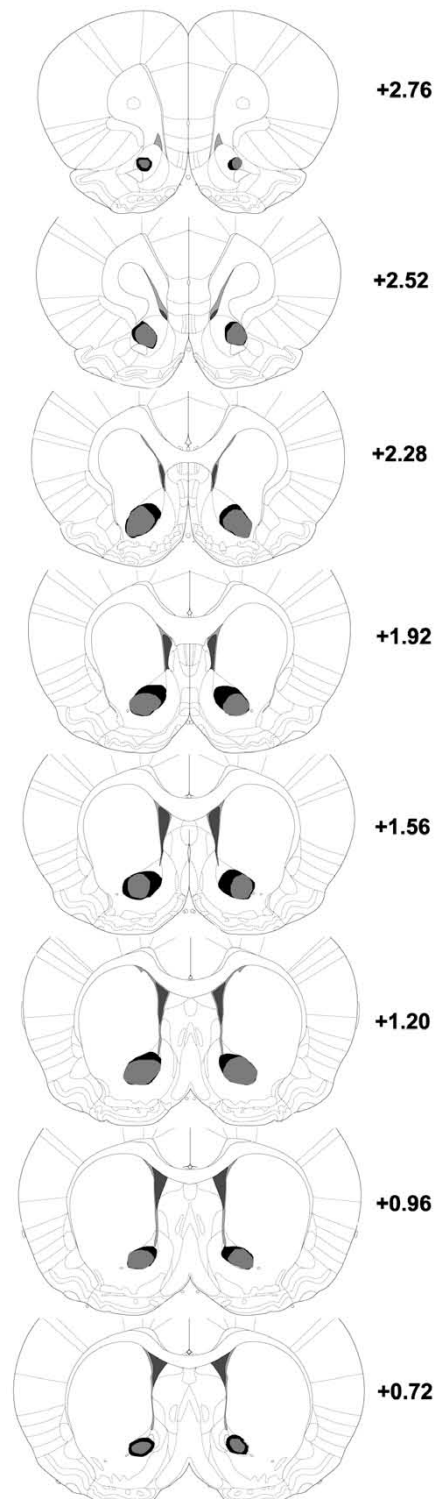


Fig. 1. Loss of DA fibers in the NAC core in Experiments 1 and 2. The loss of TH-positive fibers in 6-OHDA-lesioned animals in Experiment 1 ($n = 6$) and Experiment 2 ($n = 8$) was very similar and therefore shown in one schematic illustration; grey areas in coronal sections represent the smallest extent, black areas the largest extent of regions that were nearly devoid of TH-immunoreactive fibers. Numbers indicate distance from bregma in mm.

schedule parameter increased across consecutive training days (Fig. 2). However, relative to sham-lesioned rats, the lever-press rate of 6-OHDA-lesioned rats was reduced. In line with this observation, an ANOVA with repeated measures revealed a significant main effect of group ($F_{(1,9)} = 37.20, p < 0.001$), a main effect of day ($F_{(5,45)} = 120.54, p < 0.001$) and a significant group \times day interaction ($F_{(5,45)} = 5.34, p < 0.001$).

3.1.3. Outcome devaluation test

After the specific satiety devaluation procedure, both groups displayed a selective devaluation effect, i.e. fewer responses were emitted to the lever which in training delivered the now devalued outcome (Fig. 3). This observation was confirmed by the statistical analysis. An ANOVA with repeated measures revealed a significant effect of devaluation ($F_{(1,9)} = 13.92, p < 0.001$), but no effect of group ($F_{(1,9)} = 3.03, p > 0.1$) and no lesion \times devaluation interaction ($F_{(1,9)} = 0.16, p > 0.5$).

3.2. Experiment 2: effect of NAC core DA depletion on Pavlovian conditioning

3.2.1. Histology

The histological analysis of Experiment 2 revealed similar results as in Experiment 1. In 6-OHDA-lesioned animals, TH-positive fibers were abundant in the core subregion of the NAC of sham-lesioned rats ($n = 8$), but rare in rats with 6-OHDA lesions ($n = 8$) (Fig. 1).

3.2.2. Pavlovian training

During Pavlovian training, mean approach ratios in both groups increased as shown in Fig. 4. Likewise, the absolute number of head entries became higher during stimulus presentation relative to the ISI, regardless of stimulus identity (not shown). An ANOVA with repeated measures revealed a significant main effect of day ($F_{(14,168)} = 4.21, p < 0.001$), but not of group ($F_{(1,12)} = 0.17, p > 0.5$) and no group \times day interaction ($F_{(14,168)} = 0.42, p > 0.5$).

3.2.3. Outcome devaluation test

In sham-lesioned rats, magazine entries were lower during the stimulus that signaled the devalued reward than during the stimulus that signaled the not devalued reward. By contrast, in lesioned

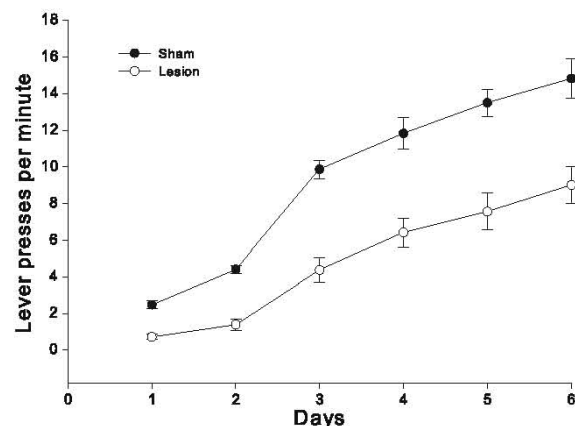


Fig. 2. Lever training. Mean lever presses per minute (\pm SEM) averaged for both actions are given. Ratio schedules increased across training days as follows: days 1–2 = CRF; days 3–4 = RR-5; days 5–6 = RR-10. An ANOVA revealed significant effects of group ($p < 0.001$) and day ($p < 0.001$) and a significant group \times day interaction ($p < 0.001$).

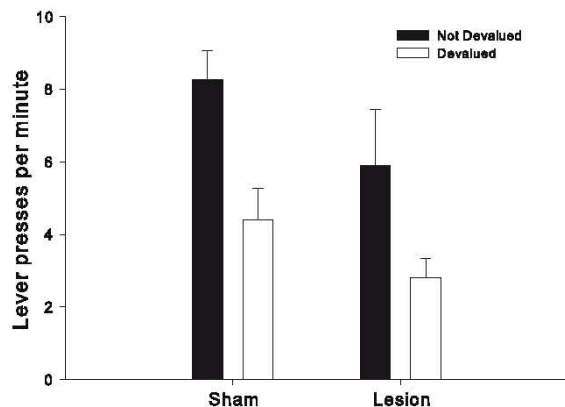


Fig. 3. Instrumental outcome devaluation. Mean lever presses per minute (\pm SEM) on the devalued and not devalued lever are shown during a choice extinction test after one of the outcomes was devalued. Both levers were inserted but no outcomes were given. An ANOVA revealed a significant effect of devaluation ($p < 0.001$), but not of group and no lesion \times devaluation interaction.

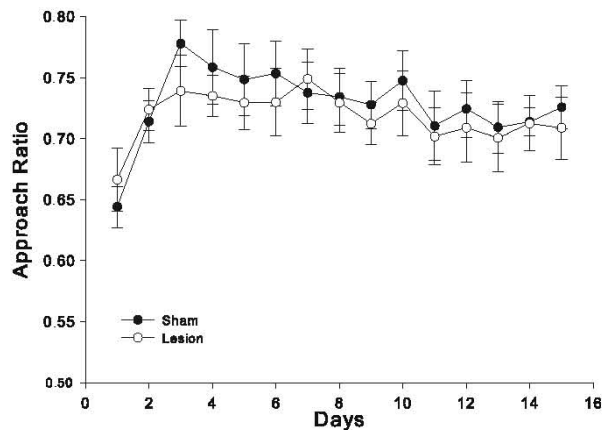


Fig. 4. Pavlovian training. Mean approach ratios (\pm SEM) are given. The approach ratio was defined as the total time the animal spent in the food receptacle during the CS versus the time spent in the food cup during the ISI + CS and calculated as follows: $(\%CS)/(\%CS + \%ISI)$. An ANOVA revealed a significant effect of day ($p < 0.001$), but not of group and no group \times day interaction.

rats magazine entries did not differ during the presentation of the stimulus predictive of either the not devalued or devalued reward (Fig. 5). The statistical analysis confirmed this observation. An ANOVA with repeated measures revealed no effect of group ($F_{(1,12)} = 0.48$, $p > 0.1$), but a significant effect of value ($F_{(1,12)} = 15.42$, $p < 0.01$) and, most importantly, a significant group \times value interaction ($F_{(1,12)} = 7.65$, $p = 0.017$). Accordingly, a simple effect analysis revealed that sham-lesioned rats had higher levels of magazine entries to the non-devalued stimulus versus devalued stimulus ($F_{(1,6)} = 22.13$, $p < 0.01$), while lesioned animals displayed similar levels of magazine entries for both stimuli ($F_{(1,6)} = 0.68$, $p > 0.4$). Likewise, a further analysis indicated that the overall time spent in food cup during the not devalued versus devalued stimulus differed in sham-lesioned animals (not devalued stimulus: 64.6 ± 17.8 s; devalued stimulus: 18.8 ± 4.34 s, $p = 0.024$, paired t -test), but not in 6-OHDA-lesioned animals (not devalued stimulus: 47.9 ± 7.9 s, devalued stimulus: 34.0 ± 5.8 s $p > 0.13$, paired t -test). Furthermore, in 6-OHDA-lesioned basal responding was not impaired; also they displayed an intact extinction effect over the course of the outcome devaluation test. In line with this

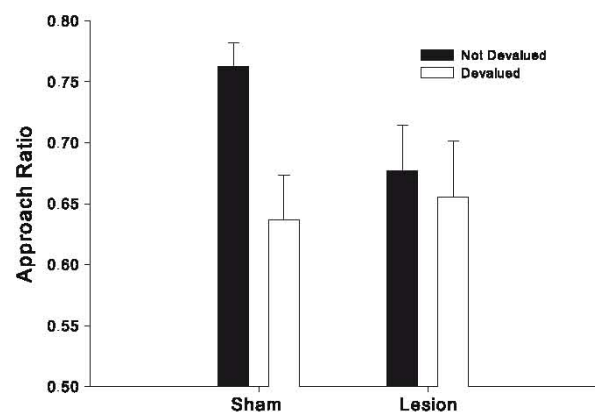


Fig. 5. Pavlovian outcome devaluation. Mean approach ratios (\pm SEM) are given. Unlike sham-lesioned animals, 6-OHDA-lesioned animals did not show a selective reduction of magazine entries to the devalued stimuli. An ANOVA revealed no effect of group, but a significant effect of value ($p < 0.01$) and a significant group \times value interaction ($p = 0.017$). Simple effect analysis further revealed that sham-lesioned rats responded less to the devalued stimulus ($p < 0.01$), while in 6-OHDA-lesioned animals response rates to both stimuli did not differ significantly.

description an ANOVA revealed that time spent in food cup during ISI did not differ between both groups (main effects of group: $F_{(1,14)} = 0.0017$, $p > 0.96$), but decreased with-session over 4 subsequent ISI (2 min each) (main effect of time: ($F_{(1,14)} = 10.4$, $p < 0.007$, no time \times group interaction: $F_{(1,14)} = 2.99$, $p > 0.11$).

3.2.4. Reward consumption test

The reward consumption test revealed that impaired sensitivity to outcome devaluation in the Pavlovian task was not simply attributable to a failure of the pre-feeding devaluation treatment to be effective in lesioned rats. In the reward consumption test, both groups preferred the non-prefed reward (Fig. 6). An ANOVA with repeated measures revealed a significant effect of value ($F_{(1,12)} = 16.01$, $p < 0.01$), but neither an effect of group ($F_{(1,12)} = 0.06$, $p > 0.5$) nor a significant value \times group interaction ($F_{(1,12)} = 1.27$, $p > 0.2$). A subsequent analysis of effect sizes (Keppel & Wickens, 2004) indicated that the effect of pre-feeding on food consumption was more pronounced in sham-lesioned animals ($d = 3.67$) relative to lesioned animals ($d = 1.12$).

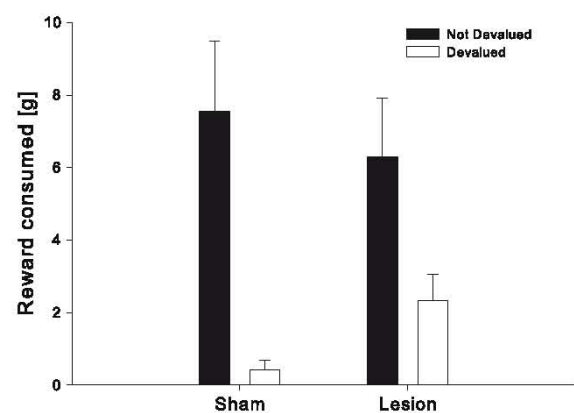


Fig. 6. Reward consumption test. Mean reward quantities (\pm SEM) ingested are given. Sham- and 6-OHDA-lesioned animals preferred the non-prefed reward. An ANOVA revealed a significant effect of value ($p < 0.01$), but not of group and no value \times group interaction.

4. Discussion

The present results indicate that NAc core DA depletions reduced the impact of devaluation in a Pavlovian but not in an instrumental learning task.

4.1. 6-OHDA lesion of the NAc core

Instead of measuring the degree of DA depletion in striatal tissue homogenates (Hauber, Bubser, & Schmidt, 1994), we used TH-immunohistochemistry to assess the exact location and size of 6-OHDA-induced loss of striatal DA fibers. Our results demonstrated that TH-positive fibers in the NAc core were abundant in sham-lesioned rats, but rare in rats with 6-OHDA lesions. Correspondingly, previous studies revealed that even lower doses of 6-OHDA (4 µg/µl; e.g., Amalric & Koob, 1987; Meredith, Ypma, & Zahm, 1995) as used here (15 µg/µl) produced a massive striatal DA depletion. Furthermore, it is unlikely that NAc lesions did recover during the course of our experiments. A detailed analysis of the time course by Blandini, Levandis, Bazzini, Nappi, and Armentero (2007) suggests that a 6-OHDA-induced loss of striatal DA terminals remained stable over 4 weeks. Likewise, Parkinson et al. (2002) by analyzing DA levels in tissue post mortem 10 days versus 2 months post-surgery found no evidence of recovery. Collectively, these findings point to the view that 6-OHDA-lesioned rats examined here had a massive NAc core DA depletion.

4.2. NAc dopamine and instrumental outcome-specific devaluation

Our behavioral results reveal that NAc core DA depletion reduced the overall lever-press rate during instrumental conditioning, but did not compromise the sensitivity to outcome devaluation. Considerable evidence suggests that NAc DA depletion impaired instrumental responding as a function of the work requirements of the task. Specifically, lever pressing schedules that have low work requirements are largely unaffected by NAc DA depletion whereas reinforcement schedules that have high work requirements are substantially impaired (Salamone, Correa, Farrar, & Mingote, 2007). For instance, NAc DA depletion impaired instrumental performance in ratio schedules but not in a fixed ratio-1 schedule (Aberman & Salamone, 1999; Correa, Carlson, Wisniecki, & Salamone, 2002; Ishiwari, Weber, Mingote, Correa, & Salamone, 2004). Furthermore, NAc DA depletion increased the tendency to take long pauses in instrumental responding (Mingote, Weber, Ishiwari, Correa, & Salamone, 2005) and lowered the preference for the high cost–high reward response option when having the choice to obtain a low reward with little effort (Salamone, Cousins, & Bucher, 1994). In addition, a blockade of D1 and D2 receptors in the NAc core reduced the vigor of instrumental responses (Calamini & Hauber, 2007). These and other findings suggest that behavioral activation, i.e. the enhancement of response speed or vigor and the persistence of instrumental behavior, is one important function of mesolimbic DA (see Salamone et al., 2007, for review). In line with this account, reduced lever pressing on a RR-10 schedule in lesioned animals during instrumental conditioning seen here might reflect a reduced activation of reward-directed behavior. Previous studies also demonstrated that interference with NAc DA transmission did not markedly reduce primary motivation for natural reward or induce impairments that are caused by gross motor deficits (Salamone, Correa, Mingote, & Weber, 2005). For instance, intra-NAc core infusion of SCH23390 and raclopride did not affect locomotor activity, free food consumption or lever pressing under a fixed ratio-1 schedule (Yun, Nicola, & Fields, 2004). Likewise, intra-NAc infusions of SCH23390 or raclopride did not alter the temporal characteristics of individual lever presses in an oper-

ant task (Nowend, Arizzi, Carlson, & Salamone, 2001). Thus, a gross motor dysfunction or a reduced motivation to eat is unlikely to account for reduced lever pressing as observed here.

Importantly, animals with NAc core DA depletion were sensitive to changes in the outcome value and can thus integrate an imposed change in value into a previously acquired association between a specific action and the related outcome. Furthermore, selective responding in the outcome devaluation tests indicates that NAc core DA depletions did not compromise the rat's ability to discriminate between the two actions or the two outcomes. In addition, results of the food consumption test in Experiment 2 suggest that a NAc DA depletion did not impair the effectiveness of the devaluation treatment. Thus, animals with NAc core DA depletion not only seem to be able to encode the current value of an outcome, but also to encode and to retrieve action–outcome associations that guide selective responding. Therefore, DA in the NAc core seems not to be critical for encoding of action–outcome associations. In line with this notion, computational accounts suggest that DA signaling may not support goal-directed behavior that depends on a representation of contingencies and outcomes (Niv & Schoenbaum, 2008). Furthermore, Dickinson, Smith, and Mireniewicz (2000) demonstrated that a systemic DA receptor blockade did not impair incentive instrumental learning in rats. In addition, our present findings imply that an impaired acquisition of lever pressing induced by an intra-NAc D1 receptor blockade as observed by Baldwin et al. (2002) may not necessarily reflect compromised learning but could be due to other factors such as a reduced behavioral activation (Salamone et al., 2007). The notion that NAc core DA seems not to be crucial in encoding action–outcome associations is also consistent with recent studies indicating that the NAc may not be necessary for instrumental learning (Cardinal et al., 2002; Yin et al., 2008). For instance, cell body lesions of the NAc shell did not affect the sensitivity to outcome devaluation and contingency degradation, while cell body lesion of the NAc core altered the sensitivity to outcome devaluation but left the sensitivity to contingency degradation intact (Corbit et al., 2001). However, extensive cell body lesions of the NAc that comprised core and shell subregion had no detectable effects on the sensitivity to both outcome devaluation and contingency degradation (Balleine & Killcross, 1994; de Borchgrave, Rawlins, Dickinson, & Balleine, 2002).

4.3. NAc dopamine and Pavlovian outcome-specific devaluation

During Pavlovian conditioning, magazine entries were similar in sham-lesioned rats and rats with NAc core DA depletion. However, after specific outcome devaluation rats with NAc core DA depletions failed to selectively reduce magazine entries to the stimulus that predicts the devalued reinforcer. Thus, DA in the NAc core seems to play a role in the expression of Pavlovian outcome-specific devaluation effects.

There is consistent evidence that DA in the NAc is crucial for certain types of Pavlovian conditioning. For instance, NAc DA depletion (Dalley et al., 2002; Parkinson et al., 2002) or intra-NAc infusion of D1 receptor antagonists (Dalley et al., 2005; Di Ciano et al., 2001) impaired the acquisition of appetitive Pavlovian auto-shaping, i.e. learning of a discriminated approach behavior directed towards the conditioned stimulus relative to a control stimulus was compromised. However, no data are available regarding the effects of NAc core DA depletion on magazine entries during Pavlovian conditioning as measured in our study. Furthermore, the study by Parkinson et al. (2002) revealed that NAc DA depletion produced a greater impact on learning than on performance of Pavlovian auto-shaping suggesting that the effects on learning were not simply due to disrupted sensorimotor or motivational processes. In an elegant series of experiments, Dickinson et al. (2000) revealed that a systemic blockade of D1/D2 receptors did not impair maga-

zine entries during Pavlovian conditioning. Correspondingly, a systemic DA receptor blockade failed to compromise responses elicited by food-associated stimuli (Horvitz & Ettenberg, 1991; McFarland & Ettenberg, 1998). Collectively, these findings and the results of the present study suggest that DA might not support magazine-directed responding during Pavlovian conditioning. Likewise, cell body lesions of the NAc core did not affect magazine approach during Pavlovian conditioning (Corbit et al., 2001; Hall, Parkinson, Connor, Dickinson, & Everitt, 2001).

However, unlike sham controls, rats with NAc core DA depletions did not selectively reduce magazine entries to the stimulus that, after a sensory specific outcome devaluation, predicted the devalued reinforcer. Instead, they responded to both stimuli on about equal rates which, in addition, were lower than in sham controls. The subsequent reward consumption test revealed that the impaired devaluation performance was not simply attributable to a failure in the effectiveness of the devaluation treatment in 6-OHDA-lesioned rats, as these animals showed a clear preference for the not-devalued food after the outcome devaluation procedure.

It is well known that during Pavlovian conditioning multiple representations are generated, e.g. a conditioned stimulus can evoke a representation of an affect such as the expectation of food and, furthermore, becomes associated with the specific sensory properties of the food (see Cardinal et al., 2002; Delamater & Oakshott, 2007, for review). Thus, one possibility to explain the lack of selective magazine-directed responding after outcome devaluation is that the NAc core DA depletion impaired the formation of sensory-specific stimulus-reinforcer associations during Pavlovian training. In other words, during Pavlovian training, lesioned animals responded increasingly to both stimuli, however unlike sham-lesioned animals, they might not have learned which stimulus predicts which reward. As a result, in the outcome devaluation test the conditioned stimuli might be unable to activate the memory of the sensory-specific features of the associated outcomes. Thus, performance was impaired, that is magazine entries to the not devalued versus devalued stimulus were similar. Notably, relative to sham controls, magazine entries of 6-OHDA-lesioned animals were also lower to both the not devalued and devalued stimulus in the outcome devaluation test. This observation suggests that the sensitivity to outcome devaluation *per se* was possibly intact, but may have been non-selective because during acquisition no sensory-specific stimulus-reinforcer associations have been formed. However, relative to sham controls the overall reduction of magazine entries in 6-OHDA-lesioned animals was only moderate and reached no significance.

Alternatively, NAc core DA depletion could not have undermined the ability of a stimulus to activate the memory of the sensory features of the reinforcer, but may instead have impaired the updating of a previously established stimulus-reinforcer value association after satiation. Thus, the impairment in rats with NAc DA depletion could be specific to the ability of the conditioned stimulus to access a representation of the actual value of the reinforcer. However, it is not easy to distinguish among these alternatives; therefore, additional studies are required for a more detailed understanding of the role of NAc core DA in Pavlovian outcome devaluation.

A comparison of effect sizes indicated that in the consumption test the degree of selectivity of satiation was different between both groups. Thus, another interpretation would be that in the outcome devaluation test 6-OHDA-lesioned rats may have generalized their satiation to the other reinforcer. However, this possibility is unlikely as 6-OHDA-lesioned rats could distinguish between the two outcomes based on their sensory properties and showed selective responding after pre-feeding of one of the outcomes. Furthermore, a compromised behavioral activation in 6-OHDA-lesioned rats that has been suggested to account for the reduced overall

lever-press rate in Experiment 1 might also account for reduced magazine-directed responding in the outcome devaluation test. However, this possibility is unlikely as during Pavlovian training magazine-directed responding was not altered in 6-OHDA-lesioned animals and their overall responding in the outcome devaluation test was only moderately reduced. Moreover, Dickinson et al. (2000) further showed that Pavlovian-instrumental transfer (PIT) was reduced in animals subjected to a D1/D2 receptor blockade during Pavlovian conditioning. Thus, DA, in particular in the NAc, seems to be critical for the ability of Pavlovian stimuli to support not only approach behavior (Dalley et al., 2002; Parkinson et al., 2002), but also to invigorate instrumental behavior or to acquire incentive salience as suggested by Berridge and Robinson (1998). In line with this notion, indirect DA stimulation in the NAc increased PIT (Wyvell & Berridge, 2000), while inhibition of the VTA (Murschall & Hauber, 2006) or intra-NAc core D1/D2 receptor blockade abolished PIT (Lex & Hauber, 2008). However it is difficult to assess whether the incentive salience of Pavlovian stimuli was affected by NAc core DA depletion in our present study as we measured magazine-directed and not stimulus-directed responding.

