

Aus dem Institut für Pathophysiologie
der Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Paradigma zur Untersuchung neuronaler Mechanismen in adaptiven
Entscheidungsprozessen

Inauguraldissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der
Medizin
der Universitätsmedizin
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Vorgelegt von
Sina Alissa Wette
aus Essen

Mainz, 2023

Wissenschaftlicher Vorstand: Univ.-Prof. Dr. Ulrich Förstermann

1. Gutachter:

2. Gutachter:

Tag der Promotion: 28.02.2024

Meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	IV
Tabellenverzeichnis	V
1 Einleitung und Ziel der Dissertation	1
2 Hintergrund	3
2.1 Lernen und Verhaltensformung durch Konditionierung	3
2.2 Exekutive Funktionen	11
2.3 Präfrontaler Kortex und Entscheidungsverhalten	13
3 Material und Methoden	15
3.1 Versuchstiere und Unterbringung	15
3.2 Skinnerbox und Paradigma	17
3.3 Operation und Implantation der Kanülen	19
3.4 Applikation der pharmakologischen Substanzen	21
3.5 Tötung und Histologie	21
3.6 Analysen und statistische Auswertung	22
4 Initiales Lernen	23
4.1 Methodik Kohorte 1	23
4.2 Ergebnisse Kohorte 1	24
4.3 Diskussion Kohorte 1	26
4.4 Methodik Kohorte 2	26
4.5 Ergebnisse Kohorte 2	27
4.6 Diskussion Kohorte 2	29
5 Adaptation an verschiedene Belohnungskontingenzen	30
5.1 Methodik	30
5.2 Ergebnisse	31
5.3 Diskussion	34

6	Adaptation bei inaktiviertem mPFC	35
6.1	Methodik Versuchsanordnung proximal	35
6.2	Ergebnisse Versuchsanordnung proximal	36
6.3	Diskussion Versuchsanordnung proximal	37
6.4	Methodik Versuchsanordnung distal	38
6.5	Ergebnisse Versuchsanordnung distal	39
6.6	Diskussion Versuchsanordnung distal	42
7	Adaptation bei aversiven Stimuli	43
7.1	Methodik	43
7.2	Ergebnisse	44
7.3	Diskussion	46
8	Adaptation an aversive Stimuli bei inaktiviertem mPFC	49
8.1	Methodik	49
8.2	Ergebnisse	51
8.3	Diskussion	54
9	Zusammenfassung	55
	Literaturverzeichnis	57
A	Appendix	66
A.1	Verwendete Geräte	66
A.2	Verwendete pharmakologische Substanzen	67
A.3	Lokalisation der intrazerebralen Kanülen	68
A.4	Matching Verhalten	69
A.5	Adaptation bei inaktiviertem mPFC	70
B	Danksagung	71
C	Lebenslauf	72

Abbildungsverzeichnis

3.1	Versuchszeitraum Kohorte 1	16
3.2	Versuchszeitraum Kohorte 2	16
3.3	Versuchsanordnungen	19
3.4	Lokalisation der intrazerebralen Kanülen	22
4.1	Schematische Darstellung der zu erlernenden Assoziationen, Kohorte 1 . . .	23
4.2	Initialer Lernversuch	25
4.3	Schematische Darstellung der zu erlernenden Assoziation, Kohorte 2	26
4.4	Initiales Lernen Kohorte 2, Versuchsanordnung distal	28
4.5	Belohnungseffizienz Kohorte 2, distal	29
5.1	Adaptation an unterschiedliche Belohnungskontingenzen	32
5.2	Anpassung der Tiere an unterschiedlich häufige Kontingenzwechsel	33
6.1	Adaptation mit mPFC Beteiligung, Kohorte 1, proximal, exemplarisch	36
6.2	Adaptation und Beteiligung des mPFC - Kohorte 1, proximal	37
6.3	Adaptation mit mPFC Beteiligung - Kohorte 1, distal, exemplarisch	40
6.4	Adaptation und Beteiligung des mPFC - Kohorte 1, distal	41
7.1	Adaptation an Bestrafung, mehrere Bedingungswechsel	44
7.2	Adaptation an Bestrafung, vereinfachte Struktur	46
8.1	Adaptation an Bestrafung und Beteiligung des mPFC	52
8.2	Erhaltene Bestrafungen unter Saline und Muscimol und Hot Plate Test . . .	53
A.1	Adaptation an unterschiedliche Belohnungskontingenzen	69
A.2	Adaptation und Beteiligung des mPFC - Kohorte 2	70