5. Conclusions

The present results indicate that animals with NAc core dopamine depletions were sensitive to instrumental reinforcer outcome devaluation. This finding provides support to the notion that DA in the NAc core may not be crucial in encoding action-outcome associations. By contrast, animals with NAc core DA depletions were impaired in a Pavlovian outcome-specific devaluation task. The lack of selective magazine-directed responding after outcome devaluation could be explained if NAc core DA depletion impaired the formation of sensory-specific stimulus-reinforcer associations or the ability of conditioned stimuli to activate the memory of the current value of the outcome.

Acknowledgements

This research was supported by the Deutsche Forschungsgemeinschaft (HA2340/8-2). We would also like to thank David Brodbeck, Tatjana Kloss and Bettina Veith for their assistance.

References

- Aberman, J. E., & Salamone, J. D. (1999). Nucleus accumbens dopamine depletions make rats more sensitive to high ratio requirements but do not impair primary food reinforcement. *Neuroscience*, *92*, 545–552.
- Adams, C., & Dickinson, A. (1981). Instrumental responding following reinforcer devaluation. *Quarterly Journal of Experimental Psychology Section B*, *33*, 109–121.
- Amalric, M., & Koob, G. F. (1987). Depletion of dopamine in the caudate nucleus but not in nucleus accumbens impairs reaction-time performance in rats. *Journal of Neuroscience*, *7*, 2129–2134.
- Baldwin, A. E., Sadeghian, K., & Kelley, A. E. (2002). Appetitive instrumental learning requires coincident activation of NMDA and dopamine D1 receptors within the medial prefrontal cortex. *Journal of Neuroscience*, *22*, 1063–1071.
- Balleine, B., & Killcross, S. (1994). Effects of ibotenic acid lesions of the nucleus accumbens on instrumental action. *Behavioural Brain Research*, *65*, 181–193.
- Balleine, B. W., Killcross, A. S., & Dickinson, A. (2003). The effect of lesions of the basolateral amygdala on instrumental conditioning. *Journal of Neuroscience*, *23*, 666–675.
- Berridge, K. C., & Robinson, T. E. (1998). What is the role of dopamine in reward: Hedonic impact, reward learning, or incentive salience? *Brain Research Reviews*, *28*, 309–369.
- Blandini, F., Levandis, G., Bazzini, E., Nappi, G., & Armentero, M. T. (2007). Time-course of nigrostriatal damage, basal ganglia metabolic changes and behavioural alterations following intrastratial injection of 6-hydroxydopamine in the rat: New clues from an old model. *European Journal of Neuroscience*, *25*, 397–405.
- Blundell, P., Hall, G., & Killcross, S. (2003). Preserved sensitivity to outcome value after lesions of the basolateral amygdala. *Journal of Neuroscience*, *23*, 7702–7709.

- Calaminus, 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*, 551–566.
- Cardinal, R. N., Parkinson, J. A., Hall, J., & Everitt, B. J. (2002). Emotion and motivation: The role of the amygdala, ventral striatum, and prefrontal cortex. *Neuroscience and Biobehavioural Reviews*, *26*, 321–352.
- Cardinal, R. N., Parkinson, J. A., Marbini, H. D., Toner, A. J., Bussey, T. J., Robbins, T. W., et al. (2003). Role of the anterior cingulate cortex in the control over behavior by Pavlovian conditioned stimuli in rats. *Behavioural Neuroscience*, *117*, 566–587.
- Cheng, J. J., de Bruin, J. P., & Feenstra, M. G. (2003). Dopamine efflux in nucleus accumbens shell and core in response to appetitive classical conditioning. *European Journal of Neuroscience*, *18*, 1306–1314.
- Corbit, L. H., & Balleine, B. W. (2003). The role of prelimbic cortex in instrumental conditioning. *Behavioural Brain Research*, *146*, 145–157.
- Corbit, L. H., Muir, J. L., & Balleine, B. W. (2001). The role of the nucleus accumbens in instrumental conditioning: Evidence of a functional dissociation between accumbens core and shell. *Journal of Neuroscience*, *21*, 3251–3260.
- Corbit, L. H., Muir, J. L., & Balleine, B. W. (2003). Lesions of mediodorsal thalamus and anterior thalamic nuclei produce dissociable effects on instrumental conditioning in rats. *European Journal of Neuroscience*, *18*, 1286–1294.
- Correa, M., Carlson, B. B., Wisniewski, A., & Salamone, J. D. (2002). Nucleus accumbens dopamine and work requirements on interval schedules. *Behavioural Brain Research*, *137*, 179–187.
- Dalley, J. W., Chudasama, Y., Theobald, D. E., Pettifer, C. L., Fletcher, C. M., & Robbins, T. W. (2002). Nucleus accumbens dopamine and discriminated approach learning: Interactive effects of 6-hydroxydopamine lesions and systemic apomorphine administration. *Psychopharmacology (Berl)*, *161*, 425–433.
- Dalley, J. W., Laane, K., Theobald, D. E., Armstrong, H. C., Corlett, P. R., Chudasama, Y., et al. (2005). Time-limited modulation of appetitive Pavlovian memory by D1 and NMDA receptors in the nucleus accumbens. *Proceedings of the National Academy of Science USA*, *102*, 6189–6194.
- de Borchgrave, R., Rawlins, J. N., Dickinson, A., & Balleine, B. W. (2002). Effects of cytotoxic nucleus accumbens lesions on instrumental conditioning in rats. *Experimental Brain Research*, *144*, 50–68.
- Delamater, A. R., & Oakeshott, S. (2007). Learning about multiple attributes of reward in Pavlovian conditioning. *Annals of the New York Academy of Science*, *1104*, 1–20.
- Di Ciano, P., Cardinal, R. N., Cowell, R. A., Little, S. J., & Everitt, B. J. (2001). Differential involvement of NMDA, AMPA/kainate, and dopamine receptors in the nucleus accumbens core in the acquisition and performance of pavlovian approach behavior. *Journal of Neuroscience*, *21*, 9471–9477.
- Dickinson, A., Smith, J., & Mirenowicz, J. (2000). Dissociation of Pavlovian and instrumental incentive learning under dopamine antagonists. *Behavioural Neuroscience*, *114*, 468–483.
- Gallagher, M., McMahan, R. W., & Schoenbaum, G. (1999). Orbitofrontal cortex and representation of incentive value in associative learning. *Journal of Neuroscience*, *19*, 6610–6614.
- Hall, J., Parkinson, J. A., Connor, T. M., Dickinson, A., & Everitt, B. J. (2001). Involvement of the central nucleus of the amygdala and nucleus accumbens core in mediating Pavlovian influences on instrumental behaviour. *European Journal of Neuroscience*, *13*, 1984–1992.
- Hatfield, T., Han, J. S., Conley, M., Gallagher, M., & Holland, P. (1996). Neurotoxic lesions of basolateral, but not central, amygdala interfere with Pavlovian second-order conditioning and reinforcer devaluation effects. *Journal of Neuroscience*, *16*, 5256–5265.
- Hauber, W., Bubser, M., & Schmidt, W. J. (1994). 6-Hydroxydopamine lesion of the rat prefrontal cortex impairs motor initiation but not motor execution. *Experimental Brain Research*, *99*, 524–528.
- Holland, P. C., & Straub, J. J. (1979). Differential effects of two ways of devaluing the unconditioned stimulus after Pavlovian appetitive conditioning. *Journal of Experimental Psychology Animal Behaviour Processes*, *5*, 65–78.
- Horvitz, J. C., & Ettenberg, A. (1991). Conditioned incentive properties of a food-paired conditioned stimulus remain intact during dopamine receptor blockade. *Behavioural Neuroscience*, *105*, 536–541.
- Ishiwari, K., Weber, S. M., Mingote, S., Correa, M., & Salamone, J. D. (2004). Accumbens dopamine and the regulation of effort in food-seeking behavior: Modulation of work output by different ratio or force requirements. *Behavioural Brain Research*, *151*, 83–91.
- Izquierdo, A., Suda, R. K., & Murray, E. A. (2004). Bilateral orbital prefrontal cortex lesions in rhesus monkeys disrupt choices guided by both reward value and reward contingency. *Journal of Neuroscience*, *24*, 7540–7548.
- Keppel, G., & Wickens, T. D. (2004). *Design and analysis: A researcher's handbook* (4th ed.). Prentice Hall.
- Lex, A., & Hauber, W. (2008). Dopamine D1 and D2 receptors in the nucleus accumbens core and shell mediate Pavlovian-instrumental transfer. *Learning & Memory*, *15*, 483–491.
- Malkova, L., Gaffan, D., & Murray, E. A. (1997). Excitotoxic lesions of the amygdala fail to produce impairment in visual learning for auditory secondary reinforcement but interfere with reinforcer devaluation effects in rhesus monkeys. *Journal of Neuroscience*, *17*, 6011–6020.
- McFarland, K., & Ettenberg, A. (1998). Haloperidol does not affect motivational processes in an operant runway model of food-seeking behavior. *Behavioural Neuroscience*, *112*, 630–635.
- Meredith, G. E., Ypma, P., & Zahm, D. S. (1995). Effects of dopamine depletion on the morphology of medium spiny neurons in the shell and core of the rat nucleus accumbens. *Journal of Neuroscience*, *15*, 3808–3820.
- Mingote, S., Weber, S. M., Ishiwari, K., Correa, M., & Salamone, J. D. (2005). Ratio and time requirements on operant schedules: Effort-related effects of nucleus accumbens dopamine depletions. *European Journal of Neuroscience*, *21*, 1749–1757.
- Mitchell, A. S., Browning, P. G., & Baxter, M. G. (2007). Neurotoxic lesions of the medial mediodorsal nucleus of the thalamus disrupt reinforcer devaluation effects in rhesus monkeys. *Journal of Neuroscience*, *27*, 11289–11295.
- Murschall, A., & Hauber, W. (2005). Effects of a systemic AMPA/KA and NMDA receptor blockade on pavlovian-instrumental transfer. *Psychopharmacology (Berl)*, *182*, 290–296.
- Murschall, A., & Hauber, W. (2006). Inactivation of the ventral tegmental area abolished the general excitatory influence of Pavlovian cues on instrumental performance. *Learn & Memory*, *13*, 123–126.
- Niv, Y., & Schoenbaum, G. (2008). Dialogues on prediction errors. *Trends in Cognitive Science*, *12*, 265–272.
- Nowend, K. L., Arizzi, M., Carlson, B. B., & Salamone, J. D. (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. *Pharmacology Biochemistry and Behaviour*, *69*, 373–382.
- Parkinson, J. A., Dalley, J. W., Cardinal, R. N., Bamford, A., Fehrnert, B., Lachenal, G., et al. (2002). Nucleus accumbens dopamine depletion impairs both acquisition and performance of appetitive Pavlovian approach behaviour: Implications for mesoaccumbens dopamine function. *Behavioural Brain Research*, *137*, 149–163.
- Parkinson, J. A., Olmstead, M. C., Burns, L. H., Robbins, T. W., & Everitt, B. J. (1999). Dissociation in effects of lesions of the nucleus accumbens core and shell on appetitive pavlovian approach behavior and the potentiation of conditioned reinforcement and locomotor activity by D-amphetamine. *Journal of Neuroscience*, *19*, 2401–2411.
- Paxinos, G., & Watson, C. (2007). *The rat brain in stereotaxic coordinates* (6th ed.). San Diego: Elsevier Academic Press.
- Pickens, C. L. (2008). A limited role for mediodorsal thalamus in devaluation tasks. *Behavioural Neuroscience*, *122*, 659–676.
- Salamone, J. D., Correa, M., Farrar, A., & Mingote, S. M. (2007). Effort-related functions of nucleus accumbens dopamine and associated forebrain circuits. *Psychopharmacology (Berl)*, *191*, 461–482.
- Salamone, J. D., Correa, M., Mingote, S. M., & Weber, S. M. (2005). Beyond the reward hypothesis: Alternative functions of nucleus accumbens dopamine. *Current Opinion Pharmacology*, *5*, 34–41.
- Salamone, J. D., Cousins, M. S., & 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. *Behaviour Brain Research*, *65*, 221–229.
- Schoenbaum, G., & Setlow, B. (2005). Cocaine makes actions insensitive to outcomes but not extinction: Implications for altered orbitofrontal-amygdalar function. *Cerebral Cortex*, *15*, 1162–1169.
- Wyvell, C. L., & Berridge, K. C. (2000). Intra-accumbens amphetamine increases the conditioned incentive salience of sucrose reward: Enhancement of reward “wanting” without enhanced “liking” or response reinforcement. *Journal of Neuroscience*, *20*, 8122–8130.
- Yin, H. H., Ostlund, S. B., & Balleine, B. W. (2008). Reward-guided learning beyond dopamine in the nucleus accumbens: The integrative functions of cortico-basal ganglia networks. *European Journal of Neuroscience*.
- Yun, I. A., Nicola, S. M., & Fields, H. L. (2004). Contrasting effects of dopamine and glutamate receptor antagonist injection in the nucleus accumbens suggest a neural mechanism underlying cue-evoked goal-directed behavior. *European Journal of Neuroscience*, *20*, 249–263.

7. Diskussion

7.1 Methodische Aspekte

7.1.1 Beurteilung der stereotaktischen Operation

Durch die Anschaffung eines digitalen stereotaktischen Apparates konnte die Genauigkeit der Operationen im Vergleich zum herkömmlichen Apparat etwas verbessert werden. Der digitale Stereoakt erleichtert die Ansteuerung der Zielkoordinaten, das Ablesen der Nonius-Skala entfällt dabei. Dadurch wurden die OP-Dauer und die Narkose-Belastung verringert. Eine weitere Verbesserung konnte durch die Wahl der Kombinationsnarkose erreicht werden. Vormals wurde der Wirkstoff Pentobarbital (60mg/kg i.p.; Medial GmbH, Hallbergmoos, Deutschland) als Mononarkosemittel verwendet. Jedoch war die Narkosesteuerung in einigen Fällen erschwert, so dass eine zweite und ggf. dritte Narkoseinjektion (jeweils 1/3 der Ausgangsdosis) nötig war. Durch die geringe therapeutische Breite von Pentobarbital war die Gefahr einer Überdosierung erhöht. Durch die Kombination mit Xylazin (4mg/kg i.m.; Bayer AG, Leverkusen, Deutschland), welches sowohl analgetisch als auch muskelrelaxierend wirkt, konnte die Narkosesteuerung deutlich verbessert werden. Die Kombinationsnarkose aus Pentobarbital und Xylazin ist nach den vorliegenden Erfahrungen sehr gut.

Die gewählten stereotaktischen Koordinaten, um in den jeweiligen Arealen (PL, pDMS, EC, NAc core) eine Läsion herbeizuführen, stammten aus entsprechenden Referenzarbeiten (Corbit et al., 2001; Corbit et al., 2002; Corbit and Balleine, 2003; Yin et al., 2005b) und haben sich allesamt als optimal herausgestellt. Die jeweiligen mikroskopischen Auswertungen ergaben, dass jeweils das anvisierte Areal in jeder der Arbeiten getroffen und läsiert wurde.

Das Neurotoxin 6-OHDA wird häufig benutzt, um dopaminerge Läsionen zu induzieren (Amalric and Koob, 1987; Hauber et al., 1994; Dalley et al., 2002; Parkinson et al., 2002; Faure et al., 2005; Blandini et al., 2007). Die gewählten Konzentrationen von 10 µg/µl (Experiment 1) sowie 15µg/µl (Experiment 2+3) haben sich dabei als optimal herausgestellt. Dies gilt auch für das gewählte Injektionsvolumen von 0,4 µl, welches im Vergleich mit anderen Arbeiten (Pycock et al., 1980; Meredith et al., 1995; Baunez and Robbins, 1999; Cousins et al., 1999; Blandini et al., 2007) niedrig gewählt wurde, da die Zielgebiete bei den

durchgeführten Experimenten (PL, pDMS, NAc core) relativ klein waren. Dadurch konnte eine Mitläsion benachbarter Areale verhindert werden. Für die Induktion von Zellkörperläsionen im EC wurde NMDA benutzt, welches für diese Art der Läsion ebenfalls ein häufig gewähltes Toxin ist (Corbit et al., 2002; Bohn et al., 2003a, b; Yin and Knowlton, 2004). Die verwendete Konzentration von 20µg/µl orientierte sich an entsprechenden Referenzarbeiten (Corbit et al., 2002; Yin et al., 2004; Yin et al., 2005b) und hat sich ebenfalls als ausreichend herausgestellt. Das Injektionsvolumen wurde auf 0,4µl begrenzt, um die Mitschädigung angrenzender Hirnareale zu minimieren.

7.1.2 6-Hydroxydopamin

6-Hydroxydopamin (6-OHDA) ist eine von Neuro- und Verhaltenspharmakologen eingesetzte Substanz, die spezifisch dopaminerge und noradrenerge Neurone zerstört. Sie gelangt über die Wiederaufnahme-Transporter in die dopaminergen bzw. noradrenergen Neurone und wird dort durch die MAO und die COMT katabolisiert. Die dabei entstehenden Sauerstoffradikale blockieren in den Mitochondrien die Elektronentransportkette, was letztendlich die Apoptose der Zelle nach sich zieht. So kann durch den gezielten Einsatz von 6-OHDA die Rolle von Dopamin und/oder Noradrenalin in genau definierten Arealen des Gehirns untersucht werden. Wenn eine Zerstörung noradrenerger Neurone nicht gewünscht ist, kann dies durch Einsatz eines Noradrenalin-Wiederaufnahme-Hemmers, z.B. Desipramin, verhindert werden. Da 6-OHDA durch die Wiederaufnahme-Transporter sowohl in die dopaminergen als auch in die noradrenergen Nervenzellen gelangt, kann Desipramin gezielt eine Aufnahme in noradrenerge Nervenzellen unterbinden. Erfahrungen aus vielen Läsionsstudien haben jedoch gezeigt, dass der Einsatz von Desipramin nicht immer unproblematisch verläuft. So gibt es Hinweise darauf, dass durch den Einsatz von Desipramin während der stereotaktischen Operation die Mortalitätsrate der Versuchstiere dramatisch erhöht sein kann. Außerdem gibt es Hinweise, dass trotz des Einsatzes von Desipramin die Zerstörung der noradrenergen Neurone rund 30-40% betragen kann (Bubser and Schmidt, 1990; Dickinson and Balleine, 1994; Naneix et al., 2009), was für Verhaltensausschläge bereits ausreichen könnte. Aus diesem Grund ist es nicht immer die beste Lösung Desipramin einzusetzen, sondern sollte vielmehr von Fall zu Fall, d.h. von Areal zu Areal neu bedacht und entschieden werden. Vor allem in Gebieten mit hoher Dopamin- aber geringer Noradrenalin-Konzentration kann auf den Einsatz von Desipramin verzichtet werden. Da dies sowohl für den PL, als auch für das pDMS und den

NAC core zutrifft, wurde daher in den vorliegenden Arbeiten kein Desipramin verwendet (siehe Abschnitt 6).

7.1.3 Beurteilung der Verhaltenstests

Die Ergebnisdevaluation und die Kontingenzdegradation sind die in der Literatur beschriebenen Standardtests, um zu prüfen, ob ein Tier zielgerichtet handelt oder nicht (Dickinson and Balleine, 1994; Balleine and Dickinson, 1998). Der grundlegende Ablauf der beiden Testverfahren hat sich seit ihrer Einführung nicht wesentlich verändert. Das in der vorliegenden Arbeit verwendete Testprotokoll ist seit Jahren etabliert und bedurfte nur geringer Änderungen. So hat es sich als schwierig herausgestellt, den Wert der beiden Belohnungen (Pellet und Zuckerlösung) anzugleichen. Zumeist wurde die 20%ige Zuckerlösung (0.1 ml) gegenüber den Pellets (45 mg) von den Versuchstieren bevorzugt, denn die Hebeldruckraten waren bei dieser Belohnung höher. Eine Verringerung der Menge von 0,1ml auf 0,05ml reduzierte die Präferenz, jedoch war noch immer eine leichte Bevorzugung zu messen.

Eine weitere wichtige methodische Anmerkung gilt der Kontingenzdegradation. Während des Degradationstrainings drücken die Tiere unter einem RR-20 Protokoll die jeweiligen Hebel und erhalten mit derselben Wahrscheinlichkeit eine freie Belohnung zugespielt. Vorversuche ergaben, dass das RR-20 Protokoll für ein erfolgreiches Degradationstraining besonders geeignet ist. Ein Protokoll mit einer höheren Wahrscheinlichkeit der freien Belohnungsgabe (z.B. RR-10) hat zu einer starken Verhaltenskompetition zwischen dem Fressen der freien Belohnungen und dem Hebeldrücken geführt. Da bei einem RR-10 Schema im Durchschnitt alle 10 Sekunden eine freie Belohnung gegeben wird, verbringen die Tiere viel Zeit mit dem Fressen dieser Belohnungen, so dass sie weniger Zeit haben auf die beiden Hebel zu drücken, was letztlich die Hebeldruckrate stark reduziert. Ein Protokoll mit einer niedrigeren Wahrscheinlichkeit einer freien Belohnungsgabe (z.B. RR-40 und RR-60) führte dagegen zu einer geringeren Anzahl an freien Belohnungen, was wiederum zur Folge hatte dass die Tiere keinen Degradationseffekt zeigten. Vermutlich haben die Tiere die geringe Anzahl freier Belohnungen nicht registriert. Daher wurde in allen Experimenten ein RR-20 Protokoll für die Kontingenzdegradation verwendet.

7.1.4 Beurteilung der Immunhistochemie

Das zur Immunhistochemie verwendete Protokoll beruhte auf dem im Labor bereits etablierten Verfahren (Schweimer et al., 2005), wurde jedoch etwas modifiziert. Eine wichtige Änderung umfasste die Verwendung von 12-Well-Platten inklusive Filtereinsätze (Corning Costar, New York, USA), die es ermöglichen die Hirnschnitte von 8 anstelle von 4 Tieren gleichzeitig immunhistochemisch zu untersuchen. Eine weitere Änderung betrifft den Primärantikörper (Maus, anti-TH; Immunostar, Hudson, WI, USA), der gegenüber dem bisher verwendeten primären Antikörper einen höheren Reinheitsgrad besitzt, was zu spezifischeren Bindungen mit dem Enzym Tyrosinhydroxylase führt. Der neu verwendete Sekundärantikörper (Pferd, anti-Maus, Ratten-absorbierend, biotinyliertes IgG; Vector Laboratories, Burlingame, CA; USA) wurde darüber hinaus speziell für die Verwendung in Rattengewebe hergestellt, was zu einer spezifischeren Bindung an den Primärantikörper führt. Das vorhandene ABC-Kit wurde durch ein ABC-Elite-Kit (Vector Laboratories, Burlingame, CA; USA) ausgetauscht, wodurch die Spezifität der anschließenden Färbereaktion nochmals verbessert werden konnte. Eine andere Modifikation betrifft die Chemikalie 3,3'-diaminbenzidine (DAB), welche die Färbereaktion bewirkt. Zu Beginn der vorliegenden Arbeit musste DAB aus Tabletten selber hergestellt werden. Dabei war zu beachten das DAB stark krebserregend und ein Kontakt unbedingt zu vermeiden ist. Deshalb wurde ein DAB-Substrate-Kit (Vector Laboratories, Burlingame, CA; USA) verwendet, in dem das DAB bereits gelöst vorliegt und nur noch mittels einer Pipettierflasche in ein entsprechendes Gefäß getropft werden muss. Dadurch wird die Wahrscheinlichkeit eines Kontaktes mit dem DAB stark reduziert und die Arbeitssicherheit erhöht. Zudem entsteht durch die Verwendung des DAB-Substrate-Kit weniger kontaminierter Abfall, der mittels Natrium-Hypochlorid neutralisiert werden muss. Des Weiteren ist die Qualität des gelösten DAB stets gleich, wodurch bei der entscheidenden Färbereaktion gleichmäßiger gefärbte und damit besser vergleichbarere Hirnschnitte entstehen.

7.2 Die Rolle von Dopamin im PL bei der Steuerung zielgerichteten Verhaltens

Aus den Ergebnissen des Experiments 1 geht hervor, dass die Versuchstiere mit einer 6-OHDA Läsion des PL sensitiv gegenüber einer Ergebnisdevaluation, sowie einer Kontingenzdegradation waren. Die unveränderte Sensitivität gegenüber der

Ergebnisdevaluation impliziert, dass die Tiere sich an den Wert der Belohnungen erinnern konnten, d.h. welche Belohnung devaluiert war und welche nicht. Außerdem konnten die Tiere unterscheiden, welcher Hebel welche Belohnung ankündigt. Darüber hinaus waren die Tiere weiterhin in der Lage Änderungen des kausalen Zusammenhangs zwischen ihren Handlungen und den Belohnungen zu erfassen. Denn die Tiere reduzierten selektiv die Betätigung des degradierten Hebels, nicht jedoch des nicht-degradierten Hebels. D.h. die Tiere erfassten, dass Futterbelohnungen auch ohne vorherige Betätigung des Hebels dargeboten wurden und reduzierten die dafür notwendige instrumentelle Handlung. Zusammengenommen deuten die Ergebnisse dieses Versuches daraufhin, dass DA im PL für zielgerichtetes Verhalten nicht nötig ist. Dieses Ergebnis ist unerwartet, da bisherige Studien zur Rolle des PL beim zielgerichteten Verhalten zu anderen Erkenntnissen kamen. Diese Studien wiesen nach, dass Versuchstiere mit Zellkörperläsionen des PL weder sensitiv gegenüber einer Ergebnisdevaluation noch gegenüber einer Kontingenzdegradation waren, d.h. nicht mehr zielgerichtet handelten (Balleine and Dickinson, 1998; Corbit and Balleine, 2003; Killcross and Coutureau, 2003; Ostlund and Balleine, 2005). Die Diskrepanz dieser Ergebnisse legt nahe, dass die vom PL vermittelte Fähigkeit zielgerichtet zu handeln, nicht durch corticales DA im PL reguliert wird. Dieser Schlussfolgerung widerspricht allerdings einer kürzlich veröffentlichten Arbeit von Naneix et al. (2009). Die dort untersuchten Tiere mit einer DA Depletion des PL waren zum einen, entsprechend dem Ergebnis des vorliegenden Versuches, sensitiv gegenüber einer Ergebnisdevaluation. Allerdings waren diese Tiere insensitiv gegenüber einer Kontingenzdegradation. Naneix et al. (2009) nehmen deshalb an, dass DA im PL eine Rolle bei der Vermittlung zielgerichteter R-O Handlungen spielt. Eine mögliche Ursache für die voneinander abweichenden Ergebnisse könnte allerdings die deutlich voneinander abweichende Methodik sein, mit der die Kontingenzdegradationstests durchgeführt wurden. Während im Experiment 1 das von Balleine und Dickinson eingeführte Standardprotokoll verwendet wurde, weicht das Protokoll von Naneix et al. (2009) davon ab. Das Standardprotokoll legt fest, dass Tiere während des Kontingenzdegradationstrainings einem *random ratio-20* Schema (RR-20) unterliegen und mit derselben Wahrscheinlichkeit (1:20 pro Sekunde) eine freie Belohnung in die Futteröffnung fällt. Naneix et al. (2009) verwendeten für das Hebeldrücken ein RR-10 Schema, und die Wahrscheinlichkeit einer freien Belohnungsgabe war dementsprechend 1:10 pro Sekunde. Dies ist problematisch, da auf diese Weise im Mittel alle 10 Sekunden eine freie Belohnung in die Futteröffnung fällt, die die Tiere in allgemeinen sofort konsumieren. Dies führt dazu, dass die Tiere in dieser Zeit den Hebel nicht betätigen und so Zeit verstreicht, in der durch den Zufallsgenerator erneut eine freie Belohnung verfügbar sein kann. Bei dem

Protokoll von Naneix et al. (2009) besteht demnach das Problem der Kompetition zwischen Hebeldrücken und Fressverhalten, d.h. eine reduzierte Hebeldruckrate ist möglicherweise durch eine Zunahme des Fressverhaltens und nicht durch eine verminderte Sensitivität gegenüber der veränderten R-O Kontingenz bedingt.

Eine weitere Abweichung gegenüber dem Protokoll aus Experiment 1 besteht darin, dass Naneix et al. (2009) die freien Belohnungen nur in der degradierten R-O Situation gegeben haben und nicht auch zusätzlich in der nicht degradierten R-O Situation. Dies macht einen Vergleich zwischen beiden Situationen nahezu unmöglich und schwächt die Aussagekraft der Ergebnisse deutlich ab. Ein weiterer und letzter großer Unterschied zwischen den beiden Protokollen ist zugleich der gravierendste. Während im Experiment 1 auf das Kontingenztraining der entscheidende Kontingenztest in Extinktion folgte, wurde dieser in der Arbeit von Naneix et al. (2009) nicht durchgeführt. Dadurch konnte nicht überprüft werden, ob sich die Tiere tatsächlich an den kausalen Zusammenhang zwischen ihrer Handlung und dem Ergebnis erinnern. Alleine durch die Ergebnisse des Degradationstrainings, sowie ohne die Kontrollbedingung des nicht-degradierten Hebels, lässt sich nicht eindeutig klären, ob die von Naneix et al. (2009) untersuchten Tiere den kausalen Zusammenhang zwischen Handlung und Ergebnis nicht mehr erfassen konnten. Verschiedene Arbeiten haben explizit auf die Unabdingbarkeit eines solchen Tests hingewiesen (Dickinson and Balleine, 1994; Balleine and Dickinson, 1998; Yin et al., 2008). So ist ein Defizit im Kontingenztraining nicht immer prädiktiv für ein Defizit im Extinktionstest, weshalb die Durchführung dieses Tests zwingend nötig ist (Corbit et al., 2003).

Aufgrund der methodischen Probleme der Studie von Naneix et al. (2009), ist somit davon auszugehen, dass die Daten der vorliegenden Arbeit belastbarer sind. Somit scheint DA im PL nicht für die Kodierung von R-O Assoziationen benötigt zu werden.

Eine weitere Beobachtung des Experiments 1 war die, gegenüber den Kontrolltieren, signifikant reduzierte Hebeldruckrate der Tiere mit einer PL DA Depletion während der instrumentellen Konditionierung. Dies deckt sich mit den Erkenntnissen von Corbit und Balleine (2003), welche eine stark reduzierte Hebeldruckrate bei den Tieren mit einer Zellkörperläsion des PL feststellten. Dies legt nahe, dass DA im PL an der Steuerung der Hebeldruckrate beteiligt ist. Die Beobachtung, dass nach einer Läsion bzw. einer temporären Inaktivierung des PL die Hebeldruckrate signifikant sinkt, wurde auch in anderen Studien gemacht (Baldwin et al., 2000; Baldwin et al., 2002). Dieser Effekt wurde als eine Störung des instrumentellen Lernens interpretiert, eine Einschätzung die viele Jahre Bestand hatte. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit widersprechen dieser Auffassung. Denn mit den Tests zur Ergebnisdevaluation und Kontingenzdegradation kann überprüft werden, ob ein Tier mit einer

PL-Läsion noch in der Lage ist, seine Handlungen flexibel an sich ändernde Umweltbedingungen anzupassen und mithin zielgerichtet zu agieren. Es ist daher durchaus möglich, dass ein Tier zwar eine reduzierte Hebeldruckrate zeigt, jedoch noch in der Lage ist zu lernen, welche Handlung welche Belohnung zur Folge hat und seine Aktionen sowie die folgenden Belohnungen zu unterscheiden. Genau dies konnte in den neueren Arbeiten gezeigt werden (Corbit and Balleine, 2003; Lex and Hauber, 2010). Sowohl in der Studie von Corbit und Balleine (2003) als auch in der vorliegenden Arbeit (Lex and Hauber, 2010) waren Tiere mit einer Läsion des PL weiterhin in der Lage beide Handlungen als auch die damit verbundenen Belohnungen voneinander zu unterscheiden, was ein deutlicher Hinweis darauf ist, dass instrumentelles Lernen ohne intakten PL möglich ist. Diese Beobachtungen weisen auf einen häufigen und gravierenden Fehler bei der Interpretation von Lernkurven hin. Eine reduzierte Hebeldruckrate infolge einer Läsion kann nicht ohne weitergehende Tests als eine Beeinträchtigung des Lernens gedeutet werden.

Ein durch die Läsion hervorgerufen Defizit in der Motorik kann durch die Ergebnisse des Experiments 1 ebenfalls nahezu ausgeschlossen werden, da die Tiere im Test unter Extinktion in der Lage waren ihre Entscheidungen flexibel anzupassen, was mit einer generell beeinträchtigten Motorik kaum möglich wäre. Auch frühere Erkenntnisse bestätigen, dass eine Blockade der DA-Neurotransmission im PL keine motorischen Defizite bewirkt (Seamans et al., 1998).

Betrachtet man die Hypothesen zur Rolle von DA bei der Steuerung des Verhaltens, gibt es eine weitere Erklärungsmöglichkeit für die reduzierte Hebeldruckrate nach einer PL DA Depletion. Ein Grund könnte eine reduzierte „Anreiz-Salienz“ sein (Berridge and Robinson, 1998; Berridge, 2007). Möglicherweise haben Tiere mit einer DA Depletion des PL ein Motivationsdefizit und „wollen“ die Belohnung nicht so stark wie Kontrolltiere, und sind deshalb nicht bereit für eine Belohnung viel Aufwand zu leisten.

Des Weiteren könnte der Grund für die reduzierte Hebeldruckrate der Tiere mit einer DA Depletion des PL auch im Fehlen des tonischen DA liegen. Eine von Niv (Niv, 2007; Niv et al., 2007; Niv, 2009) postulierte Hypothese besagt, dass die tonische DA-Freisetzung die durchschnittlich zu erwartende Menge einer Belohnung kodiert, die ein Organismus durch das Ausführen einer bestimmten Handlung erlangen kann. Nach dieser Theorie sind Tiere mit einer DA Depletion des PL nicht in der Lage eine Abschätzung über die zu erwartende Belohnungsmenge vorzunehmen. Dies wäre somit ebenfalls eine Erklärung für die im Experiment 1 beobachtete verringerte Hebeldruckrate. Allerdings ist die genaue Bedeutung der tonischen DA-Freisetzung (Grace, 1991; Goto and Grace, 2005; Niv, 2009) nicht in dem

Maße geklärt, wie die phasische DA-Freisetzung (u.a. Schultz, 1998, 2000; Reynolds and Wickens, 2002; Tobler et al., 2005; Redgrave and Gurney, 2006; Schultz, 2007).

Zusammengenommen zeigen die Ergebnisse des Experiments 1, das DA im PL nicht an der Vermittlung zielgerichteten Verhaltens beteiligt ist, sondern die Intensität, mit der eine instrumentelle Handlung durchgeführt wird, beeinflusst.

7.3 Die Rolle von Dopamin im pDMS bei der Steuerung zielgerichteten Verhaltens

Die Ergebnisse des Experiments 1 machen deutlich, dass Tiere mit einer 6-OHDA Läsion des pDMS keine reduzierte Hebeldruckrate während des instrumentellen Lernens aufwiesen und sensitiv gegenüber einer Ergebnisdevaluation waren. Dies deutet daraufhin, dass DA im pDMS nicht an der Vermittlung zielgerichteter Verhaltensweisen beteiligt ist. Die Tiere mit einer DA Depletion des pDMS konnten in den Devaluationstests sowohl beide Hebel als auch die mit den Hebeln assoziierten Belohnungen voneinander unterscheiden und sich zudem an den Wert der beiden Belohnungen erinnern. Dies belegt, dass diese Tiere in der Lage waren, spezifische R-O Assoziationen herzustellen. Die Tiere mit einer pDMS DA Läsion waren im anschließenden Kontingenzzegradationstest jedoch nicht in der Lage, eine Veränderung des kausalen Zusammenhangs zwischen ihren Handlungen und den Belohnungen zu erfassen. Im Extinktionstest betätigten sie den degradierten Hebel ebenso häufig wie den nicht-degradierten Hebel. Dieses Ergebnis hatte sich bereits im Verlauf des Kontingenzztrainings abgezeichnet. Wohingegen die Kontrolltiere bereits ab dem zweiten Tag des sechstägigen Trainings lernten die beiden Hebel (degradiert versus nicht-degradiert) voneinander zu unterscheiden, betätigten die Tiere mit einer DA Depletion des pDMS die beiden Hebel nur an einem Testtag signifikant unterschiedlich. Tiere mit einer pDMS DA Läsion sind demnach sensitiv gegenüber einer veränderten R-O Assoziation, jedoch insensitiv gegenüber einer Änderung der Kontingenz.

Die Ergebnisse des Devaluationstests decken sich mit Hinweisen aus neueren Arbeiten, wonach zielgerichtetes Verhalten vermutlich nicht durch DA vermittelt wird (Niv and Schoenbaum, 2008). Demgegenüber stehen allerdings Arbeiten, die zeigen, dass DA im DS für die instrumentelle Konditionierung notwendig ist (Robinson et al., 2007) und darüber hinaus belegen, dass die neuronale Aktivität DA-Neurone durch den Wert einer angezeigten zukünftigen Belohnung moduliert werden kann (Morris et al., 2006; Roesch et al., 2007).

DA Signale scheinen demnach eine wichtige Rolle der Kodierung des Wertes einer Belohnung zu spielen. Möglicherweise werden DA Signale, die den Wert einer Belohnung betreffen, nicht im pDMS, sondern in anderen Arealen bearbeitet. Ein mögliches Areal wäre z.B. der NAc core. So ergaben Zellkörperläsionen, dass dieses Areal spezifisch Informationen über den Wert einer Belohnung speichert (Corbit et al., 2001).

Die Ergebnisse des Kontingenzdegradationstests stimmen mit den bisherigen Erkenntnissen der Literatur überein, wonach eine Zellkörperläsion des pDMS die Sensitivität gegenüber einer Kontingenzdegradation signifikant verringerte (Yin et al., 2005b). Betrachtet man die Ergebnisse des Degradationstests in Extinktion genauer, fällt außerdem auf, dass die Läsionstiere den degradierten Hebel weiterhin genauso häufig betätigten wie den nicht-degradierten Hebel. Dies legt nahe, dass diese Tiere ihre Hebeldrücke auf den degradierten Hebel mit den frei gegebenen Belohnungen assoziierten. D.h. das Tiere mit einer pDMS DA-Depletion ihre Fähigkeit einbüßten, den ursächlichen Zusammenhang zwischen den Handlungen und den Belohnungen zu detektieren. Mit anderen Worten: Sie waren zwar in der Lage beide Hebel und beide Belohnungen voneinander zu unterscheiden und konnten sich an den Wert der Belohnungen erinnern, erfassten allerdings nicht, dass die frei gegebenen Belohnungen in keinem kausalen Zusammenhang mit den vorangegangenen Hebeldrücken auf den degradierten Hebel standen.

Eine ähnliches Muster an Ergebnissen machten Corbit et al. (2002) an Ratten mit einer Zellkörperläsion des EC. Auch diese Tiere waren sensitiv gegenüber einer Ergebnisdevaluation, aber insensitiv gegenüber einer Kontingenzdegradation. Die Autoren interpretierten den Verlust der Fähigkeit einen kausalen Zusammenhang zwischen den Handlungen und den Belohnungen herzustellen folgendermaßen: Die verminderte Sensitivität gegenüber der Kontingenzdegradation resultiert aus der beeinträchtigten Fähigkeit, die „Hintergrundrate“ der erhaltenen freien Belohnungen zu berechnen. D.h. die Tiere können vermutlich die Rate der Belohnungsgabe in Abwesenheit einer Handlung nicht mehr einschätzen. Demnach gingen diese Tiere davon aus, dass die freien Belohnungen eine Folge eines vorangegangenen Hebeldruckes waren. Möglicherweise trat ein solches Defizit auch bei Tieren mit einer DA pDMS Läsion auf. D.h., die beeinträchtigte Sensitivität gegenüber der Kontingenzdegradation wäre somit möglicherweise auf eine Störung der Repräsentation des Kontexts zurückzuführen.

Zusammenfassend kann man annehmen, dass die Sensitivität einen kausalen Zusammenhang zwischen Handlungen und Belohnungen herzustellen, bei den Tieren mit einer pDMS DA-Depletion beeinträchtigt war. D.h. diese Tiere konnten keine Assoziation mit dem Kontext bilden, wodurch der Kontext kein Prädiktor für die freie Belohnungsgabe wurde.

Interessanterweise belegen auch neuere Arbeiten über die räumliche Orientierung, dass das pDMS an der Verarbeitung kontextueller Informationen beteiligt sein könnte. So wiesen Yin et al. (2004) nach, dass Tiere mit einer Zellkörperläsion des pDMS, anders als Kontrolltiere, nicht in der Lage waren kontextuelle Informationen beim Erlernen einer T-Labyrinth-Aufgabe zu nutzen. Darüber hinaus ist bekannt, dass auch der EC bei der Kontextkonditionierung eine wichtige Rolle einnimmt (Maren and Fanselow, 1997; Majchrzak et al., 2006), was ebenfalls sehr gut mit den Ergebnisse von Corbit et al. (2002) und der vorliegenden Arbeit zu vereinbaren ist. Basierend auf diesen Erkenntnissen postulierten Yin und Knowlton (Yin and Knowlton, 2006), dass das hippocampale System und das pDMS eine funktionelle Einheit bilden könnten, die für die Steuerung zielgerichteter Handlungen durch kontextabhängige Informationen nötig ist. Diese Annahme einer funktionellen Einheit von pDMS und EC wird zudem durch anatomische Studien gestützt, wonach das pDMS zahlreiche Afferenzen aus dem EC erhält (McGeorge and Faull, 1987, 1989).

Deshalb lag die Vermutung nahe, dass kontextuelle Informationen vom EC zum pDMS gesendet werden und dort möglicherweise einer DAergen Verarbeitung bedürfen. DA würde so eine Verhaltensanpassung aufgrund wechselnder Umgebungsbedingungen, wie z.B. einer Änderung der Kontingenz, ermöglichen. Diese Hypothese war die Grundlage von Experiment 2. Mittels einer Diskonnektion von EC und pDMS wurde überprüft, ob eine direkte Interaktion beider Strukturen für die Sensitivität gegenüber einer veränderten Kontingenz nötig ist. Die Tiere erhielten hierfür eine unilaterale 6-OHDA Läsion des pDMS in einer Hemisphäre und eine unilaterale Zellkörperläsion des EC der contralateralen Hemisphäre. Danach wurden die Tiere auf ihre Sensitivität gegenüber einer Ergebnisdevaluation und gegenüber einer Kontingenzdegradation getestet. Wie erwartet waren die Tiere mit einer Diskonnektionsläsion zwischen EC und pDMS, ebenso wie die Kontrolltiere, sensitiv gegenüber einer Ergebnisdevaluation. Dies steht im Einklang mit den Erkenntnissen aus Experiment 1, sowie mit der Arbeit von Corbit et al. (2002), dass sowohl eine bilaterale DA-Läsion des pDMS als auch eine Zellkörperläsion des EC die Sensitivität für eine Ergebnisdevaluation nicht beeinträchtigte. In Übereinstimmung mit der zuvor formulierten Hypothese waren die Tiere mit einer Diskonnektionsläsion des pDMS und des EC nicht sensitiv gegenüber der Kontingenzdegradation. Die Tiere betätigten den degradierten Hebel ebenso häufig wie den nicht-degradierten Hebel. Dieses Ergebnis deutet somit daraufhin, dass während einer Kontingenzdegradation, in der sich der prädiktive Status eines Stimulus ändert, kontextuelle Informationen vom EC zum pDMS weitergeleitet werden und dort einer DAergen Modulation bedürfen.

Die genaue Funktion von DA im pDMS bei der Prozessierung von Informationen aus dem EC ist mit den Erkenntnissen aus Experiment 2 jedoch nicht geklärt. Betrachtet man wichtige Hypothesen zur Funktion von DA-Signalen bei der Prozessierung neuronaler Informationen, sind mehrere Erklärungsansätze möglich:

Zunächst ist es sinnvoll sich die Situation während des Kontingenzdegradationstests genau anzuschauen. Während des sechstägigen Kontingenzdegradationstrainings verringert sich der prädiktive Wert des degradierten Hebels, da er nicht mit den freien Belohnungen assoziiert ist. Gleichzeitig wird der prädiktive Wert des Kontexts größer, da er mit dem Erhalt freier Belohnungen assoziiert wird. Die Tiere befinden sich demnach in einer Situation, in der plötzlich unerwartete Ereignisse, hier die freien Belohnungen, eintreten. Nach der Vorhersage-Fehler-Signal-Hypothese reagieren DA-Neurone mit einer erhöhten phasischen Freisetzung auf plötzlich eintretende unerwartete Ereignisse (Schultz et al., 1997; Schultz, 1998). Diese phasische Freisetzung tritt solange auf, bis das anfangs unerwartete Ereignis vollständig antizipiert werden kann. D.h., dass DA vermutlich zu Beginn einer Kontingenzdegradation phasisch freigesetzt wird, wenn freie Belohnungen unerwartet auftreten. Tiere mit einer DA-Depletion des pDMS sind wahrscheinlich nicht in der Lage, die freien Belohnungen als unerwartete Ereignisse zu registrieren. Für diese Tiere sind die freien Belohnungen mit dem für sie nicht degradierten Hebel verbunden, was sich während des Kontingenzdegradationstrainings durch die gleichbleibend hohe Hebeldruckrate auf den degradierten Hebel äußert.

Jedoch könnte nicht nur ein Verlust der phasischen DA-Freisetzung im pDMS die Verarbeitung afferenter Informationen aus dem EC beeinträchtigen. Auch die tonische DA-Freisetzung ist für die Verarbeitung afferenter Informationen wichtig. So postuliert eine der gängigsten Hypothesen, dass eine tonische DA-Freisetzung bestimmte Verhaltensweisen fördert, bzw. ermöglicht (Grace, 1991; Schultz, 2007). Eine weitere Hypothese schreibt dem tonischen Signal eher die Funktion zu, die durchschnittlich zu erwartende Belohnungsmenge zu kodieren und dadurch die Intensität mit der eine Handlung ausgeführt wird maßgeblich zu beeinflussen (Niv, 2007; Niv et al., 2007; Niv, 2009). Da durch eine 6-OHDA induzierte DA-Depletion sowohl die tonische als auch die phasische DA-Freisetzung beeinträchtigt, ist es anhand unserer Ergebnisse nicht möglich festzustellen, ob phasische oder tonische Signale für die Integration der kontextuellen Informationen des EC verantwortlich sind. Dazu sind weitere Studien erforderlich.

Die Erkenntnis aus Versuch 2, dass DA im Striatum nötig ist, um Informationen aus einem Gebiet des hippocampalen Systems, hier dem EC, zu modulieren, deckt sich mit Ergebnissen aus elektrophysiologischen Studien. So wurde nachgewiesen, dass belohnungsgerichtetes

Verhalten auf einer Interaktion hippocampaler Neurone mit Neuronen des VS basiert, wobei diese Informationen innerhalb des VS einer DA-ergen Modulation unterliegen (Goto and Grace, 2005). Demnach verstärkt die phasische Freisetzung DA-erger Neurone im VS den Eingang hippocampaler Afferenzen, was zu einer Stärkung des Informationsflusses zwischen diesen beiden Hirnarealen führt. Wird das DA Signal hingegen unterdrückt, verliert die Verbindung Hippocampus-VS an Stärke, während gleichzeitig die Verbindung PFC-VS gestärkt wird und somit die Afferenzen des PFC zum VS eine größere Kontrolle über das Verhalten erlangen (Goto and Grace, 2008). Gemeinsam deuten die Ergebnisse des Experiments 2 und aus elektrophysiologischen Studien darauf hin, dass zielgerichtete bzw. belohnungsgerichtete Verhaltensweisen auf einer Verbindung zwischen dem hippocampalen System und dem Striatum beruhen, und dass Informationen über diese Verhaltensweisen innerhalb des Striatums einer DA-ergen Modulation bedürfen.