Tabellenverzeichnis

3.1	Modifikationen der Skinnerbox im zeitlichen Verlauf.	16
3.2	Teilnahme der Versuchstiere an den Experimenten	17
4.1	Versuchsparameter des initialen Lernversuchs, Kohorte 1	24
5.1	Belohnungskontingenzen Subkohorte 1	30
5.2	Wechsel der Belohnungskontingenzen Subkohorte 2	31
6.1	Struktur der Trainingssession - mPFC Inaktivierung, proximal	35
6.2	Struktur der Trainingssession - mPFC Inaktivierung, distal	38
7.1	Struktur der Trainingssession - Bestrafung und mehrere Bedingungswechsel	45
7.2	Struktur der Trainingssession - Bestrafung und ein Bedingungswechsel . . .	45
8.1	Schematischer Ablauf einer Trainingswoche	49
8.2	Struktur der Trainingssession	50
A.1	Verwendete Geräte.	66
A.2	Verwendete Pharmaka	67
A.3	Lokalisation der intrazerebralen Kanülen	68

Kapitel 1

Einleitung und Ziel der Dissertation

Fortlaufend verändert sich die Umgebung und Organismen müssen ihr Verhalten an variable Bedingungen anpassen. Ständig müssen Entscheidungen getroffen und die Konsequenzen gegeneinander abgewogen werden. Obwohl es für die meisten Menschen vermutlich angenehmer ist, morgens länger im Bett liegen zu bleiben, so entscheiden sie sich doch aufzustehen und zur Arbeit zu gehen, obwohl dies vermutlich die weniger angenehme Option ist. Sie treffen diese Entscheidung, weil es auf längere Sicht vorteilhaft ist, einer festen Arbeit nachzugehen und Geld zu verdienen als kurzfristig länger im warmen Bett liegen zu bleiben. Ein Wildtier muss sich zwischen verschiedenen Nahrungsquellen entscheiden. Eine Nahrungsquelle bietet reizvolles Futter, aber es besteht die Gefahr, dass das Tier auf Nahrungskonkurrenten oder Räuber treffen könnte. Eine andere Nahrungsquelle ist zwar weniger aussichtsreich, aber es besteht auch nicht die Gefahr auf Rivalen zu treffen. Zwischen diesen Optionen wird eine Entscheidung getroffen, die entweder den größten Gewinn oder den geringsten Verlust verspricht (Padoa-Schioppa, 2011). Das Gehirn integriert dazu verschiedene Informationsquellen, wie sensorische Stimuli, mit Gedächtnisinhalten und internen Zuständen (wie beispielsweise Hunger), um den Wert der Optionen zu berechnen (O'Reilly et al., 2002).

Die Integration und Verrechnung verschiedener Informationen stellt eine integrative Leistung des zentralen Nervensystems dar und ermöglicht Individuen, dass zielgerichtete Handlungen ausgeübt werden können.

In der Neurowissenschaft werden kognitive Prozesse, die die Aufmerksamkeit, das Arbeitsgedächtnis, die kognitive Flexibilität und die Inhibition gezielt aufeinander abstimmen in der Gruppe der exekutiven Funktionen (EF) zusammengefasst. Durch diese Funktionen wird eine situationsgemäße Anpassung an die Umwelt ermöglicht.

Zentrales biologisches Korrelat der EF ist der präfrontale Kortex (PFC). Der PFC erhält aufbereitete Informationen aller Sinnessysteme und steht mit prämotorischen und motorischen Arealen in Verbindung, sowie mit Arealen, die mit Gedächtnisspeicherung, Motivation und Emotion zusammenhängen (Miller und Cohen, 2001).