Zusammengenommen ergeben die Ergebnisse des Versuches 1 und des Versuches 2, dass DA im pDMS nicht an der Bildung von R-O Assoziationen beteiligt ist und darüber hinaus ebenso nicht nötig ist, um sich an den Wert einer Belohnung zu erinnern. Dahingegen scheint DA im pDMS unabdingbar zu sein, um den kausalen Zusammenhang zwischen Handlungen und Belohnungen zu erfassen. Dabei ist DA im pDMS vor allem nötig, um kontextuelle Informationen vom EC zu modulieren, so dass eine Änderung des prädiktiven Status eines Stimuli wahrgenommen werden kann. Dadurch ist es möglich zielgerichtete Verhaltensweisen rasch an sich ändernde Umweltbedingungen anzupassen.

7.4 Die Rolle von Dopamin im NAc core bei der Steuerung zielgerichteten Verhaltens

Zielgerichtetes Verhalten passt sich rasch an Veränderungen des Wertes einer Belohnung an, wie durch zahlreiche Versuche gezeigt wurde (u.a. Balleine and Dickinson, 2000; Balleine et al., 2003; Corbit and Balleine, 2003; Yin et al., 2005b). Die Hypothesen zur Funktion des Neurotransmitters DA lassen vermuten, dass DA an Lernprozessen beteiligt ist, die dem zielgerichteten Verhalten zugrunde liegen. Die Ergebnisse der Experimente 1 und 2 machen jedoch deutlich, dass DA in zwei relevanten Schlüsselstrukturen des assoziativen Schaltkreises, dem PL und dem pDMS, diesen Lernvorgang nicht unterstützt. Eine weitere mögliche Schlüsselstruktur ist der NAc, da Tiere mit einer Zellkörperläsion des NAc core insensitiv gegenüber einer Devaluation waren, jedoch sensitiv auf eine Kontingenzdegradation reagierten (Corbit et al., 2001). Es ist außerdem bekannt, dass DA

zahlreiche NAc-vermittelte kognitive Prozesse unterstützt (z.B. Aberman and Salamone, 1999; Di Ciano et al., 2001; Dalley et al., 2002; Salamone and Correa, 2002; Salamone et al., 2005; Murschall and Hauber, 2006; Calaminus and Hauber, 2007; Lex and Hauber, 2008; Hauber and Sommer, 2009). Daher war es naheliegend, dass DA im NAc die Sensitivität gegenüber Veränderungen des Belohnungswertes vermitteln könnte. Entgegen dieser Annahme zeigen die Befunde von Experiment 3, dass Tiere mit einer 6-OHDA Läsion des NAc core weiterhin sensitiv gegenüber einer Ergebnisdevaluation waren. D.h., diese Tiere konnten den geänderten Wert einer der beiden Belohnungen in ihre gebildete R-O-Assoziation integrieren, und ihr Verhalten dementsprechend flexibel anpassen. Somit scheint DA im NAc core nicht an der Bildung von R-O-Assoziationen beteiligt zu sein.

Dieses Ergebnis steht in Einklang mit einigen neueren Studien, die postulieren, dass DA zielgerichtetes Verhalten offenbar nicht steuert (Niv and Schoenbaum, 2008), bzw. keine Rolle bei appetitiven instrumentellen Lernvorgängen spielt (Dickinson et al., 2000; Cardinal et al., 2002a; Yin et al., 2008). Zusammengenommen scheint somit der NAc core bzw. DA im NAc core nicht an der Bildung von R-O-Assoziationen und damit am zielgerichteten Verhalten beteiligt zu sein.

Allerdings war die Hebeldruckrate der Tiere mit einer DA-Depletion des NAc core signifikant niedriger wie die Hebeldruckrate der Kontrolltiere. Ein rein motorisches Defizit ist als Ursache für die reduzierte Hebeldruckrate eher unwahrscheinlich, da die Tiere mit einer NAc core DA-Depletion die beiden Hebel im Devaluationstest deutlich unterschiedlich häufig betätigten, d.h. die motorische Ausführung ihrer Handlungen sehr gut kontrollieren konnten. Zudem veränderte eine temporäre Inaktivierung des NAc die zeitliche Charakteristik der einzelnen Hebeldrücke nicht (Nowend et al., 2001). Die verfügbaren Daten sprechen somit dafür, dass ein motorisches Defizit als Folge der DA-Depletion des NAc core nicht die Ursache für die niedrige Hebeldruckrate sein kann.

Dahingegen gibt es zahlreiche Hinweise, dass DA im NAc die Motivation beeinflusst für Belohnungen zu arbeiten (u.a. Salamone et al., 1994; Cousins et al., 1999; Salamone et al., 2005; Bardgett et al., 2009; Salamone, 2009). So scheint DA vor allem solche belohnungsbezogenen Verhaltensweisen zu aktivieren, die mit einem hohen physischen / motorischen Aufwand verbunden sind. DA-Läsionen des NAc beeinträchtigen dabei selektiv jene Handlungen, bei denen ein hoher Aufwand, z.B. 5 Hebeldrücke für eine Belohnung, nötig ist, nicht jedoch Handlungen, bei denen ein geringer Aufwand, z.B. 1 Hebeldruck für eine Belohnung, nötig ist (Aberman and Salamone, 1999; Correa et al., 2002; Salamone et al., 2007). Darüber hinaus zeigen diese Tiere die Tendenz zwischen zwei Hebeldrücken lange Pausen zu machen (Mingote et al., 2005). Zudem wurde nachgewiesen, dass eine Blockade

der D1- und D2-Rezeptoren im NAc die Geschwindigkeit verringert, mit der die Tiere einen Hebel in Erwartung einer bestimmten Belohnung loslassen (Calaminus and Hauber, 2007).

Ein ähnliches Defizit wurde in einer T-Labyrinthaufgabe gemessen. Tiere mit einer Blockade der DA-Transmission im NAc wählten dabei die Handlungsoption „geringer Aufwand – geringe Belohnung“, während Kontrolltiere die Option „hoher Aufwand – hohe Belohnung“ präferierten (Salamone et al., 1994).

Die vorgestellten Befunde machen deutlich, dass bei Tieren mit einer DA-Läsion des NAc motivationale Beeinträchtigungen vorliegen; solche Tiere betätigen z.B. Hebel für Belohnungen weniger schnell oder ausdauernd. Da die Tiere im Experiment 3 im Durchschnitt 10 Hebeldrücke machen mussten, um eine Belohnung zu bekommen (*random ratio-10* Schema; RR-10), die Arbeit pro Belohnung somit hoch war, könnte eine solche Beeinträchtigung auch die beobachtete Abnahme der Hebeldruckrate bedingt haben.

Zusammengenommen deuten die Ergebnisse des Experiments 3 daraufhin, dass DA im NAc core nicht an der Bildung von instrumentellen R-O-Assoziationen beteiligt ist und ebenso keine Rolle bei der Steuerung des Verhaltens aufgrund einer Wertänderung der Belohnungen spielt. Demgegenüber scheint DA im NAc core die Bereitschaft zu beeinflussen für Belohnungen ein gewisses Maß an Arbeit zu leisten.

Diese Schlussfolgerungen beruhen allerdings auf Untersuchungen an instrumentellen Verhaltensweisen. DA moduliert im NAc neben der instrumentellen Konditionierung vor allem die klassische Konditionierung. So beeinträchtigten DA-Läsionen des NAc (Dalley et al., 2002; Parkinson et al., 2002) als auch eine Blockade der D1-Rezeptoren im NAc (Di Ciano et al., 2001; Dalley et al., 2005) das Erlernen einer klassischen Konditionierung, bei der die Tiere lernen sollten sich einem CS⁺ zu nähern und einen CS₀ zu ignorieren, um eine Belohnung zu erhalten. Mittels Mikrodialyse-Messungen wurde zudem festgestellt, dass nach einer erfolgten klassischen Konditionierung das Präsentieren des CS⁺ ausreicht, damit im NAc DA ausgeschüttet wird (Cheng et al., 2003).

Aus diesen Befunden wird deutlich, dass DA-Signale im NAc offenbar assoziative Lernvorgänge steuern, die an einer klassischen Konditionierung beteiligt sind. Im Experiment 3 wurde deshalb auch die Rolle von DA im NAc core innerhalb einer klassischen Konditionierung untersucht. Im Mittelpunkt stand die Frage, ob DA im NAc core möglicherweise eine belohnungsbezogene Wertänderung innerhalb eines klassischen Lernparadigmas vermittelt. Die Ergebnisse des Versuches bestätigen diese Hypothese. Tiere mit einer DA-Läsion des NAc core reagierten nach einer klassischen Konditionierung nicht mehr sensitiv auf die Devaluation einer Belohnung. Die Tiere mit einer DA-Läsion des NAc core reagierten im Devaluationstest gleichermaßen auf den CS⁺, der die nicht-devaluierte

Belohnung voraussagte, wie auf den CS+, der die Gabe der devaluierten Belohnung ankündigte, mit einem Eintritt der Schnauze in die Futteröffnung (*magazine entries*). Bei Kontrolltieren hingegen war die Zahl der *magazine entries* nur nach Präsentation des CS+, der mit dem devaluierten Futter assoziiert war, reduziert. Möglicherweise konnten die Tiere mit einer DA-Depletion des NAc core die beiden Belohnungen nicht auseinanderhalten und reagierten deshalb im Devaluationstest auf beide CS+ in gleicher Weise. Dies passt zu der Beobachtung, dass die Läsionstiere im Extinktionstest zwar auf beide CS+ gleich häufig reagierten, die Anzahl ihrer *magazine entries* auf beide CS+ jedoch geringer war, wie die der Kontrolltiere. Bei Tieren mit einer DA-Depletion des NAc core könnte deshalb die Diskriminationsfähigkeit gegenüber den beiden dargebotenen Belohnungen verringert sein. Dies könnte dazu geführt haben, dass die Tiere mit einer DA-Läsion des NAc core die Devaluation registrierten und demnach auch „wussten“, dass eine der beiden Belohnungen einen für sie geringeren Wert hatte. Aufgrund ihrer fehlenden Fähigkeit die beiden Belohnungen voneinander zu unterscheiden, reagierten sie jedoch auf beide CS+ in gleicher Weise.

Diese Annahme konnte jedoch durch den Konsumationstest widerlegt werden. Hier zeigten die Läsionstiere ebenso wie die Kontrolltiere eine signifikante Präferenz für die nicht-devaluierte Belohnung. D.h., die Tiere mit einer DA-Läsion des NAc core konnten beide Belohnungen anhand ihrer spezifisch-sensorischen Eigenschaften unterscheiden. Mit Hilfe des Konsumationstests kann darüber hinaus der Einwand entkräftet werden, dass die Devaluation möglicherweise nicht wirksam war, und die Läsionstiere daher gleich häufig auf die beiden CS+ reagierten.

Eine andere Möglichkeit, die verringerte Reaktion auf die CS+ zu interpretieren, wäre ein läsionsbedingter Motivationsverlust. Dies kann jedoch nahezu ausgeschlossen werden, da die Tiere mit einer DA-Läsion des NAc core während der Akquisitionsphase der klassischen Konditionierung ebenso viele *magazine entries* zeigten wie die Kontrolltiere.

Ein CS+ kann verschiedene Assoziationen mit dem US eingehen (Cardinal et al., 2002a) und bildet u.a. eine Assoziation mit den spezifischen sensorischen Eigenschaften des US. Daher wäre es denkbar, dass das Defizit der Tiere mit einer DA-Läsion des NAc core im Devaluationstest daher rührt, dass diese Tiere keine Assoziationen zwischen den spezifischen sensorischen Eigenschaften der Belohnungen und den jeweiligen CS+ bilden konnten. Dies hätte zur Folge, dass diese Tiere keine Vorhersage machen konnten, welche Belohnung sie nach der Präsentation eines der beiden CS+ erwartet und demnach gleich häufig auf beide CS+ reagierten. Zu dieser Annahme passt, dass die Tiere mit einer DA-Läsion des NAc core die Anzahl ihrer *magazine entries* im Gegensatz zu Kontrolltieren verringerten, d.h. die

Devaluation registriert haben. Jedoch war die Verringerung der *magazine entries* nicht signifikant unterschiedlich zu denen der Kontrolltiere, weshalb diese Interpretation spekulativ ist.

Schließlich gibt es noch eine weitere Möglichkeit das Defizit der Tiere mit einer DA-Läsion des NAc core zu erklären. Durch die DA-Läsion des NAc core könnte die Fähigkeit des CS+ unterbunden worden sein, eine Repräsentation des Wertes der jeweiligen Belohnung hervorzurufen. So wäre es möglich, dass die Tiere mit einer DA-Läsion des NAc core während der Devaluationsprozedur zwar korrekte Assoziationen mit den spezifischen sensorischen Eigenschaften der beiden Belohnungen bilden, im Devaluationstest jedoch nach Präsentation der CS+ nicht in der Lage sind sich daran zu erinnern, welchen Wert die mit dem jeweiligen Stimuli assoziierte Belohnung hat; mit anderen Worten: die Tiere mit einer DA-Läsion des NAc core haben die CS+-Belohnungs-Assoziationen möglicherweise korrekt gelernt, konnten diese im Devaluationstest aber nicht abrufen.

Zusammengenommen machen die Ergebnisse des Experiments 3 deutlich, dass DA-Signale im NAc core beim klassischen und instrumentellen Lernen unterschiedliche Funktionen ausüben. Bei instrumentellen Lernvorgängen scheint DA im NAc core die Motivation zu steuern für eine Belohnung einen größeren Aufwand, z.B. Hebel drücken, zu leisten. Demgegenüber vermitteln DA-Signale während einer instrumentellen Konditionierung nicht die Bildung von R-O-Assoziationen. Dahingegen scheint DA im NAc core bei klassischen Lernvorgängen beteiligt zu sein, die die Bildung von Assoziationen zwischen einem CS+ und den spezifischen sensorischen Eigenschaften einer Belohnung betreffen. Zudem ist nicht auszuschließen, dass DA das Abrufen eines Wertes eine Belohnung unterstützt.

7.5. Zusammenfassende Diskussion

7.5.1 Die Rolle von Dopamin beim zielgerichteten Verhalten

Ein Tier, welches zielgerichtet handelt, ist in der Lage die Konsequenzen seines Handelns zu erfassen, und sein Verhalten flexibel an sich ändernde Umweltbedingungen anzupassen, so dass es Entscheidungen treffen kann, die z.B. das eigene Überleben sichern. Befunde für die Richtigkeit dieser Annahme haben sich jedoch erst seit einigen Jahren in der modernen Neurowissenschaft ergeben. Lange ging man davon aus, dass eine Handlung eines Tieres von externen Stimuli ausgelöst wird und das Ergebnis der Handlung lediglich dazu führt, die S-R

Assoziation zu stärken bzw. zu schwächen (Thorndike, 1911), so dass das Handlungsergebnis keine führende Rolle bei der Handlungssteuerung einnimmt. Heute weiß man jedoch, dass Tiere in der Lage sind einen Zusammenhang zwischen ihren Handlungen und den Ergebnissen bzw. Handlungszielen herzustellen, d.h. spezifische R-O Assoziationen auszubilden (Skinner, 1938; Rescorla and Solomon, 1967). Dies hat zu der heutigen Definition von zielgerichtetem Verhalten geführt; sie besagt, dass ein Verhalten dann zielgerichtet ist, wenn es durch die Repräsentation des Ergebnisses als Ziel der Handlung und dem Wissen um die Kontingenz von Handlung und Ergebnis bestimmt wird (Dickinson and Balleine, 1994; Balleine and Dickinson, 1998). Wenn nun ein solches, durch eine R-O Assoziation entstandenes zielgerichtetes Verhalten über einen längeren Zeitraum in immer gleicher Weise ausgeführt wird, ohne dass sich dabei der Kontext in dem das Verhalten stattfindet ändert, kann sich daraus ein Gewohnheitsverhalten entwickeln. Ein solches Verhalten ist dadurch gekennzeichnet, dass es sich der Kontrolle des deklarativen Gedächtnisses entzieht und automatisch ausgeführt wird, solange sich der Kontext nicht ändert. Eine automatisierte Handlungskontrolle ohne Beteiligung des deklarativen Gedächtnisses dient vermutlich dazu mentale Kapazitäten einzusparen. Auf diese Weise stehen Verarbeitungskapazitäten für andere, gleichzeitig ablaufende kognitive Prozesse zur Verfügung (Gehring and Knight, 2000; Balleine et al., 2009). Findet jedoch eine plötzliche Änderung des Kontextes statt, kann das Gewohnheitsverhalten normalerweise wieder der Kontrolle durch das deklarative Lern- und Gedächtnissystem zugänglich gemacht werden (Balleine et al., 2009). Die Erforschung des deklarativen und impliziten Gedächtnisses und seiner Wechselbeziehungen ist für das Verständnis zahlreicher pathologischer Zustände von Bedeutung. So scheint z.B. bei Suchterkrankungen die anfangs zielgerichtete Einnahme von Suchtmitteln während der Suchtentwicklung zum Gewohnheitsverhalten zu werden, wodurch selbst das bewusste in Erinnerung rufen der negativen Konsequenzen des Drogenkonsums nicht mehr der bewussten Kontrolle zugänglich gemacht werden (Balleine et al., 2009).

Aufgrund intensiver Forschungsarbeiten wurde in den letzten Jahren ein Netzwerkmodell funktionell verschiedener, parallel verlaufender cortico-striataler Schaltkreise entwickelt, die zielgerichtetes und Gewohnheitsverhalten maßgeblich steuern (Balleine et al., 2009; Balleine and O'Doherty, 2009). Während zielgerichtetes Verhalten durch den assoziativen Schaltkreis gesteuert wird (Balleine and Dickinson, 2000; Corbit et al., 2001; Corbit et al., 2002; Corbit and Balleine, 2003; Corbit et al., 2003; Yin et al., 2005b), spielt der sensomotorische Schaltkreis bei der Kontrolle des Gewohnheitsverhaltens eine Schlüsselrolle (Coutureau and Killcross, 2003; Killcross and Coutureau, 2003; Yin et al., 2004, 2006a). Zudem konnten anatomische Studien aufzeigen, dass dopaminerge Neurone des Mittelhirns beide Schaltkreise

modulieren (Haber et al., 2000; Yin et al., 2008). So war bekannt, dass DA-Signale Lernvorgänge unterstützen, z.B. in dem sie Signale übermitteln, die den Lernfortschritt kodieren („*prediction error*“). Jedoch war die Rolle von DA-Signalen beim zielgerichteten Verhalten innerhalb des assoziativen Schaltkreises unklar. Daher war es das Ziel dieser Arbeit die Rolle der DA-Modulation des assoziativen cortico-striatalen Schaltkreises beim zielgerichteten Verhalten zu untersuchen.

Aus den Ergebnissen des Experiments 1 geht hervor, dass DA im PL nicht an der Bildung von R-O Assoziationen beteiligt ist, da Tiere trotz Ausschaltung der DA-Transmission im PL sensitiv gegenüber einer Ergebnisdevaluation waren, und den kausalen Zusammenhang zwischen ihren Aktionen und den Ergebnissen erfassen konnten. Somit scheint der von Corbit et al. (2003) beobachtete Effekt der Insensitivität gegenüber einer Ergebnisdevaluation und einer Kontingenzdegradation nach einer Zellkörperläsion des PL nicht durch DA vermittelt zu werden. Diese Befunde machen deutlich, dass DA im PL nicht an der Steuerung assoziativer Lernvorgänge beteiligt ist. D.h., DA kodierte Lernsignale, wie das Vorhersage-Fehler-Signal (Schultz, 2007) scheinen für diese Art von Assoziationen im PL keine Rolle zu spielen. Jedoch induzierte eine DA-Depletion des PL eine Reduktion der Hebeldruckrate. Diese beruht nicht auf motorischen, sondern wahrscheinlich auf motivationalen Defiziten. Nach dem Konzept von Berridge (2007) ist z.B. denkbar, dass nach einer DA-Läsion die Belohnung einen verringerten Anreiz besitzt. Nach der Hypothese von Niv et al. (2007) wäre es möglich, dass die Tiere nicht mehr genau abschätzen können, wie hoch die mittlere, zu erwartende Belohnungsmenge ist, die die Handlungen ankündigen. Welche dieser beiden Theorien für das Defizit der Läsionstiere verantwortlich ist, kann durch das vorliegende Experiment nicht beantwortet werden und bedarf weiterer, spezifischerer Untersuchungen.

Zellkörperläsionen ergaben außerdem, dass das pDMS eine wichtige Rolle bei zielgerichteten Verhaltensweisen spielt (Yin et al., 2005b). Die Befunde der vorliegenden Arbeit stützen diese Annahme und weisen nach, dass DA die Steuerung des zielgerichteten Verhaltens im pDMS unterstützt. DA vermittelt dabei die Sensitivität, Änderungen der kausalen Beziehung von Handlung und Ergebnis zu detektieren. Demgegenüber scheint DA im pDMS nicht an der Ausbildung von R-O-Assoziationen beteiligt zu sein.

Interessanterweise erhält das pDMS vom EC zahlreiche Afferenzen. Ferner bewirkte eine Läsion des EC, ähnlich wie DA-Läsionen des pDMS, Störungen des Kontingenzlernens ohne Ausfälle des R-O-Lernens zu induzieren (Corbit et al., 2002). Daher war es das Ziel des Experiments 2 zu untersuchen, ob das pDMS und der EC funktionell miteinander verbunden sind. In Einklang mit dieser Annahme erzeugte eine pDMS-EC-Diskonnektionsläsion eine Störung des Kontingenzlernens. Diese Erkenntnis legt nahe, dass kontextuelle Informationen

des EC zum pDMS geleitet werden und dort einer DA-ergen Verarbeitung bedürfen, damit eine Änderung des prädiktiven Status eines Stimuli wahrgenommen werden kann. Gemäß dieser Interpretation haben Tiere mit einer pDMS-EC-Diskonnektionsläsion ein Defizit in der Berechnung der „Hintergrundrate“ der Belohnungsgabe (Corbit et al., 2002) und waren demnach nicht in der Lage die freien Belohnungen mit dem Kontext in Verbindung zu bringen, der der bessere Prädiktor für die freien Belohnungen war.

Offen war allerdings noch die Frage, in welcher der Strukturen des assoziativen Schaltkreises, DA zur Ausbildung von R-O-Assoziationen beiträgt. Ein potentielles Zielgebiet stellt dabei der NAc core dar, da eine Zellkörperläsion des NAc core spezifisch die Ergebnisdevaluation beeinträchtigte (Corbit et al., 2001). Außerdem moduliert DA im NAc core zahlreiche kognitive Prozesse (Dalley et al., 2002; Parkinson et al., 2002; Goto and Grace, 2005; Salamone et al., 2007; Lex and Hauber, 2008). Jedoch sprechen die Ergebnisse von Experiment 3 gegen eine Beteiligung von DA im NAc core an der Ausbildung einer instrumentellen R-O-Assoziation. Aufgrund der geringeren Hebeldruckrate der Tiere mit einer DA-Depletion des NAc core, scheint DA eher motivationale Leistungen zu steuern. Dieses Ergebnis impliziert, dass DA im NAc core nicht als Lernsignal dient. Dagegen spricht allerdings der Befund aus der klassischen Konditionierung, dass DA im NAc core nötig ist, um Assoziationen des CS+ mit den spezifischen sensorischen Eigenschaften der Belohnung auszubilden.

Zusammenfassend machen die Befunde der vorliegenden Arbeit deutlich, dass DA innerhalb der assoziativen cortico-striatalen Funktionsschleife keine einheitliche Funktion bei der Steuerung des zielgerichteten Verhaltens hat und zudem nicht alle Prozesse unterstützt, die für zielgerichtetes Verhalten wichtig sind. Eine wichtige Kernaussage der vorliegenden Arbeit lautet somit, dass DA für die Bildung von R-O Assoziationen nicht relevant zu sein scheint.

7.5.2 Die Rolle von Dopamin beim Gewohnheitsverhalten

Neben den Versuchen der vorliegenden Arbeit haben bereits andere Arbeiten die Rolle von DA innerhalb des sensomotorischen cortico-striatalen Schaltkreises untersucht, welcher Gewohnheitsverhalten vermittelt. Wichtige Strukturen innerhalb dieses Schaltkreises sind das DLS sowie der IL. So verhinderte eine Zellkörperläsion des DLS (Yin et al., 2004) als auch des IL (Killcross and Coutureau, 2003) die Bildung eines Gewohnheitsverhaltens. Zudem erhält der sensomotorische cortico-striatale Schaltkreis zahlreiche Afferenzen aus der VTA und der SN (Van Eden et al., 1987; Haber et al., 2000; Bjorklund and Dunnett, 2007; Yin et

al., 2008), was für eine mögliche Beteiligung von DA bei der Entwicklung eines Gewohnheitsverhaltens spricht. So konnte gezeigt werden, dass eine Amphetamin-Sensitivierung dazu führte, dass die behandelten Tiere zu einem Zeitpunkt des instrumentellen Trainings eine Gewohnheit ausgebildet hatten, an dem die Kontrolltiere weiterhin zielgerichtet, d.h. flexibel auf eine Wertänderung reagierten (Nelson and Killcross, 2006). Dies legt nahe, dass DA-Signale an der Ausbildung einer Gewohnheit beteiligt sind. Unterstützt wird dieser Befund von einer weiteren Arbeit, die zeigen konnte, dass eine systemische Blockade der D1-Rezeptoren die Ausbildung einer Gewohnheit blockierte (Choi et al., 2005). Darüber hinaus konnten Faure et al. (2005) nachweisen, dass Tiere mit einer DA-Läsion des DLS keine Gewohnheit mehr ausbilden konnten. Denn nach einer instrumentellen Trainingsprozedur, die darauf ausgelegt war eine Gewohnheit zu erzeugen, waren diese Tiere im Gegensatz zu Kontrolltieren weiterhin sensitiv gegenüber einer Ergebnisdevaluation. Somit scheint DA im DLS entscheidend an der Generierung einer Gewohnheit beteiligt zu sein. Dieses einheitliche Bild von der Rolle von DA innerhalb des sensomotorischen cortico-striatalen Schaltkreises wird jedoch durch eine neuere Arbeit in Frage gestellt. Hitchcott et al. (2007) konnten zeigen, dass die Gabe einer DA-Vorstufe in den IL zu einer bidirektionalen Modulation des Verhaltens der Tiere führte. Entgegen den Erwartungen, bildeten die behandelten Tiere keine Gewohnheit aus, sondern reagierten sensitiver gegenüber einer Ergebnisdevaluation als Kontrolltiere.

Somit scheint DA auch im sensomotorischen cortico-striatalen Schaltkreis keine einheitliche Funktion zu erfüllen, sondern vielmehr in den unterschiedlichen Arealen dieses Netzwerkes unterschiedliche Lernprozesse zu modulieren.

7.6 Schlussfolgerung

Instrumentelles Verhalten eines Organismus kann entweder zielgerichtet sein oder automatisiert als Gewohnheit ablaufen. Zielgerichtetes Verhalten wird durch den kausalen Zusammenhang zwischen Handlung und Ergebnis, sowie dem Wert des Ergebnisses bestimmt und passt sich somit flexibel an sich ändernde Umweltbedingungen an. Dahingegen läuft das Gewohnheitsverhalten ohne bewusste Kontrolle des deklarativen Lern – und Gedächtnissystems ab. Durch die Bildung einer Gewohnheit können so kognitive Ressourcen gespart und für gleichzeitig ablaufende Prozesse, die aufmerksamkeitsfordernd sind, genutzt werden.

Zellkörperläsionsstudien zeigen nun auf, dass sowohl das zielgerichtete, als auch das automatisierte Gewohnheitsverhalten von zwei unterschiedlichen cortico-striatalen Schaltkreisen, dem assoziativen und dem sensomotorischen Schaltkreis, gesteuert werden. Ebenso haben Studien ergeben, dass beide Netzwerke zahlreiche DA-Afferenzen aus dem Mittelhirn erhalten. Zudem ist bekannt, dass DA an vielen kognitiven und motivationalen Prozessen maßgeblich beteiligt ist. So gibt es mehrere Hypothesen wonach DA den Anreiz-Wert einer Belohnung kodiert oder als wichtiges Lernsignal fungiert. Jedoch ist über die Rolle von DA beim zielgerichteten Verhalten innerhalb des assoziativen Schaltkreises noch wenig bekannt

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeiten zeigen auf, dass DA nicht an der Bildung von R-O-Assoziationen beteiligt ist, d.h. nicht alle Lernvorgänge unterstützt, die für zielgerichtetes Verhalten notwendig sind. Innerhalb des assoziativen cortico-striatalen Schaltkreises scheint DA zudem keine einheitliche Rolle einzunehmen. Vielmehr moduliert DA in den einzelnen Arealen dieses Schaltkreises unterschiedliche Prozesse.

Im PL kodiert DA den Anreiz-Wert einer Belohnung bzw. die durchschnittlich zu erwartende Belohnungsmenge. Im pDMS moduliert DA eingehende kontextuelle Informationen vom EC und trägt auf diese Weise zur Detektierung des kausalen Zusammenhangs zwischen Handlung und Ergebnis bei. Im NAc core steuert DA bei einer instrumentellen Konditionierung motivationale Leistungen, bei einer klassischen Konditionierung die Bildung von Assoziationen des CS+ mit den spezifisch sensorischen Eigenschaften der Belohnung bzw. das Abrufen des Wertes einer Belohnung.

Aufgrund dieser Erkenntnisse ist es fraglich, ob weiterhin an der Idee festgehalten werden kann, dass die Funktion von DA mittels einer einzigen Hypothese erklärbar ist. Vielmehr scheint es so zu sein, dass DA unterschiedliche Informationen kodiert und übermittelt, wobei in verschiedenen Hirnarealen jeweils andere Teile dieser Information genutzt werden, um unterschiedliche kognitive Prozesse zu steuern.

Eine korrekte Antwort auf die Frage zu den Funktionen von Dopamin scheint daher zu sein:

“ Neurowissenschaftler zu verwirren“ (Berridge, 2005)

8. Anhang

8.1 Computerprogramme MedPC

8.1.1 Magazine Training

\Magazine Training

\Keine Hebel

\Zwei Belohnungen: Pellets und Sucrose

\Jede Belohnung hat einen eigenen RT 60

\Sessionlänge: 20 Minuten

\Inputs:

^sensor = 3

\Outputs:

^housetlight = 7

^pellet = 3

^sucrose = 8

\Variables:

\A = Number of pellet rewards

\B = Number of sucrose rewards

\C = Number of pokes into the receptacle

\P = Number from variable U drawn with RANDI (pellets)

\S = ~~~~~~ (sucrose)

\U = List of RT 60 values

List U =

1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21,22,23,24,25,26,27,28,29,30,31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42,43,44,45,46,47,48,49,50,51,52,53,54,55,56,57,58,59,60

S.S.1,

S1,

#start: on^housetlight; RANDI P=U ---> S2

S2,

.01": IF P=10 [@True,@False]

 @True: on^pellet; Z1 ---> S3

 @False: ---> S4

S3,

2.0": off^pellet ---> S4

S4,

1": RANDI P=U; IF P=10 [@True,@False]

@True: on^pellet; Z1 ---> S3
 @False: ---> S4

S.S.2,
 S1,
 #start: RANDI S=U ---> S2

S2,
 .01": IF S=20 [@True,@False]
 @True: on^sucrose; Z2 ---> S3
 @False: ---> S4

S3,
 2.0": off^sucrose ---> S4

S4,
 1": RANDI S=U; IF S=20 [@True,@False]
 @True: on^sucrose; Z2 ---> S3
 @False: ---> S4

S.S.3,
 S1,
 #Z1: Add A; Show 1, Pellets, A ---> S1
 #Z2: Add B; Show 2, Sucrose, B ---> S1

S.S.4,
 S1,
 #R^sensor: Add C; Show 3, Pokes, C ---> S2

S2,
 #R^sensor:--->S2
 0.01":--->S1

S.S.5,
 S1,
 #start: ---> S2

S2,
 20'---> Stopabortflush

8.1.2 Lever Training (Continuous Reinforcement)

Dieses Programm steht stellvertretend für alle anderen Hebel-Belohnungs Assoziationen, die trainiert werden sollen. Dafür muss im Programm der Hebel „leftlever“ ggf. gegen den Hebel „rightlever“ und die Belohnung „pellet“ ggf. gegen die Belohnung „sucrose“ getauscht werden.

\Lever Training Continuous Reinforcement (CRF) --> jeder Hebeldruck gibt eine Belohnung
 \Linker Hebel

\Eine Belohnung: Pellets

\Sessionlänge: 20 min.

\Inputs:

^leftlever = 1

^sensor = 3

\Outputs:

^housetlight = 7

^pellet = 3

\Variables:

\A = Number of responses

\B = Number of pellet rewards given

\C = Number of pokes into receptacle

S.S.1,

S1,

#start: on^housetlight; on^leftlever ---> S2

S2,

#R^leftlever: Add A; Show 1, Responses, A ---> S3

S3,

#R^leftlever:--->S3

0.01":--->S2

S.S.2,

S1,

#R^leftlever: on^pellet; Add B; Show 2, Rewards, B ---> S2

S2,

2.0": off^pellet ---> S3

S3,

#R^leftlever:--->S3

0.01":--->S1

S.S.3,

S1,

#R^sensor: Add C; Show 3, Pokes, C ---> S2

S2,

#R^sensor:--->S2

0.01":--->S1

S.S.4,

S1,

20'---> Stopabortflush

8.1.3 Lever Training (RR-5; RR-10; RR-20)

Dieses Programm steht stellvertretend für alle anderen Hebel-Belohnungs Assoziationen, die trainiert werden sollen. Dafür muss im Programm der Hebel „leftlever“ ggf. gegen den Hebel „rightlever“ und die Belohnung „pellet“ ggf. gegen die Belohnung „sucrose“ getauscht werden.

Des Weiteren steht das Programm stellvertretend für alle anderen Belohnungswahrscheinlichkeiten (RR-10, RR-20). Hierfür muss lediglich der „WITHPI“-Befehl angepasst werden (1000 für RR-10; 500 für RR-20); siehe Med-PC Handbuch.

\Lever Training Random Ration 5 (RR-5) --> jeder Hebeldruck hat eine 1/5 Chance belohnt zu werden (siehe "WITHPI"-Befehl)

\Linker Hebel

\Belohnung: Pellets

\Sessionlänge: 20 min.

\Inputs:

^leftlever = 1

^sensor = 3

\Outputs:

^houselight = 7

^pellet = 3

\Variables:

\A = Number of responses

\B = Number of pellet rewards given

\C = Number of pokes into receptacle

S.S.1,

S1,

#start: on^houselight; on^leftlever ---> S2

S2,

#R^leftlever: Add A; Show 1, Responses, A ---> S3

S3,

#R^leftlever:--->S3

0.01":--->S2

S.S.2,

S1,

#R^leftlever: WITHPI = 2000 [@True,@False]

 @True: on^pellet; Add B; Show 2, Rewards, B ---> S3

 @False: ---> S2

S2,

#R^{^leftlever}:--->S2

0.01": ---> S1

S3,

4.0": off^{^pellet} ---> S4

S4,

#R^{^leftlever}:--->S4

0.01":--->S1

S.S.3,

S1,

#R^{^sensor}: Add C; Show 3, Pokes, C ---> S2

S2,

#R^{^sensor}:--->S2

0.01":--->S1

S.S.4,

S1,

20'---> Stopabortflush

8.1.4 Outcome Devaluation Test in extinction

\Devaluationstest

\beide Hebel

\keine Belohnungen: Extinktion

\Alle 2min. werden die Hebeldrücke aufgezeichnet (10x 2min. BINS)

\Sessionlänge: 20 min.

\Inputs:

^{^leftlever} = 1

^{^rightlever} = 2

^{^sensor} = 3

\Outputs:

^{^houselight} = 7

\Variables:

\A = Number of responses on leftlever

\B = Number of responses on rightlever

\C = Number of pokes into receptacle

DIM E=10 \leftlever

DIM F=10 \right lever

S.S.1,

S1,
 #start: on^housetlight; on^leftlever; on^rightlever ---> S2

S2,
 #R^leftlever: Add A; Show 1, leftlever, A ---> S3

S3,
 #R^leftlever: ---> S3
 0.01": ---> S2

S.S.2,
 S1,
 #R^rightlever: Add B; Show 2, rightlever, B ---> S2

S2,
 #R^rightlever: ---> S2
 0.01": ---> S1

S.S.3,
 S1,
 #start:--->S2

S2,
 2': Set E(I)=A; Set F(I)=B --->S3

S3,
 0.01": Add I; Set A=0; Set B=0 --->S2

S.S.4,
 S1,
 #R^sensor: Add C; Show 3, Pokes, C ---> S2

S2,
 #R^sensor:--->S2
 0.01":--->S1

S.S.5,
 S1,
 20': Set E(I)=A; Set F(I)=B ---> Stopabortfluh

8.1.5 Outcome Devaluation Test rewarded

Für Tiere die auf „Pellets rechts“ und „Sucrose links“ trainiert wurden, müssen die entsprechenden Einträge lediglich umgeschrieben werden. Da bei diesem Test beide Hebel zur Wahl stehen, werden die 2 Minuten BINS auch für jeden Hebel separat ausgegeben (siehe DIM F und DIM G).

\Devaluationstest Pellet links / Sucrose rechts

\beide Hebel

\Belohnungen: Pellets und Sucrose

\Alle 2min. werden die Hebeldrücke aufgezeichnet (10x 2min. BINS)

\Sessionlänge: 20 min.

\Inputs:

^leftlever = 1

^rightlever = 2

^sensor = 3

\Outputs:

^houselight = 7

^pellet = 3

^sucrose = 8

\Variables:

\A = Number of responses on leftlever

\B = Number of responses on rightlever

\C = Number of pellet rewards given

\D = Number of sucrose rewards given

\E = Number of pokes into receptacle

DIM F=10 \leftlever

DIM G=10 \right lever

S.S.1,

S1,

#start: on^houselight; on^leftlever; on^rightlever ---> S2

S2,

#R^leftlever: Add A; Show 1, leftlever, A ---> S3

#R^rightlever: Add B; Show 2, rightlever, B; Z2 ---> S4

S3,

#R^leftlever: ---> S3

0.01": ---> S2

S4,

#R^rightlever: ---> S4

0.01": ---> S2

S.S.2,

S1,

#R^leftlever: WITHPI = 500 [@True,@False]

@True: on^pellet; Add C; Show 3, pellets, C ---> S3

@False: ---> S2

S2,

#R^leftlever: ---> S2

0.01": ---> S1

S3,
4.0": off^pellet ---> S4

S4,
#R^leftlever:--->S4
0.01":--->S1

S.S.3,
S1,
#Z2: WITHPI = 500 [@True,@False]
 @True: on^sucrose; Add D; Show 4, sucrose, D ---> S2
 @False: ---> S1

S2,
4.0": off^sucrose ---> S1

S.S.4,
S1,
#start:--->S2

S2,
2': Set F(I)=A; Set G(I)=B --->S3

S3,
0.01": Add I; Set A=0; Set B=0 --->S2

S.S.5,
S1,
#R^sensor: Add E; Show 5, Pokes, E ---> S2

S2,
#R^sensor:--->S2
0.01":--->S1

S.S.6,
S1,
20': Set F(I)=A; Set G(I)=B ---> Stopabortflush

8.1.6 Contingency Degradation Training

Unter S.S.2 gibt die erste True/False-Bedingung die Wahrscheinlichkeit der freien Belohnung an (WITHPI 500 = RR-20), während die zweite True-False-Bedingung die Wahrscheinlichkeit der Belohnungsgabe durch den Hebeldruck angibt (WITHPI 500 = RR-20). Das Programm hier steht somit stellvertretend für alle anderen Hebel-Belohnungs Assoziationen und nichtkontingenten Belohnungen. Die entsprechenden Einträge sind daher einfach zu ersetzen. Weiterhin werden alle 2 Minuten die Hebeldrücke auszugeben, um die Möglichkeit zu haben den Trainingseffekt innerhalb einer Sitzung über die Zeit zu beobachten.

\Contingency Training RR-20 LH Pellets_Pellets
 \Linker Hebel
 \Belohnung: Pellets
 \Nichtkontingente Belohnung: Pellets
 \Sessionlänge: 20 min.

\Inputs:

^leftlever = 1

^sensor = 3

\Outputs:

^houselight = 7

^pellet = 3

\Variables:

\A = Number of responses

\B = Number of pellet rewards given

\C = Number of noncontingently rewards given

\D = Number of pokes into receptacle

DIM E=10 \leftlever

S.S.1,

S1,

#start: on^houselight; on^leftlever ---> S2

S2,

#R^leftlever: Add A; Show 1, Responses, A ---> S3

S3,

#R^leftlever:--->S3

0.01":--->S2

S.S.2,

S1,

#start: ---> S2

S2,

1": WITHPI = 500 [@True,@False]

@True: on^pellet; Add C; Show 3, NC Rewards, C ---> S3

@False: ---> S2

#R^leftlever: WITHPI = 500 [@True,@False]

@True: on^pellet; Add B; Show 2, Rewards, B ---> S4

@False: ---> S5

S3,

2.0": off^pellet ---> S2

S4,

2.0": off^pellet ---> S5

S5,
 #R^leftlever:--->S5
 0.01":--->S2

S.S.3,
 S1,
 #R^sensor: Add D; Show 4, Pokes, D ---> S2

S2,
 #R^sensor:--->S2
 0.01":--->S1

S.S.4,
 S1,
 #start:--->S2

S2,
 2': Set E(I)=A --->S3

S3,
 0.01": Add I; Set A=0 --->S2

S.S.5,
 S1,
 20': Set E(I)=A ---> Stopabortflush

8.1.7 Contingency Degradation Test in extinction

\Contingency Degradation
 \Beide Hebel
 \keine Belohnung
 \Alle 2min. werden die Hebeldrücke aufgezeichnet (10x 2min. BINS)
 \Sessionlänge: 20 min.

\Inputs:
 ^leftlever = 1
 ^rightlever = 2
 ^sensor = 3

\Outputs:
 ^houselight = 7

\Variables:
 \A = Number of responses leftlever
 \B = Number of responses rightlever
 \C = Number of pokes into receptacle

DIM E=10 \leftlever
 DIM F=10 \rightlever

S.S.1,
S1,
#start: on^housetlight; on^leftlever; on^rightlever ---> S2

S2,
#R^leftlever: Add A; Show 1, leftlever, A ---> S3

S3,
#R^leftlever: ---> S3
0.01": ---> S2

S.S.2,
S1,
#R^rightlever: Add B; Show 2, rightlever, B ---> S2

S2,
#R^rightlever: ---> S2
0.01": ---> S1

S.S.3,
S1,
#start:--->S2

S2,
2': Set E(I)=A; Set F(I)=B --->S3

S3,
0.01": Add I; Set A=0; Set B=0 --->S2

S.S.4,
S1,
#R^sensor: Add C; Show 3, Pokes, C ---> S2

S2,
#R^sensor:--->S2
0.01":--->S1

S.S.5,
S1,
20': Set E(I)=A; Set F(I)=B ---> Stopabortflush

8.1.8 Classical Conditioning

Dieses Programm bezieht sich auf die Paarungen „Ton=Pellets“ und „Rauschen=Sucrose“.

Für die andere Variante einfach in S.S.1 die Befehle „Z2“ und „Z4“ tauschen.

\Klassisches Training
\4 mal Abfolge von T I R I mit RT 30-s Schedule im CS++
\CS++ 2 min
\ISI 5 min

\Ton 3 khz, 80dB ---> 80dB

\Rauschen 75dB ---> 80dB

\Ton = Pellets

\Rauschen = Sucrose

\A= Zeit im Feeder Ton

\B= Zeit im Feeder Rauschen

\C= Zeit im Feeder ISI

\D= Feeder Entries Ton

\E= Feeder Entries Rauschen

\F= Feeder Entries ISI

\G= Anzahl Belohnung 1 Ton (Pellets)

\H= Anzahl Belohnung 2 Rauschen (Sucrose)

\I= Anzahl Ton

\J= Anzahl Rauschen

\K= Anzahl ISI

\L= Zeit im Feeder Ton

\M= Zeit im Feeder Rauschen

\N= Zeit im Feeder ISI

\O= Feeder Entries Ton

\P= Feeder Entries Rauschen

\X= Feeder Entries ISI

\Q= Frequenz

\R= Amplitude

\S= Flankenanstieg

\T= RT-30 s schedule

\U= Wahl zw Ton und Rauschen

\V= Zufallszahl aus T (30-s Schedule)

\W= Zufallszahl aus U (Wahl zw Ton und Rauschen)

\Y= Anzahl 4 er Blöcke (T I R I oder R I T I)

\Z= fortlaufende Zeitzählung

\Show 1: Zeit Ton

\Show 2: Zeit Rauschen

\Show 3: Zeit ISI

\Show 4: Zeit Pellets Ton (Belohnung 1)

\Show 5: Zeit Sucrose Rauschen (Belohnung 2)

DIM A=10

DIM B=10

DIM C=15

DIM D=10

DIM E=10

DIM F=15

\Wahl zw Ton und Rauschen

LIST U=1,2

\Random Time 30-s Schedule

LIST T=1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21,22,23,24,25,26,27,28,29,30

^Hauslicht=7 \Hauslicht Output
 ^Feeder=3 \Futterspender Output
 ^Sensor=3 \Lichtschranke Input
 ^Pumpe=8 \Flüssigbelohnung

S.S.1,
 S1,

#Start: ON^Hauslicht;
 SET O=3000;
 SET P=80;
 SET Q=10;

~InitANL926;~; \ANL-926 Lautsprecher initialisieren
 ~SetFreq(MG,BOX,O);~; \Frequenz initialisieren
 ~SetAmp(MG,BOX,P);~; \Amplitude initialisieren
 ~SetRF(MG,BOX,Q);~; \Flankendauer initialisieren

--->S2

S2,

1": Z11 --->S3

S3,

0.01":IF Y<4 [@true,@false]
 @true:RANDI W=U; if W=1 [@true,@false]
 @true: ---> S4 \T Block
 @false: ---> S11 \R Block
 @false: --->S18

S4,

1": SET O=3000; SET P=80; ~SETAmp(MG,Box,P);~; ~SETFreq(MG,Box,O);~;
 ~ToneON(MG,Box);~;ADD I;Z1;Z5;Z8 ---> S5

S5,

2': Z2; OFF^Feeder; ~ToneOFF(MG,Box);~;Z7;Z10 ---> S6

S6,

5': ADD K ---> S7 \ISI-Block

S7,

1": SET O=0; SET P=75; ~SETAmp(MG,Box,P);~; ~SETFreq(MG,Box,O);~;
 ~ToneON(MG,Box);~;ADD J;Z3;Z6;Z9 ---> S8

S8,

2': Z4; OFF^Pumpe; ~ToneOFF(MG,Box);~;Z7;Z10 ---> S9

S9,

5': ADD K ---> S10

S10,
0.01": ADD Y ---> S3

S11,
1": SET O=0; SET P=75; ~SETAmp(MG,Box,P);~; ~SETFreq(MG,Box,O);~;
~ToneON(MG,Box);~;ADD J;Z3;Z6;Z9 ---> S12

S12,
2': Z4;OFF^Pumpe; ~ToneOFF(MG,Box);~;Z7;Z10 ---> S13

S13,
5': ADD K ---> S14

S14,
1": SET O=3000; SET P=80; ~SETAmp(MG,Box,P);~; ~SETFreq(MG,Box,O);~;
~ToneON (MG,Box);~;ADD I;Z1;Z5;Z8 ---> S15

S15,
2': Z2;OFF^Feeder; ~ToneOFF(MG,Box);~;Z7;Z10 ---> S16

S16,
5': ADD K ---> S17

S17,
0.01": ADD Y ---> S3

S18,
2": OFF^Hauslicht ---> STOPABORTFLUSH

S.S.2

S1,
#Z1 --->S2

S2,
1": RANDI V=T; IF V=1 [@true,@false]
@true: ON^Feeder; ADD G; SHOW 4, Anzahl Pellet,G ---> S3
@false: --->S2
#Z2: ---> S1

S3,
0.01":OFF^Feeder ---> S2
#Z2:OFF^Feeder ---> S1

S.S.3

S1,
#Z3 --->S2

S2,
1": RANDI V=T; IF V=1 [@true,@false]
@true: ON^Pumpe; ADD H; SHOW 5,Anzahl Sucrose,H ---> S3

@false: ---> S2
 #Z4: ---> S1
 S3,
 2": OFF^Pumpe ---> S2
 #Z4: OFF^Pumpe ---> S1

S.S.4 \ Zeit im Feeder während Ton
 S1,
 #Z5: SET L=0; SHOW 1, Zeit Ton, L ---> S2