Obwohl bereits seit Jahrzehnten daran geforscht wird, wie das Gehirn die zielgerichtete Anpassungsfähigkeit an die Umwelt bewerkstelligt, sind die neuronalen Mechanismen der Entscheidungsfindung noch nicht verstanden. Um zu verstehen, welche neuronalen Mechanismen und neurochemischen Modulationen kognitiven Prozessen zugrunde liegen, müssen neuartige Verhaltensparadigmen entwickelt werden. Diese Paradigmen sollen ein besseres Verständnis der Neurophysiologie ermöglichen.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es ein Verhaltensparadigma zu implementieren, das es ermöglicht neuronale Mechanismen der Entscheidungsfindung zu untersuchen und das verschiedenen Ansprüchen gerecht werden soll. Ratten sollen eine komplexe Entscheidungsaufgabe lösen und ihr Verhalten verschiedenen Belohnungskontingenzen anpassen. Das Verhaltensparadigma soll schnell zu erlernen sein und flexible Adaptation an unterschiedliche Bedingungen ermöglichen. Die Tiere sollen während des Trainings artspezifisches Verhalten zeigen. Dieses Verhalten kann und soll jederzeit erfolgen. Um realistische Umweltbedingungen abzubilden, soll das Verhaltensparadigma sowohl positive als auch negative Konsequenzen involvieren. Des Weiteren soll es sowohl für systemisch-pharmakologische Interventionen als auch die parallele Aufzeichnung elektrophysiologischer Aktivität geeignet sein. Um gezielt die Funktion des medialen präfrontalen Kortex bei der Adaptation zu untersuchen soll den Versuchstieren nach erfolgreicher Implementierung des Verhaltensparadigmas intrazerebrale Kanülen in Subareale des PFC implantiert werden. Hierüber lassen sich gezielt Areale medikamentös stimulieren oder inaktivieren. Somit lassen sich Rückschlüsse über physiologische Vorgänge und Funktionsweisen im Gehirn während integrativer Leistungen ziehen. In dieser Arbeit konnte ein Verhaltensparadigma etabliert werden, dass die Untersuchung adaptiven Verhaltens ermöglicht. Es konnte gezeigt werden, dass die transiente Inaktivierung des präfrontalen Kortex zu Veränderungen des operanten Verhaltens führten.

Diese Arbeit ist der Grundlagenforschung zuzuordnen. Die Etablierung eines solchen Paradigmas ermöglicht es, dass zukünftige elektrophysiologische Einzelzelleitungen während einer komplexen Verhaltensaufgabe aufgezeichnet werden können. Somit können die Kodierungseigenschaften einzelner Zellen beziehungsweise Zellverbänden während einer Entscheidungsaufgabe untersucht werden, um Rückschlüsse über Vorgänge im Gehirn während integrativer Leistungen zu ziehen. Ein besseres Verständnis der Physiologie neuronaler Mechanismen in adaptiven Entscheidungsprozessen trägt dazu bei, dass künftig psychiatrische Erkrankungen besser verstanden und therapiert werden können.

Kapitel 2

Hintergrund

In unser Verhalten fließen vielfältige Informationen, wie beispielsweise sensorische Reize, Gedächtnisinhalte oder Motivation, die alle vom Gehirn verarbeitet werden, um flexibles Verhalten zu ermöglichen (O'Reilly et al., 2002). In der Neurowissenschaft werden kognitive Prozesse, die die Aufmerksamkeit, das Arbeitsgedächtnis, die kognitive Flexibilität und die Inhibition gezielt aufeinander abstimmen in einer Gruppe zusammengefasst. Diese Gruppe wird als exekutive Funktionen (EF) bezeichnet.

EF dienen dem Individuum als Kontrollprozesse für zielgerichtetes Verhalten, um situationsgerecht auf die Umwelt reagieren zu können. Obwohl die Organisation und Feinabstimmung der EF noch nicht abschließend verstanden worden ist, so sind der präfrontale Kortex (PFC) und Dopamin zweifellos in ihre Ausführung involviert (Miller und Cohen, 2001). Die spezifischen Funktionen des PFC sind seit Jahrzehnten Gegenstand der Forschung, doch die verschiedenen Untersuchungsmöglichkeiten weisen zahlreiche Limitationen auf. Adäquate Tiermodelle erlauben Rückschlüsse auf verschiedene Fragestellungen und bieten so die Möglichkeit, Verhalten systematisch zum Beispiel durch Konditionierung zu untersuchen.

2.1 Lernen und Verhaltensformung durch Konditionierung

Um Verhalten systematisch zu verstehen und vorhersagen zu können, ist es notwendig zu begreifen, wie und was wir lernen, da sich jedes Verhalten auf zuvor erlernte Reaktionen begründet.