S2,
 0.01": IF Z=120 [@true,@false]
 @true: SHOW 1, Zeit Ton, L; SET A(I)=L; SET Z=0; Z12 ---> S4
 @false: ---> S3

S3,
 #R^sensor: ADD L; SHOW 1, Zeit Ton, L ---> S2
 0.01": ---> S2

S4,
 0.01": ---> S1

S.S.5 \ Zeit im Feeder während Rauschen
 S1,
 #Z6: SET M=0; SHOW 2, Zeit Rauschen, M ---> S2

S2,
 0.01": IF Z=120 [@true,@false]
 @true: SHOW 2, Zeit Rauschen, M; SET B(J)=M; SET Z=0; Z13 ---> S4
 @false: ---> S3

S3,
 #R^sensor: ADD M; SHOW 2, Zeit Rauschen, M ---> S2
 0.01": ---> S2

S4,
 0.01": ---> S1

S.S.6 \ Zeit im Feeder während ISI
 S1,
 #Z7: SET N=0; SHOW 3, Zeit ISI, N ---> S2

S2,
 0.01": IF Z=300 [@true,@false]
 @true: SHOW 3, Zeit ISI, N; SET C(K)=N; SET Z=0; Z14 ---> S4
 @false: ---> S3

S3,
 #R^sensor: ADD N; SHOW 3, Zeit ISI, N ---> S2

0.01": ---> S2

S4,

0.01": ---> S1

S.S.7 \Feeder Entries Ton

S1,

#Z8: SET O=0 ---> S2

S2,

#R^Sensor: ADD O ---> S3

#Z12: SET D(I)=O ---> S1

S3,

#Z12: SET D(I)=O ---> S1

#R^Sensor: ---> S3

0.01" ---> S2

S.S.8 \Feeder Entries Rauschen

S1,

#Z9: SET P=0 ---> S2

S2,

#R^Sensor: ADD P ---> S3

#Z13: SET E(J)=P ---> S1

S3,

#Z13: SET E(J)=P ---> S1

#R^Sensor: ---> S3

0.01" ---> S2

S.S.9 \Feeder Entries ISI

S1,

#Z10: SET X=0 ---> S2

S2,

#R^Sensor: ADD X ---> S3

#Z14: SET F(K)=X ---> S1

S3,

#Z14: SET F(K)=X ---> S1

#R^Sensor: ---> S3

0.01" ---> S2

S.S.10 \Fortlaufende Zeitzählung

S1,

#Z11: ADD Z ---> S2

S2,

1.0": ADD Z ---> S2

8.1.9 Outcome Devaluation Test for classical conditioning in extinction

\Klassisches Training ---> Outcome Devaluationstest

\Es werden keine Belohnungen gegeben

\4 mal Abfolge von T I R I

\CS++ 2 min

\ISI 2 min

\Ton 3 khz, 80dB ---> 80dB

\Rauschen 75dB ---> 80dB

\A= Zeit im Feeder Ton

\B= Zeit im Feeder Rauschen

\C= Zeit im Feeder ISI

\D= Feeder Entries Ton

\E= Feeder Entries Rauschen

\F= Feeder Entries ISI

\I= Anzahl Ton

\J= Anzahl Rauschen

\K= Anzahl ISI

\L= Zeit im Feeder Ton

\M= Zeit im Feeder Rauschen

\N= Zeit im Feeder ISI

\O= Feeder Entries Ton

\P= Feeder Entries Rauschen

\X= Feeder Entries ISI

\Q= Frequenz

\R= Amplitude

\S= Flankenanstieg

\U= Wahl zw Ton und Rauschen

\W= Zufallszahl aus U (Wahl zw Ton und Rauschen)

\Y= Anzahl 4 er Blöcke (T I R I oder R I T I)

\Z= fortlaufende Zeitählung

\Show 1: Zeit Ton

\Show 2: Zeit Rauschen

\Show 3: Zeit ISI

DIM A=10

DIM B=10

DIM C=15

DIM D=10

DIM E=10

DIM F=15

\Wahl zw Ton und Rauschen

LIST U=1,2

^Hauslicht=7 \Hauslicht Output

^Sensor=3 \Lichtschranke Input

S.S.1,

S1,

#Start: ON^Hauslicht;
SET O=3000;
SET P=80;
SET Q=10;

~InitANL926;~; \ANL-926 Lautsprecher initialisieren
~SetFreq(MG,BOX,O);~; \Frequenz initialisieren
~SetAmp(MG,BOX,P);~; \Amplitude initialisieren
~SetRF(MG,BOX,Q);~; \Flankendauer initialisieren

--->S2

S2,

1": Z11 --->S3

S3,

0.01":IF Y<4 [@true,@false]
@true:RANDI W=U; if W=1 [@true,@false]
@true: ---> S4 \T Block
@false: ---> S11 \R Block
@false: --->S18

S4,

1": SET O=3000; SET P=80; ~SETAmp(MG,Box,P);~;
~SETFreq(MG,Box,O);~;~ToneON(MG,Box);~;ADD I;Z5;Z8 ---> S5

S5,

2': ~ToneOFF(MG,Box);~;Z7;Z10 ---> S6

S6,

2': ADD K ---> S7

S7,

1": SET O=0; SET P=75; ~SETAmp(MG,Box,P);~;
~SETFreq(MG,Box,O);~;~ToneON(MG,Box);~;ADD J;Z6;Z9 ---> S8

S8,

2': ~ToneOFF(MG,Box);~;Z7;Z10 ---> S9

S9,

2': ADD K ---> S10

S10,

0.01": ADD Y ---> S3

S11,

1": SET O=0; SET P=75; ~SETAmp(MG,Box,P);~;
~SETFreq(MG,Box,O);~;~ToneON(MG,Box);~;ADD J;Z6;Z9 ---> S12

S12,
2': ~ToneOFF(MG,Box);~;Z7;Z10 ---> S13

S13,
2': ADD K ---> S14

S14,
1": SET O=3000; SET P=80; ~SETAmp(MG,Box,P);~;
~SETFreq(MG,Box,O);~;~ToneON (MG,Box);~;ADD I;Z5;Z8 ---> S15

S15,
2': ~ToneOFF(MG,Box);~;Z7;Z10 ---> S16

S16,
2': ADD K ---> S17

S17,
0.01": ADD Y ----> S3

S18,
2": OFF^Hauslicht ---> STOPABORTFLUSH

S.S.2 \Zeit im Feeder während Ton

S1,
#Z5: SET L=0; SHOW 1,Zeit Ton,L ---> S2

S2,
0.01": IF Z=120 [@true,@false]
@true: SHOW 1,Zeit Ton,L; SET A(I)=L; SET Z=0; Z12 ---> S4
@false: ---> S3

S3,
#R^sensor: ADD L; SHOW 1, Zeit Ton, L ---> S2
0.01": ---> S2

S4,
0.01": ---> S1

S.S.3 \Zeit im Feeder während Rauschen

S1,
#Z6: SET M=0; SHOW 2, Zeit Rauschen, M ---> S2

S2,
0.01": IF Z=120 [@true,@false]
@true: SHOW 2, Zeit Rauschen, M; SET B(J)=M; SET Z=0; Z13 ---> S4
@false: ---> S3

S3,
#R^sensor: ADD M; SHOW 2, Zeit Rauschen, M ---> S2
0.01": ---> S2

S4,
0.01": ---> S1

S.S.4 \Zeit im Feeder während ISI

S1,
#Z7: SET N=0; SHOW 3, Zeit ISI, N ---> S2

S2,
0.01": IF Z=120 [@true,@false]
@true: SHOW 3, Zeit ISI, N; SET C(K)=N; SET Z=0; Z14 ---> S4
@false: ---> S3

S3,
#R^sensor: ADD N; SHOW 3, Zeit ISI, N ---> S2
0.01": ---> S2

S4,
0.01": ---> S1

S.S.5 \Feeder Entries Ton

S1,
#Z8: SET O=0 ---> S2

S2,
#R^Sensor: ADD O ---> S3
#Z12: SET D(I)=O ---> S1

S3,
#Z12: SET D(I)=O ---> S1
#R^Sensor: ---> S3
0.01" ---> S2

S.S.6 \Feeder Entries Rauschen

S1,
#Z9: SET P=0 ---> S2

S2,
#R^Sensor: ADD P ---> S3
#Z13: SET E(J)=P ---> S1

S3,
#Z13: SET E(J)=P ---> S1
#R^Sensor: ---> S3
0.01" ---> S2

S.S.7 \Feeder Entries ISI

S1,
#Z10: SET X=0 ---> S2

S2,

#R^Sensor: ADD X ---> S3

#Z14: SET F(K)=X ---> S1

S3,

#Z14: SET F(K)=X ---> S1

#R^Sensor: ---> S3

0.01" ---> S2

S.S.8 \Fortlaufende Zeitzählung

S1,

#Z11: ADD Z ---> S2

S2,

1.0": ADD Z ---> S2

9. Literatur

- 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.
- Adams C, Dickinson A (1981) Instrumental responding following reinforcer devaluation. *The Quarterly journal of experimental psychology* 33:109-121.
- Ahn S, Phillips AG (1999) Dopaminergic correlates of sensory-specific satiety in the medial prefrontal cortex and nucleus accumbens of the rat. *J Neurosci* 19:RC29.
- Akbadian S, Smith MA, Jones EG (1995) Editing for an AMPA receptor subunit RNA in prefrontal cortex and striatum in Alzheimer's disease, Huntington's disease and schizophrenia. *Brain research* 699:297-304.
- Albin RL, Young AB, Penney JB (1989) The functional anatomy of basal ganglia disorders. *Trends in neurosciences* 12:366-375.
- Alexander GE, DeLong MR, Strick PL (1986) Parallel organization of functionally segregated circuits linking basal ganglia and cortex. *Annu Rev Neurosci* 9:357-381.
- Alvarado MC, Bachevalier J (2005) Comparison of the effects of damage to the perirhinal and parahippocampal cortex on transverse patterning and location memory in rhesus macaques. *J Neurosci* 25:1599-1609.
- 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.
- 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.
- Baldwin AE, Holahan MR, Sadeghian K, Kelley AE (2000) N-methyl-D-aspartate receptor-dependent plasticity within a distributed corticostriatal network mediates appetitive instrumental learning. *Behavioral neuroscience* 114:84-98.
- Balleine B, Killcross S (1994) Effects of ibotenic acid lesions of the nucleus accumbens on instrumental action. *Behav Brain Res* 65:181-193.
- Balleine BW, Dickinson A (1998) Goal-directed instrumental action: contingency and incentive learning and their cortical substrates. *Neuropharmacology* 37:407-419.
- Balleine BW, Dickinson A (2000) The effect of lesions of the insular cortex on instrumental conditioning: evidence for a role in incentive memory. *J Neurosci* 20:8954-8964.

- Balleine BW, O'Doherty JP (2009) Human and Rodent Homologies in Action Control: Corticostriatal Determinants of Goal-Directed and Habitual Action. *Neuropsychopharmacology*.
- Balleine BW, O'Doherty JP (2010) Human and rodent homologies in action control: corticostriatal determinants of goal-directed and habitual action. *Neuropsychopharmacology* 35:48-69.
- Balleine BW, Killcross AS, Dickinson A (2003) The effect of lesions of the basolateral amygdala on instrumental conditioning. *J Neurosci* 23:666-675.
- Balleine BW, Liljeholm M, Ostlund SB (2009) The integrative function of the basal ganglia in instrumental conditioning. *Behav Brain Res* 199:43-52.
- Bannerman DM, Yee BK, Lemaire M, Wilbrecht L, Jarrard L, Iversen SD, Rawlins JN, Good MA (2001) The role of the entorhinal cortex in two forms of spatial learning and memory. *Exp Brain Res* 141:281-303.
- Bardgett ME, Depenbrock M, Downs N, Points M, Green L (2009) Dopamine modulates effort-based decision making in rats. *Behavioral neuroscience* 123:242-251.
- Bassareo V, Di Chiara G (1999) Differential responsiveness of dopamine transmission to food-stimuli in nucleus accumbens shell/core compartments. *Neuroscience* 89:637-641.
- Baunez C, Robbins TW (1999) Effects of dopamine depletion of the dorsal striatum and further interaction with subthalamic nucleus lesions in an attentional task in the rat. *Neuroscience* 92:1343-1356.
- Becker JB, Rudick CN, Jenkins WJ (2001) The role of dopamine in the nucleus accumbens and striatum during sexual behavior in the female rat. *J Neurosci* 21:3236-3241.
- Belin D, Everitt BJ (2008) Cocaine seeking habits depend upon dopamine-dependent serial connectivity linking the ventral with the dorsal striatum. *Neuron* 57:432-441.
- Bentivoglio M, Morelli M (2005) The organisation and circuits of mesencephalic dopaminergic neurons and the distribution of dopamine receptors in the brain. In: *Handbook of Chemical Neuroanatomy (Dopamine)* (Dunnett SB, Bentivoglio M, Bjorklund A, Hoekfelt T, eds), pp 1-107. Amsterdam: Elsevier.
- Berridge KC (2000) Measuring hedonic impact in animals and infants: microstructure of affective taste reactivity patterns. *Neuroscience and biobehavioral reviews* 24:173-198.
- Berridge KC (2001) *Reward Learning: Reinforcement, incentives and expectations*. San Diego: Academic Press.

- Berridge KC (2005) Espresso reward learning, hold the dopamine: theoretical comment on Robinson et al. (2005). *Behavioral neuroscience* 119:336-341.
- Berridge KC (2007) The debate over dopamine's role in reward: the case for incentive salience. *Psychopharmacology (Berl)* 191:391-431.
- Berridge KC (2009) 'Liking' and 'wanting' food rewards: brain substrates and roles in eating disorders. *Physiology & behavior* 97:537-550.
- Berridge KC, Robinson TE (1998) What is the role of dopamine in reward: hedonic impact, reward learning, or incentive salience? *Brain Res Brain Res Rev* 28:309-369.
- Berridge KC, Robinson TE (2003) Parsing reward. *Trends in neurosciences* 26:507-513.
- Berridge KC, Venier IL, Robinson TE (1989) Taste reactivity analysis of 6-hydroxydopamine-induced aphagia: implications for arousal and anhedonia hypotheses of dopamine function. *Behavioral neuroscience* 103:36-45.
- Bertler A, Rosengren E (1959) Occurrence and distribution of dopamine in brain and other tissues. *Experientia* 15:10-11.
- Bhagvat K, Blaschko H, Richter D (1939) Amine oxidase. *Biochem J* 33:1338-1341.
- Bhatia KP, Marsden CD (1994) The behavioural and motor consequences of focal lesions of the basal ganglia in man. *Brain* 117 (Pt 4):859-876.
- Birkmayer W, Hornykiewicz O (1961) [The L-3,4-dioxyphenylalanine (DOPA)-effect in Parkinson-akinesia.]. *Wien Klin Wochenschr* 73:787-788.
- Birrell JM, Brown VJ (2000) Medial frontal cortex mediates perceptual attentional set shifting in the rat. *J Neurosci* 20:4320-4324.
- Bjorklund A, Lindvall O (1984) Dopamine-containing systems in the CNS. In: *Handbook of Chemical Neuroanatomy. Classical Transmitters in the CNS* (Bjorklund A, Hoekfelt T, eds), pp 55-122. Amsterdam: Elsevier.
- Bjorklund A, Dunnett SB (2007) Dopamine neuron systems in the brain: an update. *Trends in neurosciences* 30:194-202.
- Blandini F, Levandis G, Bazzini E, Nappi G, Armentero MT (2007) Time-course of nigrostriatal damage, basal ganglia metabolic changes and behavioural alterations following intrastriatal injection of 6-hydroxydopamine in the rat: new clues from an old model. *Eur J Neurosci* 25:397-405.
- Block AE, Dhanji H, Thompson-Tardif SF, Floresco SB (2007) Thalamic-prefrontal cortical-ventral striatal circuitry mediates dissociable components of strategy set shifting. *Cereb Cortex* 17:1625-1636.
- Blundell P, Hall G, Killcross S (2001) Lesions of the basolateral amygdala disrupt selective aspects of reinforcer representation in rats. *J Neurosci* 21:9018-9026.

-
- Bohn I, Giertler C, Hauber W (2003a) Orbital prefrontal cortex and guidance of instrumental behaviour in rats under reversal conditions. *Behav Brain Res* 143:49-56.
- Bohn I, Giertler 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.
- Brown VJ, Bowman EM (2002) Rodent models of prefrontal cortical function. *Trends in neurosciences* 25:340-343.
- Buffalo EA, Bellgowan PS, Martin A (2006) Distinct roles for medial temporal lobe structures in memory for objects and their locations. *Learn Mem* 13:638-643.
- Burwell RD, Amaral DG (1998) Cortical afferents of the perirhinal, postrhinal, and entorhinal cortices of the rat. *J Comp Neurol* 398:179-205.
- Bussey TJ, Everitt BJ, Robbins TW (1997a) Dissociable effects of cingulate and medial frontal cortex lesions on stimulus-reward learning using a novel Pavlovian autoshaping procedure for the rat: implications for the neurobiology of emotion. *Behavioral neuroscience* 111:908-919.
- Bussey TJ, Muir JL, Everitt BJ, Robbins TW (1997b) Triple dissociation of anterior cingulate, posterior cingulate, and medial frontal cortices on visual discrimination tasks using a touchscreen testing procedure for the rat. *Behavioral neuroscience* 111:920-936.
- Cagniard B, Balsam PD, Brunner D, Zhuang X (2006) Mice with chronically elevated dopamine exhibit enhanced motivation, but not learning, for a food reward. *Neuropsychopharmacology* 31:1362-1370.
- Calabresi P, Picconi B, Tozzi A, Di Filippo M (2007) Dopamine-mediated regulation of corticostriatal synaptic plasticity. *Trends in neurosciences* 30:211-219.
- Calaminus 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)* 191:551-566.
- Calaminus C, Hauber W (2008) Guidance of instrumental behavior under reversal conditions requires dopamine D1 and D2 receptor activation in the orbitofrontal cortex. *Neuroscience* 154:1195-1204.
- Cannon CM, Palmiter RD (2003) Reward without dopamine. *J Neurosci* 23:10827-10831.
- Canto CB, Wouterlood FG, Witter MP (2008) What does the anatomical organization of the entorhinal cortex tell us? *Neural Plast* 2008:381243.

- Cardinal RN, Parkinson JA, Hall J, Everitt BJ (2002a) Emotion and motivation: the role of the amygdala, ventral striatum, and prefrontal cortex. *Neuroscience and biobehavioral reviews* 26:321-352.
- Cardinal RN, Parkinson JA, Marbini HD, Toner AJ, Bussey TJ, Robbins TW, Everitt BJ (2003) Role of the anterior cingulate cortex in the control over behavior by Pavlovian conditioned stimuli in rats. *Behavioral neuroscience* 117:566-587.
- Cardinal RN, Parkinson JA, Lachenal G, Halkerston KM, Rudarakanchana N, Hall J, Morrison CH, Howes SR, Robbins TW, Everitt BJ (2002b) Effects of selective excitotoxic lesions of the nucleus accumbens core, anterior cingulate cortex, and central nucleus of the amygdala on autoshaping performance in rats. *Behavioral neuroscience* 116:553-567.
- Carlsson A (1959) The occurrence, distribution and physiological role of catecholamines in the nervous system. *Pharmacol Rev* 11:490-493.
- Carlsson A, Lindqvist M, Magnusson T (1957) 3,4-Dihydroxyphenylalanine and 5-hydroxytryptophan as reserpine antagonists. *Nature* 180:1200.
- Carlsson A, Lindqvist M, Magnusson T, Waldeck B (1958) On the presence of 3-hydroxytyramine in brain. *Science* 127:471.
- Carter CJ, Pycock CJ (1980) Behavioural and biochemical effects of dopamine and noradrenaline depletion within the medial prefrontal cortex of the rat. *Brain research* 192:163-176.
- Cheng J, Feenstra MG (2006) Individual differences in dopamine efflux in nucleus accumbens shell and core during instrumental learning. *Learn Mem* 13:168-177.
- Cheng JJ, de Bruin JP, Feenstra MG (2003) Dopamine efflux in nucleus accumbens shell and core in response to appetitive classical conditioning. *Eur J Neurosci* 18:1306-1314.
- Cho YH, Beracochea D, Jaffard R (1993) Extended temporal gradient for the retrograde and anterograde amnesia produced by ibotenate entorhinal cortex lesions in mice. *J Neurosci* 13:1759-1766.
- Choi WY, Balsam PD, Horvitz JC (2005) Extended habit training reduces dopamine mediation of appetitive response expression. *J Neurosci* 25:6729-6733.
- 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.

-
- Colwill R, Rescorla R (1986) Associative structures in instrumental learning. In: The psychology of learning and motivation (Bower G, ed), pp 55-104: New York: Academic Press.
- Cooper J, Bloom F, Roth R (2003) *The Biochemical Basis of Neuropharmacology*, 8 Edition. New York: Oxford Press.
- Corbit LH, Balleine BW (2000) The role of the hippocampus in instrumental conditioning. *J Neurosci* 20:4233-4239.
- Corbit LH, Balleine BW (2003) The role of prelimbic cortex in instrumental conditioning. *Behav Brain Res* 146:145-157.
- Corbit LH, Balleine BW (2005) Double dissociation of basolateral and central amygdala lesions on the general and outcome-specific forms of pavlovian-instrumental transfer. *J Neurosci* 25:962-970.
- 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.
- Corbit LH, Ostlund SB, Balleine BW (2002) Sensitivity to instrumental contingency degradation is mediated by the entorhinal cortex and its efferents via the dorsal hippocampus. *J Neurosci* 22:10976-10984.
- Corbit LH, Muir JL, Balleine BW (2003) Lesions of mediodorsal thalamus and anterior thalamic nuclei produce dissociable effects on instrumental conditioning in rats. *Eur J Neurosci* 18:1286-1294.
- Correa M, Carlson BB, Wisniecki A, Salamone JD (2002) Nucleus accumbens dopamine and work requirements on interval schedules. *Behav Brain Res* 137:179-187.
- Cotzias GC, Van Woert MH, Schiffer LM (1967) Aromatic amino acids and modification of parkinsonism. *N Engl J Med* 276:374-379.
- 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* 91:925-934.
- Coutureau E, Killcross S (2003) Inactivation of the infralimbic prefrontal cortex reinstates goal-directed responding in overtrained rats. *Behav Brain Res* 146:167-174.
- Cragg SJ, Hille CJ, Greenfield SA (2000) Dopamine release and uptake dynamics within nonhuman primate striatum in vitro. *J Neurosci* 20:8209-8217.
- Cummings JL (1993) Frontal-subcortical circuits and human behavior. *Arch Neurol* 50:873-880.

-
- Dahlstroem A, Fuxe K (1964) Evidence for the Existence of Monoamine-Containing Neurons in the Central Nervous System. I. Demonstration of Monoamines in the Cell Bodies of Brain Stem Neurons. *Acta Physiol Scand Suppl:SUPPL 232:231-255*.
- Dalley JW, Cardinal RN, Robbins TW (2004) Prefrontal executive and cognitive functions in rodents: neural and neurochemical substrates. *Neuroscience and biobehavioral reviews* 28:771-784.
- Dalley JW, Chudasama Y, Theobald DE, Pettifer CL, Fletcher CM, Robbins TW (2002) Nucleus accumbens dopamine and discriminated approach learning: interactive effects of 6-hydroxydopamine lesions and systemic apomorphine administration. *Psychopharmacology (Berl)* 161:425-433.
- Dalley JW, Laane K, Theobald DE, Armstrong HC, Corlett PR, Chudasama Y, Robbins TW (2005) Time-limited modulation of appetitive Pavlovian memory by D1 and NMDA receptors in the nucleus accumbens. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102:6189-6194.
- Damasio AR (1994) *Descartes' Error: Emotion, Reason, and the Human Brain*: Grosset/Putnam.
- Damasio AR (1998) The somatic marker hypothesis and the possible function of the prefrontal cortex. In: *The Prefrontal Cortex: Executive and Cognitive Functions* (Roberts AC, ed), pp 35-50. Oxford: Oxford University Press.
- 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.
- Delatour B, Gisquet-Verrier P (1999) Lesions of the prelimbic-infralimbic cortices in rats do not disrupt response selection processes but induce delay-dependent deficits: evidence for a role in working memory? *Behavioral neuroscience* 113:941-955.
- Delatour B, Gisquet-Verrier P (2000) Functional role of rat prelimbic-infralimbic cortices in spatial memory: evidence for their involvement in attention and behavioural flexibility. *Behav Brain Res* 109:113-128.
- Delgado MR, Miller MM, Inati S, Phelps EA (2005) An fMRI study of reward-related probability learning. *NeuroImage* 24:862-873.
- Devan BD, White NM (1999) Parallel information processing in the dorsal striatum: relation to hippocampal function. *J Neurosci* 19:2789-2798.
- Di Ciano P, Cardinal RN, Cowell RA, Little SJ, Everitt BJ (2001) Differential involvement of NMDA, AMPA/kainate, and dopamine receptors in the nucleus accumbens core in the acquisition and performance of pavlovian approach behavior. *J Neurosci* 21:9471-9477.