Sowohl ein Kleinkind, das sich mit Übung immer problemloser die Schuhe binden kann als auch ein routinierter Autofahrer, der mühelos parallel bremsen, schalten und sich unterhalten kann (im Gegensatz zum Fahranfänger), haben eine Fertigkeit gelernt. Zahlreiche Studien (James, 1863; Bryan und Harter, 1897; Kimble und Perlmutter, 1970; Boakes, 1993) belegen, dass anfänglich anstrengende und fordernde Aufgaben mit entsprechender Übung leicht zu bewältigen sind und nicht mehr als mühevoll empfunden werden. Es wird deutlich, dass das Erlernen von neuen Fertigkeiten zu Beginn mit großer Anstrengung verbunden ist, wenn es jedoch gelernt wurde keine beachtenswerte kognitive Aufmerksamkeit mehr verlangt. Die Tatsache, dass wir in der Lage sind neue Fertigkeiten

bewusst zu erlernen und zielgerichtet auszuführen, ermöglicht uns ein flexibles Verhalten in einer sich ändernden Umgebung. Neu erlernte Fertigkeiten zielgerichtet ausführen zu können geht mit einer erhöhten kognitiven Anstrengung einher und damit zulasten anderer kognitiver Anforderungen (Gehring und Knight, 2000).

Die Qualität unseres Lebens (und im Tierreich auch das Überleben) hängen stark davon ab, wie unser Verhalten mit der Komplexität unseres Umfelds abgestimmt ist. Verhalten ist nicht nur eine Reaktion auf äußere Reize, sondern auch das Ergebnis von internen Zuständen und Zielen. Das Gehirn nutzt verschiedene Mechanismen, um Verhalten zu steuern, einschließlich der Verknüpfung von Reizen und Reaktionen, der Vorhersage von Belohnungen und Strafen und der Integration von internen Zuständen. Die Bedeutung von Verhalten kann sich im Laufe der Zeit ändern, da das Gehirn neue Informationen und Erfahrungen integriert (Balleine, 2019).

Ein Student kann sich dafür entscheiden zu Lernen oder seiner Freizeit nachzugehen, ein Tier sucht eine bestimmte Futterquelle auf, oder ein Kleinkind schreit nach seinen Eltern, wenn sie es ins Bett gebracht haben. In den beschriebenen Situationen haben bestimmte Verhaltensweisen in der Vergangenheit zu gewünschten Ergebnissen geführt. Verhalten, das sich in der Vergangenheit als effektiv erwiesen hat, um bestimmte Konsequenzen hervorzurufen wird als zielgerichtetes Verhalten (*goal-directed behavior*) bezeichnet (Staddon und Cerutti, 2003). Zielgerichtetes Verhalten ist immer instrumental. Die instrumentelle Konditionierung bezeichnet eine Gruppe von experimentellen Verfahren, um mittels bestimmter Handlungskonsequenzen die Häufigkeit einer bestimmten Handlung zu erhöhen oder vermindern und somit zielgerichtetes Verhalten im Experiment zu erzeugen.

Instrumentelle Konditionierung

Die ersten wissenschaftlichen Überlegungen zur instrumentellen Konditionierung (*operant conditioning*) sind auf den amerikanischen Psychologen Edward Lee Thorndike zurückzuführen (Thorndike, 1898; Thorndike, 1912). Aufgrund seiner Studien kam er zu dem Ergebnis, dass Versuchstiere bestimmte Reiz-Reaktions-Muster (*stimulus-response, s-r-association*) erlernt hatten. Diese Reiz-Reaktions-Muster leiten sich von ursprünglich natürlichem Verhalten ab. Folgt auf ein bestimmtes Verhalten eine angenehme Konsequenz wird es häufiger gezeigt, folgt auf das Verhalten eine unangenehme Konsequenz, wird es seltener gezeigt. Thorndike (1898) beschrieb in seinem Effektgesetz (*law of effect*), dass wenn eine angenehme (*appetitive*) Konsequenz in einer bestimmten Situation auf ein bestimmtes Verhalten folgt, die Assoziation zwischen der Situation (den anwesenden Reizen / Stimuli) und dem Verhalten gefestigt bzw. verstärkt wird. Im Umkehrschluss beschrieb Thorndike in seinem *negative law of effect*, dass wenn eine aversive Konsequenz auf ein bestimmtes Verhalten in einer bestimmten Situation folgt, die Auftretenswahrscheinlichkeit dieses Verhaltens in dieser Situation seltener ist.

Dies bedeutet, dass Belohnungen die Assoziation zwischen Reiz und Reaktion verstärken, sodass dieses Verhalten häufiger gezeigt wird, während Bestrafungen Verhalten supprimieren. Thorndike beobachtete das Verhalten von Tieren, während sie versuchten sich aus sogenannten *Puzzle Boxes* zu befreien und sich mit mehr Übung stetig schneller befreien konnten. Bei dem Versuch sich aus Puzzle Boxen zu befreien handelt es sich um diskontinuierliche Prozeduren (*discrete-trial procedures*), die es ermöglichen operantes Verhalten systematisch zu untersuchen. Diskontinuierliche Prozeduren werden durch den Experimentator beendet, nachdem sich die Versuchstiere beispielsweise erfolgreich aus einer Box befreit haben oder ein Labyrinth beendet haben. Meistens wird hierbei lediglich eine einzige Verhaltensantwort untersucht und das Tier hat limitierte Möglichkeiten operantes Verhalten zu zeigen. Im Gegensatz dazu analysierte Skinner natürliches Verhalten in einer kontinuierlichen Prozedur (*free operant procedures*). Die Versuchstiere werden hierbei nicht vom Experimentator gestört. Skinner war daran interessiert das gesamte Spektrum des natürlichen Verhaltens zu untersuchen. Dazu mussten Versuchstiere in reizarmen Käfigen ein neuartiges Verhalten (z.B. Hebel drücken) erlernen, um eine Belohnung auszulösen (Skinner, 1938). Diese reizarmen Käfige bezeichnete Skinner als *Operant conditioning chamber*, später wurde das Eponym *Skinner-Box* verwendet. Die Tiere konnten das instrumentelle Verhalten ohne Einschränkungen während des gesamten Trainings zeigen. So wird beispielsweise durch das Drücken eines Hebels eine Belohnungsgabe bezweckt. Die Antwortrate des instrumentellen Verhaltens dient als messbare Größen des Verhaltens. Sie wird vom getesteten Organismus selbst bestimmt und bietet so einen guten Einblick in operantes Verhalten. Er führte das Konzept des Operanten ein, um das präsentierte Verhalten in messbare Einheiten teilen und quantifizieren zu können (Skinner, 1938; Skinner, 1953).

Instrumentelle Konditionierung umfasst entscheidende Charakteristika: operantes Verhalten, Konsequenzen von Verstärkern sowie die Auftretenswahrscheinlichkeiten von Verstärkern.

Grundbegriffe und Kontingenzschema

Das in dieser Arbeit implementierte Verhaltensparadigma bedient sich der instrumentellen Konditionierung. Häufig werden operante und instrumentelle Konditionierung synonym verwendet. Dies ist jedoch nicht korrekt, wie Zimbardo (2013) und Wiegand (2013) beschreiben. Operante Konditionierung betrachtet beliebiges spontanes Verhalten, das auch unbeabsichtigt oder zufällig gezeigt werden kann. Im Kontrast dazu steht die instrumentelle Konditionierung, bei der Verhalten als Instrument eingesetzt wird, um ein Resultat (*outcome*) herbeizuführen. Führt das gezeigte Verhalten zum gewünschten Ziel, zum Beispiel zu einer Belohnung, wird der Organismus dieses Verhalten häufiger zeigen. Dabei wird die Auftretenswahrscheinlichkeit des instrumentellen Verhaltens durch seine Konsequenzen verändert. Ein angenehmer (appetitiver) Reiz erhöht die Auftretenswahrscheinlichkeit des instrumentellen Verhaltens wohingegen ein unangenehmer (aversiver) Reiz dieses Verhalten unterdrückt.

Grundsätzlich werden positive und negative Verstärker sowie positive und negative Bestrafungen unterschieden. Ein positiver Verstärker erhöht die Auftretenswahrscheinlichkeit eines bestimmten Verhaltens, wenn dieses Verhalten eine angenehme Konsequenz bewirkt. Eine positive Bestrafung vermindert die Auftretenswahrscheinlichkeit eines Verhaltens, das eine aversive Konsequenz bewirkt. Eine negative Bestrafung vermindert die Auftretenswahrscheinlichkeit eines Verhaltens, wenn dieses Verhalten eine appetitive Konsequenz verhindert oder diese beendet. In dem in der vorliegenden Arbeit implementierten Paradigma ist das Poken das instrumentelle Verhalten. Das *outcome* ist eine Belohnung (positiver Verstärker). Wird das instrumentelle Verhalten häufiger gezeigt, erhöht sich auch die Anzahl der Belohnungen.