- Dias R, Robbins TW, Roberts AC (1996) Dissociation in prefrontal cortex of affective and attentional shifts. *Nature* 380:69-72.
- Dias R, Robbins TW, Roberts AC (1997) Dissociable forms of inhibitory control within prefrontal cortex with an analog of the Wisconsin Card Sort Test: restriction to novel situations and independence from "on-line" processing. *J Neurosci* 17:9285-9297.
- Dickinson A, Balleine BW (1994) Motivational control of goal directed action. *Anim Learn Behav* 22:1-18.
- Dickinson A, Smith J, Mirenowicz J (2000) Dissociation of Pavlovian and instrumental incentive learning under dopamine antagonists. *Behavioral neuroscience* 114:468-483.
- Domjan M (2003) *The Principles of Learning and Behavior*, 5. Edition. Belmont: Wadsworth/Thomson Learning.
- Domjan M (2006) *The Principles of Learning and Behavior*, 6 Edition. Belmont, CA, USA: Wadsworth, Cengage Learning.
- Ehringer H, Hornykiewicz O (1960) [Distribution of noradrenaline and dopamine (3-hydroxytyramine) in the human brain and their behavior in diseases of the extrapyramidal system.]. *Klin Wochenschr* 38:1236-1239.
- Eichenbaum H, Lipton PA (2008) Towards a functional organization of the medial temporal lobe memory system: role of the parahippocampal and medial entorhinal cortical areas. *Hippocampus* 18:1314-1324.
- Eichenbaum H, Otto T, Cohen NJ (1994) Two functional components of the hippocampal memory system. *Behav Brain Sci* 88:181-193.
- Eichenbaum H, Yonelinas AP, Ranganath C (2007) The medial temporal lobe and recognition memory. *Annu Rev Neurosci* 30:123-152.
- Everitt BJ, Robbins TW (2005) Neural systems of reinforcement for drug addiction: from actions to habits to compulsion. *Nat Neurosci* 8:1481-1489.
- Ewing AG, Wightman RM (1984) Monitoring the stimulated release of dopamine with in vivo voltammetry. II: Clearance of released dopamine from extracellular fluid. *Journal of neurochemistry* 43:570-577.
- Fallon JH, Moore RY (1978) Catecholamine innervation of the basal forebrain. IV. Topography of the dopamine projection to the basal forebrain and neostriatum. *J Comp Neurol* 180:545-580.
- Faure A, Haberland U, Conde F, El Massioui N (2005) Lesion to the nigrostriatal dopamine system disrupts stimulus-response habit formation. *J Neurosci* 25:2771-2780.
- Fiorino DF, Coury A, Phillips AG (1997) Dynamic changes in nucleus accumbens dopamine efflux during the Coolidge effect in male rats. *J Neurosci* 17:4849-4855.

-
- Floresco SB, Phillips AG (2001) Delay-dependent modulation of memory retrieval by infusion of a dopamine D1 agonist into the rat medial prefrontal cortex. *Behavioral neuroscience* 115:934-939.
- 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.
- Freund TF, Powell JF, Smith AD (1984) Tyrosine hydroxylase-immunoreactive boutons in synaptic contact with identified striatonigral neurons, with particular reference to dendritic spines. *Neuroscience* 13:1189-1215.
- Fuster JM (1980) *The Prefrontal Cortex: Anatomy, Physiology and Neuropsychology of the Frontal Lobe*: Raven Press.
- Fuster JM (2000) The prefrontal cortex of the primate: a synopsis. *Psychobiology* 28:125-131.
- Fyhn M, Molden S, Witter MP, Moser EI, Moser MB (2004) Spatial representation in the entorhinal cortex. *Science* 305:1258-1264.
- Gabriel M, Kubota Y, Sparenborg S, Straube K, Vogt BA (1991) Effects of cingulate cortical lesions on avoidance learning and training-induced unit activity in rabbits. *Exp Brain Res* 86:585-600.
- Gaffan EA, Healey AN, Eacott MJ (2004) Objects and positions in visual scenes: effects of perirhinal and postrhinal cortex lesions in the rat. *Behavioral neuroscience* 118:992-1010.
- Galani R, Jarrard LE, Will BE, Kelche C (1997) Effects of postoperative housing conditions on functional recovery in rats with lesions of the hippocampus, subiculum, or entorhinal cortex. *Neurobiol Learn Mem* 67:43-56.
- Gallagher M, McMahan RW, Schoenbaum G (1999) Orbitofrontal cortex and representation of incentive value in associative learning. *J Neurosci* 19:6610-6614.
- Garris PA, Wightman RM (1994) Different kinetics govern dopaminergic transmission in the amygdala, prefrontal cortex, and striatum: an in vivo voltammetric study. *J Neurosci* 14:442-450.
- Gehring WJ, Knight RT (2000) Prefrontal-cingulate interactions in action monitoring. *Nat Neurosci* 3:516-520.
- 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.
- Goldman-Rakic PS (1987) Circuitry of primate prefrontal cortex and regulation of behaviour by representational memory. In: *Handbook of Physiology, The Nervous System*,
-

- Higher Functions of the Brain, I:V (Plum F, ed), pp 373-417: American Psychological Society.
- Goldman-Rakic PS, Leranth C, Williams SM, Mons N, Geffard M (1989) Dopamine synaptic complex with pyramidal neurons in primate cerebral cortex. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 86:9015-9019.
- Goto Y, Grace AA (2005) Dopaminergic modulation of limbic and cortical drive of nucleus accumbens in goal-directed behavior. *Nat Neurosci* 8:805-812.
- Goto Y, Grace AA (2008) Limbic and cortical information processing in the nucleus accumbens. *Trends in neurosciences* 31:552-558.
- Grace AA (1991) Phasic versus tonic dopamine release and the modulation of dopamine system responsivity: a hypothesis for the etiology of schizophrenia. *Neuroscience* 41:1-24.
- Grace AA (2000) The tonic/phasic model of dopamine system regulation and its implications for understanding alcohol and psychostimulant craving. *Addiction (Abingdon, England)* 95 Suppl 2:S119-128.
- Grace AA, Floresco SB, Goto Y, Lodge DJ (2007) Regulation of firing of dopaminergic neurons and control of goal-directed behaviors. *Trends in neurosciences* 30:220-227.
- Grill HJ, Norgren R (1978) The taste reactivity test. I. Mimetic responses to gustatory stimuli in neurologically normal rats. *Brain research* 143:263-279.
- Groenewegen HJ, Uylings HB (2000) The prefrontal cortex and the integration of sensory, limbic and autonomic information. *Progress in brain research* 126:3-28.
- Groenewegen HJ, Trimble M (2007) The ventral striatum as an interface between the limbic and motor systems. *CNS Spectr* 12:887-892.
- Groenewegen HJ, Wright CI, Uylings HB (1997) The anatomical relationships of the prefrontal cortex with limbic structures and the basal ganglia. *J Psychopharmacol* 11:99-106.
- Haber SN (2003) The primate basal ganglia: parallel and integrative networks. *J Chem Neuroanat* 26:317-330.
- Haber SN, Knutson B (2009) The Reward Circuit: Linking Primate Anatomy and Human Imaging. *Neuropsychopharmacology*.
- Haber SN, Fudge JL, McFarland NR (2000) Striatonigrostriatal pathways in primates form an ascending spiral from the shell to the dorsolateral striatum. *J Neurosci* 20:2369-2382.
- 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.

-
- Hargreaves EL, Rao G, Lee I, Knierim JJ (2005) Major dissociation between medial and lateral entorhinal input to dorsal hippocampus. *Science* 308:1792-1794.
- Hauber W, Sommer S (2009) Prefrontostriatal Circuitry Regulates Effort-Related Decision Making. *Cereb Cortex*.
- Hauber W, Bubser M, Schmidt WJ (1994) 6-Hydroxydopamine lesion of the rat prefrontal cortex impairs motor initiation but not motor execution. *Exp Brain Res* 99:524-528.
- Heimer L, Zahm DS, Alheid G (1995) Basal Ganglia. In: *The Rat Nervous System* (Paxinos G, ed), pp 579-628. San Diego: Academic Press.
- Hikosaka O, Wurtz RH (1983) Visual and oculomotor functions of monkey substantia nigra pars reticulata. II. Visual responses related to fixation of gaze. *Journal of neurophysiology* 49:1254-1267.
- Hikosaka O, Sakamoto M, Miyashita N (1993) Effects of caudate nucleus stimulation on substantia nigra cell activity in monkey. *Exp Brain Res* 95:457-472.
- Hitchcott PK, Quinn JJ, Taylor JR (2007) Bidirectional Modulation of Goal-Directed Actions by Prefrontal Cortical Dopamine. *Cereb Cortex*.
- Hnasko TS, Sotak BN, Palmiter RD (2005) Morphine reward in dopamine-deficient mice. *Nature* 438:854-857.
- Holscher C, Schmidt WJ (1994) Quinolinic acid lesion of the rat entorhinal cortex pars medialis produces selective amnesia in allocentric working memory (WM), but not in egocentric WM. *Behav Brain Res* 63:187-194.
- Hull C (1930) Knowledge and purpose as habit mechanisms. *Psychological Review* 30:15.
- Hull C (1931) Goal attraction and directing ideas conceived as habit phenomena. *Journal of experimental psychology* 38:20.
- Iversen SD, Iversen LL (2007) Dopamine: 50 years in perspective. *Trends in neurosciences* 30:188-193.
- Jarrard LE, Okaichi H, Steward O, Goldschmidt RB (1984) On the role of hippocampal connections in the performance of place and cue tasks: comparisons with damage to hippocampus. *Behavioral neuroscience* 98:946-954.
- Joel D, Weiner I (1994) The organization of the basal ganglia-thalamocortical circuits: open interconnected rather than closed segregated. *Neuroscience* 63:363-379.
- Johnson DL, Kesner RP (1994) The effects of lesions of the entorhinal cortex and the horizontal nucleus of the diagonal band of Broca upon performance of a spatial location recognition task. *Behav Brain Res* 61:1-8.
- Jonas K, Stroebe W, Hewstone M, Reiss M (2007) *Sozialpsychologie: Eine Einführung*, 5 Edition. Berlin: Springer.
-

- Kandel E, Schwartz J, Jessell T (2000) Principles of Neural Science, 4 Edition: McGraw-Hill.
- Kawagoe KT, Garris PA, Wiedemann DJ, Wightman RM (1992) Regulation of transient dopamine concentration gradients in the microenvironment surrounding nerve terminals in the rat striatum. *Neuroscience* 51:55-64.
- Kelley AE (1999) Functional specificity of ventral striatal compartments in appetitive behaviors. *Ann N Y Acad Sci* 877:71-90.
- Kelley AE, Domesick VB, Nauta WJ (1982) The amygdalostriatal projection in the rat--an anatomical study by anterograde and retrograde tracing methods. *Neuroscience* 7:615-630.
- Kerr KM, Agster KL, Furtak SC, Burwell RD (2007) Functional neuroanatomy of the parahippocampal region: the lateral and medial entorhinal areas. *Hippocampus* 17:697-708.
- Kesner RP (2000) Subregional analysis of mnemonic function of the prefrontal cortex in the rat. *Psychobiology* 28:219-228.
- Killcross S, Coutureau E (2003) Coordination of actions and habits in the medial prefrontal cortex of rats. *Cereb Cortex* 13:400-408.
- Kim J, Ragozzino ME (2005) The involvement of the orbitofrontal cortex in learning under changing task contingencies. *Neurobiol Learn Mem* 83:125-133.
- Kinberg DY, Farrah MJ (1993) A unified account of cognitive impairments following frontal lobe damage. *J Exp Psychol* 122:411-428.
- Laplane D, Levasseur M, Pillon B, Dubois B, Baulac M, Mazoyer B, Tran Dinh S, Sette G, Danze F, Baron JC (1989) Obsessive-compulsive and other behavioural changes with bilateral basal ganglia lesions. A neuropsychological, magnetic resonance imaging and positron tomography study. *Brain* 112 (Pt 3):699-725.
- Lex A, Hauber W (2008) Dopamine D1 and D2 receptors in the nucleus accumbens core and shell mediate Pavlovian-instrumental transfer. *Learn Mem* 15:483-491.
- Lex B, Hauber W (2010) The role of dopamine in the prelimbic cortex and the dorsomedial striatum in instrumental conditioning. *Cereb Cortex* 20:873-883.
- Lexikon der Neurowissenschaften (2001) In: (Hanser H, ed): Spektrum Akademischer Verlag GmbH, Heidelberg
- Lindvall O, Bjorklund A (1974) The organization of the ascending catecholamine neuron systems in the rat brain as revealed by the glyoxylic acid fluorescence method. *Acta Physiol Scand Suppl* 412:1-48.

-
- Loesche J, Steward O (1977) Behavioral correlates of denervation and reinnervation of the hippocampal formation of the rat: recovery of alternation performance following unilateral entorhinal cortex lesions. *Brain Res Bull* 2:31-39.
- Lorente de N6 R (1934) Studies on the structure of the cerebral cortex. II. Continuation of the study of the Ammonic system. *J Psychol Neurol* 46:113-177.
- Majchrzak M, Ferry B, Marchand AR, Herbeaux K, Seillier A, Barbelivien A (2006) Entorhinal cortex lesions disrupt fear conditioning to background context but spare fear conditioning to a tone in the rat. *Hippocampus* 16:114-124.
- Malkova L, Mishkin M (2003) One-trial memory for object-place associations after separate lesions of hippocampus and posterior parahippocampal region in the monkey. *J Neurosci* 23:1956-1965.
- Manns JR, Eichenbaum H (2006) Evolution of declarative memory. *Hippocampus* 16:795-808.
- Maren S, Fanselow MS (1997) Electrolytic lesions of the fimbria/fornix, dorsal hippocampus, or entorhinal cortex produce anterograde deficits in contextual fear conditioning in rats. *Neurobiol Learn Mem* 67:142-149.
- May LJ, Kuhr WG, Wightman RM (1988) Differentiation of dopamine overflow and uptake processes in the extracellular fluid of the rat caudate nucleus with fast-scan in vivo voltammetry. *Journal of neurochemistry* 51:1060-1069.
- McDonald RJ, White NM (1993) A triple dissociation of memory systems: hippocampus, amygdala, and dorsal striatum. *Behavioral neuroscience* 107:3-22.
- McDonald RJ, White NM (1994) Parallel information processing in the water maze: evidence for independent memory systems involving dorsal striatum and hippocampus. *Behav Neural Biol* 61:260-270.
- McGeorge AJ, Faull RL (1987) The organization and collateralization of corticostriate neurones in the motor and sensory cortex of the rat brain. *Brain research* 423:318-324.
- McGeorge AJ, Faull RL (1989) The organization of the projection from the cerebral cortex to the striatum in the rat. *Neuroscience* 29:503-537.
- Mengual E, de las Heras S, Erro E, Lanciego JL, Gimenez-Amaya JM (1999) Thalamic interaction between the input and the output systems of the basal ganglia. *J Chem Neuroanat* 16:187-200.
- Meredith GE, Ypma P, Zahm DS (1995) Effects of dopamine depletion on the morphology of medium spiny neurons in the shell and core of the rat nucleus accumbens. *J Neurosci* 15:3808-3820.

- Middleton FA, Strick PL (2000) Basal ganglia output and cognition: evidence from anatomical, behavioral, and clinical studies. *Brain Cogn* 42:183-200.
- Miller EK (1999) The prefrontal cortex: complex neural properties for complex behavior. *Neuron* 22:15-17.
- Miller EK (2000) The prefrontal cortex and cognitive control. *Nat Rev Neurosci* 1:59-65.
- Mingote S, Weber SM, Ishiwari K, Correa M, Salamone JD (2005) Ratio and time requirements on operant schedules: effort-related effects of nucleus accumbens dopamine depletions. *Eur J Neurosci* 21:1749-1757.
- Mogenson GJ, Jones DL, Yim CY (1980) From motivation to action: functional interface between the limbic system and the motor system. *Progress in neurobiology* 14:69-97.
- Montagu KA (1957) Catechol compounds in rat tissues and in brains of different animals. *Nature* 180:244-245.
- Morris G, Nevet A, Arkadir D, Vaadia E, Bergman H (2006) Midbrain dopamine neurons encode decisions for future action. *Nat Neurosci* 9:1057-1063.
- Murschall A, Hauber W (2005) Effects of a systemic AMPA/KA and NMDA receptor blockade on pavlovian-instrumental transfer. *Psychopharmacology (Berl)* 182:290-296.
- Murschall A, Hauber W (2006) Inactivation of the ventral tegmental area abolished the general excitatory influence of Pavlovian cues on instrumental performance. *Learn Mem* 13:123-126.
- Mushiake H, Strick PL (1993) Preferential activity of dentate neurons during limb movements guided by vision. *Journal of neurophysiology* 70:2660-2664.
- Myers CE, Gluck MA, Granger R (1995) Dissociation of hippocampal and entorhinal function in associative learning: A computational approach. *Psychobiology* 23:116-138.
- Nagahara AH, Otto T, Gallagher M (1995) Entorhinal-perirhinal lesions impair performance of rats on two versions of place learning in the Morris water maze. *Behavioral neuroscience* 109:3-9.
- Nagatsu T, Levitt M, Udenfriend S (1964) Tyrosine Hydroxylase. The Initial Step in Norepinephrine Biosynthesis. *The Journal of biological chemistry* 239:2910-2917.
- Naneix F, Marchand AR, Di Scala G, Pape JR, Coutureau E (2009) A role for medial prefrontal dopaminergic innervation in instrumental conditioning. *J Neurosci* 29:6599-6606.
- Nelson A, Killcross S (2006) Amphetamine exposure enhances habit formation. *J Neurosci* 26:3805-3812.

-
- Nicola SM, Surmeier J, Malenka RC (2000) Dopaminergic modulation of neuronal excitability in the striatum and nucleus accumbens. *Annu Rev Neurosci* 23:185-215.
- Niv Y (2007) Cost, benefit, tonic, phasic: what do response rates tell us about dopamine and motivation? *Ann N Y Acad Sci* 1104:357-376.
- Niv Y (2009) Reinforcement learning in the brain. *The Journal of Mathematical Psychology* 53:139-154.
- Niv Y, Schoenbaum G (2008) Dialogues on prediction errors. *Trends in cognitive sciences* 12:265-272.
- Niv Y, Daw ND, Joel D, Dayan P (2007) Tonic dopamine: opportunity costs and the control of response vigor. *Psychopharmacology (Berl)* 191:507-520.
- Nordquist RE, Voorn P, de Mooij-van Malsen JG, Joosten RN, Pennartz CM, Vanderschuren LJ (2007) Augmented reinforcer value and accelerated habit formation after repeated amphetamine treatment. *Eur Neuropsychopharmacol*.
- Norman G, Eacott MJ (2005) Dissociable effects of lesions to the perirhinal cortex and the postrhinal cortex on memory for context and objects in rats. *Behavioral neuroscience* 119:557-566.
- 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. *Pharmacology, biochemistry, and behavior* 69:373-382.
- O'Keefe J, Nadel L (1978) *The hippocampus as a cognitive map*. Oxford: Oxford University Press.
- Olton DS, Walker JA, Gage FH (1978) Hippocampal connections and spatial discrimination. *Brain research* 139:295-308.
- Ongur D, Price JL (2000) The organization of networks within the orbital and medial prefrontal cortex of rats, monkeys and humans. *Cereb Cortex* 10:206-219.
- Ostlund SB, Balleine BW (2005) Lesions of medial prefrontal cortex disrupt the acquisition but not the expression of goal-directed learning. *J Neurosci* 25:7763-7770.
- Ostlund SB, Balleine BW (2007) Orbitofrontal cortex mediates outcome encoding in Pavlovian but not instrumental conditioning. *J Neurosci* 27:4819-4825.
- Packard MG (1999) Glutamate infused posttraining into the hippocampus or caudate-putamen differentially strengthens place and response learning. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 96:12881-12886.

-
- Packard MG, McGaugh JL (1992) Double dissociation of fornix and caudate nucleus lesions on acquisition of two water maze tasks: further evidence for multiple memory systems. *Behavioral neuroscience* 106:439-446.
- Packard MG, McGaugh JL (1996) Inactivation of hippocampus or caudate nucleus with lidocaine differentially affects expression of place and response learning. *Neurobiol Learn Mem* 65:65-72.
- Packard MG, Knowlton BJ (2002) Learning and memory functions of the Basal Ganglia. *Annu Rev Neurosci* 25:563-593.
- Packard MG, Hirsh R, White NM (1989) Differential effects of fornix and caudate nucleus lesions on two radial maze tasks: evidence for multiple memory systems. *J Neurosci* 9:1465-1472.
- Palfi S, Ferrante RJ, Brouillet E, Beal MF, Dolan R, Guyot MC, Peschanski M, Hantraye P (1996) Chronic 3-nitropropionic acid treatment in baboons replicates the cognitive and motor deficits of Huntington's disease. *J Neurosci* 16:3019-3025.
- Parker L, Leeb K (1994) Amphetamine-induced modification of quinine palatability: analysis by the taste reactivity test. *Pharmacology, biochemistry, and behavior* 47:413-420.
- Parkinson JA, Cardinal RN, Everitt BJ (2000a) Limbic cortical-ventral striatal systems underlying appetitive conditioning. *Progress in brain research* 126:263-285.
- Parkinson JA, Willoughby PJ, Robbins TW, Everitt BJ (2000b) Disconnection of the anterior cingulate cortex and nucleus accumbens core impairs Pavlovian approach behavior: further evidence for limbic cortical-ventral striatopallidal systems. *Behavioral neuroscience* 114:42-63.
- Parkinson JA, Dalley JW, Cardinal RN, Bamford A, Fehnert B, Lachenal G, Rudarakanchana N, Halkerston KM, Robbins TW, Everitt BJ (2002) Nucleus accumbens dopamine depletion impairs both acquisition and performance of appetitive Pavlovian approach behaviour: implications for mesoaccumbens dopamine function. *Behav Brain Res* 137:149-163.
- Passetti F, Chudasama Y, Robbins TW (2002) The frontal cortex of the rat and visual attentional performance: dissociable functions of distinct medial prefrontal subregions. *Cereb Cortex* 12:1254-1268.
- Pecina S, Berridge KC, Parker LA (1997) Pimozide does not shift palatability: separation of anhedonia from sensorimotor suppression by taste reactivity. *Pharmacology, biochemistry, and behavior* 58:801-811.