Belohnungskontingenzen und Verstärkerpläne

Neben der subjektiven Wertigkeit eines Verstärkers (ein hungriges Tier wertet Futter als erstrebenswertere Belohnung als ein gesättigtes Tier) und dem zeitlichen Zusammenhang zwischen operantem Verhalten und einem Verstärker ist vor allem die Kontingenz, also die unmittelbare und regelmäßige Konsequenz von Verhalten. Die Beziehung zwischen operanter Antwort und Verstärker ist wichtig für das instrumentelle Verhalten. Ein Verstärkerplan bestimmt wie und wann operantes Verhalten verstärkt wird. Es gibt verschiedene Arten von Verstärkerplänen, die über das Muster und die Häufigkeit des operanten Verhaltens bestimmen und im folgenden Abschnitt näher erläutert werden.

Die Gabe eines Verstärkers kann über eine bestimmte Zeit (*time based*) oder eine Anzahl operanter Verhaltensweisen (*trial based*) erfolgen. Laut Gallistel und Gibbon (2000) und Balsam, Drew und Gallistel (2010) bilden zeitbasierte Prozesse die Basis der Konditionierung und des Lernens. Nach Balsam, Drew und Gallistel (2010) ist die konditionierte Trainingsleistung (*Performance*) abhängig von der geschätzten Belohnungsrate des Versuchstiers. Diese wiederum hängt wesentlich von seiner Zeitwahrnehmung ab. Das Tier reagiert vor allem empfindlich auf die akkumulierte Zeit der Präsentationen des konditionierten Stimulus. Dabei können die Belohnungen entweder nach einer bestimmten Anzahl von Verhaltensantworten oder einer bestimmten Zeit freigeschaltet werden.

Ein Quotenplan bewirkt die Belohnungsfreigabe nach einer bestimmten, festgelegten Anzahl von Verhaltensantworten. In einem festen Quotenplan (*fixed ratio schedule*) lässt sich die Anzahl an operanten Antworten, die zur Belohnungsgabe führen vom Versuchstier grob abschätzen. Diese Vorhersagbarkeit kann durch einen variablen Quotenplan (*variable ratio schedule*) minimiert werden. Intervallpläne bieten die Möglichkeit, dass Belohnungen erst nach Ablauf einer bestimmten Zeit freigeschaltet werden können. Es ist nicht garantiert, dass ein Intervallplan, der alle 4 Minuten eine Belohnung freischalten könnte, auch eine Belohnung nach 4 Minuten freigibt. Die operante Antwort ist obligatorisch, um eine Belohnung freizuschalten. Hat ein Versuchstier ein gutes Zeitgefühl, kann es auch bei einem Intervallplan die ungefähre Belohnungsgabe einschätzen. Ein variabler Intervallplan reduziert die Vorhersagewahrscheinlichkeit. Sowohl in festen als auch in variablen

Intervallplänen lässt sich zudem ein Zeitfenster festlegen, in der die Belohnung abgeholt werden kann (*limited hold*). Ein kontinuierliches, beständiges operantes Verhalten lassen sich sowohl bei variablen Quoten- als auch variablen Intervallplan beobachten. Barrett und Hoffmann (1991) zeigten, dass Intervall- und Quotenpläne unterschiedliche neurochemische Veränderungen im Gehirn bewirken. Andere Studien (Reynolds, 1975; Baum, 1993; Cole, 1994) zeigten, dass variable Quotenpläne operantes Verhalten stärker motivierten als variable Intervallpläne. Intervallpläne belohnen es, wenn die Zeit zwischen operanten Antworten länger ist. Dies führt zu niedrigeren Antwortraten bei Intervallplänen als man sie bei Quotenplänen beobachten kann (Reed et al., 2000; Baum, 1993; Cole, 1994; Dawson und Dickinson, 1990).