-
- Pecina S, Cagniard B, Berridge KC, Aldridge JW, Zhuang X (2003) Hyperdopaminergic mutant mice have higher "wanting" but not "liking" for sweet rewards. *J Neurosci* 23:9395-9402.
- Penney JB, Jr., Young AB (1983) Speculations on the functional anatomy of basal ganglia disorders. *Annu Rev Neurosci* 6:73-94.
- Phillips AG, Vacca G, Ahn S (2007) A top-down perspective on dopamine, motivation and memory. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*.
- Pickens CL, Saddoris MP, Setlow B, Gallagher M, Holland PC, Schoenbaum G (2003) Different roles for orbitofrontal cortex and basolateral amygdala in a reinforcer devaluation task. *J Neurosci* 23:11078-11084.
- Pihlajamaki M, Tanila H, Kononen M, Hanninen T, Hamalainen A, Soininen H, Aronen HJ (2004) Visual presentation of novel objects and new spatial arrangements of objects differentially activates the medial temporal lobe subareas in humans. *Eur J Neurosci* 19:1939-1949.
- Prensa L, Richard S, Parent A (2003) Chemical anatomy of the human ventral striatum and adjacent basal forebrain structures. *J Comp Neurol* 460:345-367.
- Preuss TM (1995) Do rats have a prefrontal cortex? The Rose-Woolsey-Akert Program reconsidered *J Cogn Neurosci* 7:1-24.
- Pycock CJ, Carter CJ, Kerwin RW (1980) Effect of 6-hydroxydopamine lesions of the medial prefrontal cortex on neurotransmitter systems in subcortical sites in the rat. *Journal of neurochemistry* 34:91-99.
- Ragozzino ME (2002) The effects of dopamine D(1) receptor blockade in the prelimbic-infralimbic areas on behavioral flexibility. *Learn Mem* 9:18-28.
- 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, Kesner RP (1998) The effects of muscarinic cholinergic receptor blockade in the rat anterior cingulate and Prelimbic/Infralimbic cortices on spatial working memory. *Neurobiol Learn Mem* 69:241-257.
- Ragozzino ME, Detrick S, Kesner RP (1999a) Involvement of the prelimbic-infralimbic areas of the rodent prefrontal cortex in behavioral flexibility for place and response learning. *J Neurosci* 19:4585-4594.
- Ragozzino ME, Wilcox C, Raso M, Kesner RP (1999b) Involvement of rodent prefrontal cortex subregions in strategy switching. *Behavioral neuroscience* 113:32-41.

- Ragozzino ME, Kim J, Hassert D, Minniti N, Kiang C (2003) The contribution of the rat prelimbic-infralimbic areas to different forms of task switching. *Behavioral neuroscience* 117:1054-1065.
- Ramirez JJ, Stein DG (1984) Sparing and recovery of spatial alternation performance after entorhinal cortex lesions in rats. *Behav Brain Res* 13:53-61.
- Ramirez JJ, Labbe R, Stein DG (1988) Recovery from perseverative behavior after entorhinal cortex lesions in rats. *Brain research* 459:153-156.
- Ramón y Cajal S (1901) Estudios sobre la corteza cerebral humana. IV. Estructura de la corteza cerebral olfativa del hombre y mamíferos. *Trab Lab Invest Biol* 1:1-140.
- Redgrave P, Gurney K (2006) The short-latency dopamine signal: a role in discovering novel actions? *Nat Rev Neurosci* 7:967-975.
- Rescorla RA (1988) Pavlovian conditioning. It's not what you think it is. *The American psychologist* 43:151-160.
- Rescorla RA, Solomon RL (1967) Two-process learning theory: Relationships between Pavlovian conditioning and instrumental learning. *Psychological Review* 74:32.
- Reynolds JN, Wickens JR (2002) Dopamine-dependent plasticity of corticostriatal synapses. *Neural Netw* 15:507-521.
- Rich EL, Shapiro ML (2007) Prelimbic/infralimbic inactivation impairs memory for multiple task switches, but not flexible selection of familiar tasks. *J Neurosci* 27:4747-4755.
- Robbins TW (2000) Chemical neuromodulation of frontal-executive functions in humans and other animals. *Exp Brain Res* 133:130-138.
- Robbins TW (2005) Chemistry of the mind: neurochemical modulation of prefrontal cortical function. *J Comp Neurol* 493:140-146.
- Robbins TW, Everitt BJ (1996) Neurobehavioural mechanisms of reward and motivation. *Current opinion in neurobiology* 6:228-236.
- Roberts PJ, Sharif NA (1978) Effects of l-glutamate and related amino acids upon the release of [3H]dopamine from rat striatal slices. *Brain research* 157:391-395.
- Roberts PJ, Anderson SD (1979) Stimulatory effect of L-glutamate and related amino acids on [3H]dopamine release from rat striatum: an in vitro model for glutamate actions. *Journal of neurochemistry* 32:1539-1545.
- Robinson S, Sandstrom SM, Denenberg VH, Palmiter RD (2005) Distinguishing whether dopamine regulates liking, wanting, and/or learning about rewards. *Behavioral neuroscience* 119:5-15.

- Robinson S, Rainwater AJ, Hnasko TS, Palmiter RD (2007) Viral restoration of dopamine signaling to the dorsal striatum restores instrumental conditioning to dopamine-deficient mice. *Psychopharmacology (Berl)* 191:567-578.
- Roeltgen DP, Schneider JS (1994) Task persistence and learning ability in normal and chronic low dose MPTP-treated monkeys. *Behav Brain Res* 60:115-124.
- 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.
- Rose JE, Woolsey CN (1948) The orbitofrontal cortex and its connections with the mediodorsal nucleus in rabbit, sheep and cat. *Res Publ Assn Nerv Dis* 27:210-232.
- Rudebeck PH, Walton ME, Smyth AN, Bannerman DM, Rushworth MF (2006) Separate neural pathways process different decision costs. *Nat Neurosci* 9:1161-1168.
- Rushworth MF, Walton ME, Kennerley SW, Bannerman DM (2004) Action sets and decisions in the medial frontal cortex. *Trends in cognitive sciences* 8:410-417.
- Sage JR, Knowlton BJ (2000) Effects of US devaluation on win-stay and win-shift radial maze performance in rats. *Behavioral neuroscience* 114:295-306.
- Salamone JD (2009) Dopamine, effort, and decision making: theoretical comment on Bardgett et al. (2009). *Behavioral neuroscience* 123:463-467.
- Salamone JD, Correa M (2002) Motivational views of reinforcement: implications for understanding the behavioral functions of nucleus accumbens dopamine. *Behav Brain Res* 137:3-25.
- 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* 65:221-229.
- Salamone JD, Correa M, Mingote SM, Weber SM (2005) Beyond the reward hypothesis: alternative functions of nucleus accumbens dopamine. *Current opinion in pharmacology* 5:34-41.
- Salamone JD, Correa M, Farrar A, Mingote SM (2007) Effort-related functions of nucleus accumbens dopamine and associated forebrain circuits. *Psychopharmacology (Berl)* 191:461-482.
- Sano I, Gamo T, Kakimoto Y, Taniguchi K, Takesada M, Nishinuma K (1959) Distribution of catechol compounds in human brain. *Biochim Biophys Acta* 32:586-587.
- Schenk F, Morris RG (1985) Dissociation between components of spatial memory in rats after recovery from the effects of retrohippocampal lesions. *Exp Brain Res* 58:11-28.

- Schneider JS, Roeltgen DP (1993) Delayed matching-to-sample, object retrieval, and discrimination reversal deficits in chronic low dose MPTP-treated monkeys. *Brain research* 615:351-354.
- Schneider JS, Pope-Coleman A (1995) Cognitive deficits precede motor deficits in a slowly progressing model of parkinsonism in the monkey. *Neurodegeneration* 4:245-255.
- Schoenbaum G, Setlow B (2001) Integrating orbitofrontal cortex into prefrontal theory: common processing themes across species and subdivisions. *Learn Mem* 8:134-147.
- Schoenbaum G, Roesch M (2005) Orbitofrontal cortex, associative learning, and expectancies. *Neuron* 47:633-636.
- Schoenbaum G, Chiba AA, Gallagher M (1998) Orbitofrontal cortex and basolateral amygdala encode expected outcomes during learning. *Nat Neurosci* 1:155-159.
- Schoenbaum G, Chiba AA, Gallagher M (1999) Neural encoding in orbitofrontal cortex and basolateral amygdala during olfactory discrimination learning. *J Neurosci* 19:1876-1884.
- Schoenbaum G, Chiba AA, Gallagher M (2000) Changes in functional connectivity in orbitofrontal cortex and basolateral amygdala during learning and reversal training. *J Neurosci* 20:5179-5189.
- Schultz W (1997) Dopamine neurons and their role in reward mechanisms. *Current opinion in neurobiology* 7:191-197.
- Schultz W (1998) Predictive reward signal of dopamine neurons. *Journal of neurophysiology* 80:1-27.
- Schultz W (2000) Multiple reward signals in the brain. *Nat Rev Neurosci* 1:199-207.
- Schultz W (2002) Getting formal with dopamine and reward. *Neuron* 36:241-263.
- Schultz W (2006) Behavioral theories and the neurophysiology of reward. *Annual review of psychology* 57:87-115.
- Schultz W (2007) Multiple dopamine functions at different time courses. *Annu Rev Neurosci* 30:259-288.
- Schultz W, Dayan P, Montague PR (1997) A neural substrate of prediction and reward. *Science* 275:1593-1599.
- Schweimer J, Hauber W (2006) Dopamine D1 receptors in the anterior cingulate cortex regulate effort-based decision making. *Learn Mem* 13:777-782.
- Schweimer J, Saft S, Hauber W (2005) Involvement of catecholamine neurotransmission in the rat anterior cingulate in effort-related decision making. *Behavioral neuroscience* 119:1687-1692.

- Seamans JK, Yang CR (2004) The principal features and mechanisms of dopamine modulation in the prefrontal cortex. *Progress in neurobiology* 74:1-58.
- Seamans JK, Floresco SB, Phillips AG (1995) Functional differences between the prelimbic and anterior cingulate regions of the rat prefrontal cortex. *Behavioral neuroscience* 109:1063-1073.
- 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.
- Seeman P, Grigoriadis D (1985) Dopamine D2 receptor dissociation constant for spiperone: identical values using 3H-labeled agonist or 3H-labeled antagonist. *Biochemical pharmacology* 34:4065-4066.
- Setlow B (1997) The nucleus accumbens and learning and memory. *J Neurosci Res* 49:515-521.
- Shallice T, Burgess P (1998) The domain of the supervisory processes and the temporal organisation of behaviour. In: *The Prefrontal Cortex: Executive and Cognitive Functions* (Roberts AC, ed), pp 22-35. Oxford: Oxford University Press.
- Sharp T, Zetterstrom T, Ungerstedt U (1986) An in vivo study of dopamine release and metabolism in rat brain regions using intracerebral dialysis. *Journal of neurochemistry* 47:113-122.
- Skinner B (1938) *The Behavior of Organisms: An Experimental Analysis*. New York: Appleton-Century-Crofts.
- Small DM, Jones-Gotman M, Dagher A (2003) Feeding-induced dopamine release in dorsal striatum correlates with meal pleasantness ratings in healthy human volunteers. *NeuroImage* 19:1709-1715.
- Smith Y, Bennett BD, Bolam JP, Parent A, Sadikot AF (1994) Synaptic relationships between dopaminergic afferents and cortical or thalamic input in the sensorimotor territory of the striatum in monkey. *J Comp Neurol* 344:1-19.
- Spence K (1956) *Behavior theory and conditioning*. New Haven: CT: Yale University Press.
- Stangl W (2009) Werner Stangls Arbeitsblätter; <http://arbeitsblaetter.stangl-taller.at/Lernen/Lerndefinitionen.shtml>. In. Linz.
- Steiner JE (1973) The gustofacial response: observation on normal and anencephalic newborn infants. *Symp Oral Sens Percept*:254-278.
- Steiner JE, Glaser D, Hawilo ME, Berridge KC (2001) Comparative expression of hedonic impact: affective reactions to taste by human infants and other primates. *Neuroscience and biobehavioral reviews* 25:53-74.

- Stern CE, Corkin S, Gonzalez RG, Guimaraes AR, Baker JR, Jennings PJ, Carr CA, Sugiura RM, Vedantham V, Rosen BR (1996) The hippocampal formation participates in novel picture encoding: evidence from functional magnetic resonance imaging. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 93:8660-8665.
- Steward O (1976) Topographic organization of the projections from the entorhinal area to the hippocampal formation of the rat. *J Comp Neurol* 167:285-314.
- Steward O, Scoville SA (1976) Retrograde labeling of central nervous pathways with tritiated or Evans blue-labeled bovine serum albumin. *Neurosci Lett* 3:191-196.
- Strub RL (1989) Frontal lobe syndrome in a patient with bilateral globus pallidus lesions. *Arch Neurol* 46:1024-1027.
- Surmeier DJ, Ding J, Day M, Wang Z, Shen W (2007) D1 and D2 dopamine-receptor modulation of striatal glutamatergic signaling in striatal medium spiny neurons. *Trends in neurosciences* 30:228-235.
- Suzuki WA, Eichenbaum H (2000) The neurophysiology of memory. *Ann N Y Acad Sci* 911:175-191.
- Suzuki WA, Miller EK, Desimone R (1997) Object and place memory in the macaque entorhinal cortex. *Journal of neurophysiology* 78:1062-1081.
- Tanaka SC, Balleine BW, O'Doherty JP (2008) Calculating consequences: brain systems that encode the causal effects of actions. *J Neurosci* 28:6750-6755.
- Thompson R (2001) *Das Gehirn*. Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag GmbH.
- Thorndike E (1911) *Animal intelligence: experimental studies*. Macmillan, New York.
- Tobler PN, Fiorillo CD, Schultz W (2005) Adaptive coding of reward value by dopamine neurons. *Science* 307:1642-1645.
- Tomie A (1996) Locating reward cue at response manipulandum (CAM) induces symptoms of drug abuse. *Neuroscience and biobehavioral reviews* 20:505-535.
- Tomita H, Ohbayashi M, Nakahara K, Hasegawa I, Miyashita Y (1999) Top-down signal from prefrontal cortex in executive control of memory retrieval. *Nature* 401:699-703.
- Totterdell S, Meredith GE (1997) Topographical organization of projections from the entorhinal cortex to the striatum of the rat. *Neuroscience* 78:715-729.
- Tricomi EM, Delgado MR, Fiez JA (2004) Modulation of caudate activity by action contingency. *Neuron* 41:281-292.
- Tsuchiya H, Yamaguchi S, Kobayashi S (2000) Impaired novelty detection and frontal lobe dysfunction in Parkinson's disease. *Neuropsychologia* 38:645-654.

- Tulving E (2002) Episodic memory: from mind to brain. *Annual review of psychology* 53:1-25.
- Uslaner JM, Acerbo MJ, Jones SA, Robinson TE (2006) The attribution of incentive salience to a stimulus that signals an intravenous injection of cocaine. *Behav Brain Res* 169:320-324.
- Uylings HB, van Eden CG (1990) Qualitative and quantitative comparison of the prefrontal cortex in rat and in primates, including humans. *Progress in brain research* 85:31-62.
- Uylings HB, Groenewegen HJ, Kolb B (2003) Do rats have a prefrontal cortex? *Behav Brain Res* 146:3-17.
- Valentin VV, Dickinson A, O'Doherty JP (2007) Determining the neural substrates of goal-directed learning in the human brain. *J Neurosci* 27:4019-4026.
- Van Eden CG, Lamme VA, Uylings HB (1992) Heterotopic Cortical Afferents to the Medial Prefrontal Cortex in the Rat. A Combined Retrograde and Anterograde Tracer Study. *Eur J Neurosci* 4:77-97.
- Van Eden CG, Hoorneman EM, Buijs RM, Matthijssen MA, Geffard M, Uylings HB (1987) Immunocytochemical localization of dopamine in the prefrontal cortex of the rat at the light and electron microscopical level. *Neuroscience* 22:849-862.
- Volkow ND, Wang GJ, Fowler JS, Logan J, Gatley SJ, Wong C, Hitzemann R, Pappas NR (1999) Reinforcing effects of psychostimulants in humans are associated with increases in brain dopamine and occupancy of D(2) receptors. *J Pharmacol Exp Ther* 291:409-415.
- Voorn P, Vanderschuren LJ, Groenewegen HJ, Robbins TW, Pennartz CM (2004) Putting a spin on the dorsal-ventral divide of the striatum. *Trends in neurosciences* 27:468-474.
- Walton ME, Bannerman DM, Alterescu K, Rushworth MF (2003) Functional specialization within medial frontal cortex of the anterior cingulate for evaluating effort-related decisions. *J Neurosci* 23:6475-6479.
- Wan H, Aggleton JP, Brown MW (1999) Different contributions of the hippocampus and perirhinal cortex to recognition memory. *J Neurosci* 19:1142-1148.
- Weinberger DR, Berman KF (1998) Prefrontal function in schizophrenia: confounds and controversies. In: *The Prefrontal Cortex: Executive and Cognitive Functions* (Roberts AC, ed), pp 165-180. Oxford: Oxford University Press.
- Wickelgren I (1997) Getting the brain's attention. *Science* 278:35-37.
- Wise RA (1980) The dopamine synapse and the notion of pleasure centers in the brain. *Trends in neurosciences* 3:91-95.

- Wise RA (1982) Neuroleptics and operant behavior: the anhedonia hypothesis. *Behav Brain Sci* 5:39-87.
- Wise RA (1985) The anhedonia hypothesis: Mark III. *Behav Brain Sci* 8:178-186.
- Wise RA, Spindler J, de Wit H, Gerber GJ (1978) Neuroleptic-induced anhedonia in rats: pimozide blocks reward quality of food. *Science* 201:262-264.
- Witter MP, Naber PA, van Haeften T, Machielsen WC, Rombouts SA, Barkhof F, Scheltens P, Lopes da Silva FH (2000) Cortico-hippocampal communication by way of parallel parahippocampal-subicular pathways. *Hippocampus* 10:398-410.
- 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.
- Wyvell CL, Berridge KC (2001) Incentive sensitization by previous amphetamine exposure: increased cue-triggered "wanting" for sucrose reward. *J Neurosci* 21:7831-7840.
- Yao WD, Spealman RD, Zhang J (2008) Dopaminergic signaling in dendritic spines. *Biochemical pharmacology* 75:2055-2069.
- Yin HH, Knowlton BJ (2004) Contributions of striatal subregions to place and response learning. *Learn Mem* 11:459-463.
- Yin HH, Knowlton BJ (2006) The role of the basal ganglia in habit formation. *Nat Rev Neurosci* 7:464-476.
- Yin HH, Knowlton BJ, Balleine BW (2004) Lesions of dorsolateral striatum preserve outcome expectancy but disrupt habit formation in instrumental learning. *Eur J Neurosci* 19:181-189.
- 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* 22:505-512.
- Yin HH, Knowlton BJ, Balleine BW (2006a) Inactivation of dorsolateral striatum enhances sensitivity to changes in the action-outcome contingency in instrumental conditioning. *Behav Brain Res* 166:189-196.
- Yin HH, Zhuang X, Balleine BW (2006b) Instrumental learning in hyperdopaminergic mice. *Neurobiol Learn Mem* 85:283-288.
- Yin HH, Ostlund SB, Balleine BW (2008) Reward-guided learning beyond dopamine in the nucleus accumbens: the integrative functions of cortico-basal ganglia networks. *Eur J Neurosci*.
- Yin HH, Ostlund SB, Knowlton BJ, Balleine BW (2005b) The role of the dorsomedial striatum in instrumental conditioning. *Eur J Neurosci* 22:513-523.

- Young BJ, Otto T, Fox GD, Eichenbaum H (1997) Memory representation within the parahippocampal region. *J Neurosci* 17:5183-5195.
- Zetterstrom T, Sharp T, Marsden CA, Ungerstedt U (1983) In vivo measurement of dopamine and its metabolites by intracerebral dialysis: changes after d-amphetamine. *Journal of neurochemistry* 41:1769-1773.
- Zhou QY, Palmiter RD (1995) Dopamine-deficient mice are severely hypoactive, adipsic, and aphagic. *Cell* 83:1197-1209.
- Zigmond MJ, Bloom F, Landis SC, Roberts JL, Squire LR (1999) *Fundamental Neuroscience*, 1st Edition. San Diego, California: Academic Press.

10. Danksagung

Abschließend möchte ich mich bei allen bedanken, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Mein allererster Dank gilt meinem Doktorvater Prof. Dr. Wolfgang Hauber, der es mir ermöglicht hat, in seiner Arbeitsgruppe zu promovieren. Besonders möchte ich mich dabei für die hervorragende und intensive Betreuung, für die freundliche Arbeitsatmosphäre, das stets offene Ohr und die vielen Diskussionen bedanken. Ebenso möchte ich mich für die große Mühe bedanken, die er in die Korrektur meiner Publikationen und meiner Dissertation investiert hat. Wenn es, so wie von ihm öfter formuliert, das Ziel war, seine Doktoranden zu „kompletten Neurobiologen“ zu formen, so glaube ich sagen zu können: Mission erfüllt!

Mein großer Dank gilt auch Prof. Dr. Franziska Wollnik, die es mir ermöglicht hat, in Ihrer Abteilung zu promovieren und immer ein offenes Ohr für alle Fragen und Bitten hatte. Ganz besonders möchte ich mich aber für zwei Dinge bedanken: Zum einen, dass sie es mir ermöglicht hat zusätzlich als Netzwerkadministrator der AG tätig zu sein; eine Aufgabe, die mir viel Spaß und Freude bereitet hat. Und zum anderen natürlich für die nie enden wollende Keksvorräte, die nicht nur mich über so manchen Hungerast gebracht und so manche Kaffeepause doch deutlich versüßt hat. P.S. Ich weiss, dass der Keksvorrat jetzt länger hält ☺

Mein ganz besonderer Dank gilt meinen Mitpromovenden Carsten Calaminus, Anja Lex und Steffi Pielock, für die vielen gemeinsam verbrachten Wochenenden, für die hervorragende freundschaftliche Zusammenarbeit; einfach für alles, was diese Zeit für mich unvergesslich werden lässt.

Ebenso möchte ich mich bei allen Mitarbeitern der AG Tierphysiologie für drei wundervolle Jahre der Zusammenarbeit bedanken. Mein Dank gilt besonders Susanne „Tippqueen“ Sommer und Angeline Votteler für die vielen Diskussionen rund um unsere Tiermodelle und Trainingsprozeduren, sowie für die Hilfe und Unterstützung bei allen Labortätigkeiten.

Für die finanzielle Unterstützung meines Projektes möchte ich mich zudem bei der Deutschen Forschungsgemeinschaft bedanken.

Nun möchte ich mich bei meiner Familie, insbesondere bei meinen Eltern und Großeltern bedanken. Danke, dass ihr das alles möglich gemacht habt, danke, dass es euch gibt, danke für alles. Nur euretwegen bin ich hier!

Ebenso möchte ich mich bei meiner Schwiegerfamilie für alles bedanken, was sie in den letzten 11 Jahren für mich getan hat. Angefangen von den vielen wunderschönen Wanderungen, den vielen gemeinsam verbrachten Wochenenden, den Spaß und natürlich für die Wärme und Liebe, mit der ich bei euch aufgenommen wurde. Nun habe ich zwei Familien. Danke!

Mein letzter und zugleich größter Dank gilt meiner eigenen Familie. Ohne Dich, Anja, wäre ich niemals in Tübingen gelandet und wäre niemals nach Stuttgart gekommen. Ich danke Dir für so vieles, hauptsächlich aber dafür, dass es Dich gibt. Und euch, Jonas & Marie, danke ich dafür, dass ihr mein Leben erfüllt. Ich könnte mir keines mehr ohne euch vorstellen.

11. Lebenslauf

Persönliche Daten:

Björn Lex

geboren am 03.01.1979 in Osnabrück

verheiratet, zwei Kinder

Staatsangehörigkeit: deutsch

Promotion:

04 / 2006 – 06 / 2009 Promotion an der Universität Stuttgart, Biologisches Institut, Abteilung Tierphysiologie; Betreuer: Prof. Dr. Wolfgang Hauber; Thema der Dissertation: „Die Rolle von Dopamin beim zielgerichteten Verhalten in cortico-striatalen Netzwerken „

Hochschulstudium:

04 / 2004 – 04 / 2005 Diplomarbeit in der Abteilung Tierphysiologie der Eberhard-Karls-Universität Tübingen; Betreuer: Prof. Dr. Markus Fendt; Thema: „Die Rolle des medialen präfrontalen Kortex bei der Diskrimination von Futtermengen bei der Ratte“ (Note 1,0)
Gesamtnote des Diplomzeugnisses: „sehr gut“
Abschluss: Diplom Biologe

10 / 1999 – 03 / 2004 Studium der Biologie an der Eberhard-Karls-Universität Tübingen;
Hauptfach: Tierphysiologie (Note 1,7)
1. Nebenfach: Zellbiologie (Note 1,3)
2. Nebenfach: Pharmakologie (Note 1,7)

Grundwehrdienst:

07 / 1998 – 04 / 1999 Westfalenkaserne Ahlen; 3./Panzergrenadierbataillon 192

Schulbildung:

1989 – 1998 Kardinal-von-Galen Gymnasium Mettingen; Abschluss: Abitur
1985 – 1989 Grundschule Lotte-Büren