Neben einem Verstärkerplan sind auch die zeitlichen und ursächlichen Zusammenhänge zwischen operanter Antwort und Verstärker entscheidend. Der ursächliche Zusammenhang wird auch als Antwort-Verstärker-Kontingenz bezeichnet. Diese Kontingenz beschreibt inwiefern die operante Antwort notwendig für die Freischaltung eines Verstärkers ist. Unabhängig zur ursächlichen Beziehung beschreibt die zeitlich Relation den temporalen Zusammenhang zwischen operanter Antwort und Verstärker. Wird der Verstärker unmittelbar nach operanter Antwort verabreicht handelt es sich um temporale Kontiguität. Intuitiv und auch wissenschaftlich belegt, wird eine unmittelbare Belohnung einer verzögerten vorgezogen (McDevitt und Williams, 2001). Studien zeigen, dass eine operante Konditionierung auch möglich ist, wenn die Belohnungsfreigabe bis zu 30 Sekunden verzögert stattfindet (Critchfield und Lattal, 1993; Lattal und Gleeson, 1990). Allerdings wird der Prozess der instrumentellen Konditionierung dadurch verzögert. Es fällt Versuchstieren durch die Verzögerung schwerer zu ermitteln, welche Handlungen die Belohnungsfreigabe bewirkt haben. Um dieses Problem zu umgehen gibt es die Möglichkeit einen sekundären oder konditionierten Verstärker (beispielsweise ein akustisches Signal) zu implementieren, der zuvor mit dem Verstärker assoziiert wurde. Der konditionierte Verstärker sorgt dafür, dass es eine stärkere Verbindung zwischen dem operanten Verhalten und dem Verstärker gibt, wenn dieser zeitlich verzögert gegeben wird. Die konditionierten Verstärker können also die Zeit zwischen operanter Antwort und Belohnungsfreigabe überbrücken (Winter und Perkins, 1982; Williams, 1991; Cronin, 1980). Des Weiteren kann eine verzögerte Verstärkerfreigabe dafür sorgen, dass es den Versuchstieren so erscheint, als ob das operante Verhalten und die Belohnungsfreigabe unabhängig voneinander auftreten. Studien an Tauben bestätigten diese Problematik (Schaal et al., 1998; Lattal und Abreu-Rodrigues, 1997).

Das Matching Law

Intuitiv betrachtet wird sich ein Organismus in einem Zeitplan mit zwei Optionen immer für diejenige entscheiden, die bei wenig Aufwand die besten Ergebnisse erzielt. Dieses Verhalten wurde bei verschiedenen Tierarten untersucht. Herrnstein (1961) formalisierte seine Beobachtungen als *Matching Law*. Das *Matching Law* beschreibt die Relation, zwischen dem gezeigten Verhalten (B für *behavior*) und den eingestellten Verstärkern (r für *reinforcement*) an zwei Entscheidungsoptionen (L und R für links respektive rechts) und lässt sich mathematisch folgendermaßen beschreiben.

$$\frac{B_L}{B_L + B_R} = \frac{r_L}{r_L + r_R} \quad (2.1)$$

Vereinfacht, aber mathematisch äquivalent lässt sich diese Gleichung folgendermaßen umschreiben:

$$\frac{B_L}{B_R} = \frac{r_L}{r_R} \quad (2.2)$$

Beide Gleichungen beschreiben, wie sich die relativen Raten des Verhaltens den relativen Raten der eingestellten Verstärker anpassen. Allerdings wird selten eine perfekte Verhaltensanpassung beobachtet, sodass Baum (1974) das *Matching Law* zum *Generalized Matching Law* erweiterte. Dieses beinhaltet die zusätzlichen Parameter b (*response bias*) und s (*sensitivity*):

$$\frac{B_L}{B_R} = b \left(\frac{r_L}{r_R} \right)^s \quad (2.3)$$

Häufig wird diese Gleichung in logarithmierter Form ausgedrückt.

$$\log \left(\frac{B_L}{B_R} \right) = \log(b) + s * \log \left(\frac{r_L}{r_R} \right) \quad (2.4)$$

Der Exponent s repräsentiert die Sensibilität der Entscheidung in Relation zu den Verhaltensalternativen (Diskriminabilität der Alternativen). Bei einer perfekten Verhaltensanpassung (*perfect matching*) ist s gleich 1. Abweichend vom *perfect matching* lassen sich *undermatching*, *overmatching* und *bias* beobachten. Am häufigsten ließ sich in Versuchen *Undermatching* beobachten ($s < 1$), bei dem das beobachtete Verhalten weniger extrem ist, als es das Matching Law vorhersagen würde (Iigaya et al., 2017). Dieses Verhalten tritt vor allem dann auf, wenn das Versuchstier zu häufig zwischen den Entscheidungsoptionen wechselt. *Overmatching* ist das Gegenteil des *Undermatchings* ($s > 1$) und tritt selten auf. Denkbar wäre beispielsweise *Overmatching*, wenn es eine Bestrafung für das Wechseln der

Antwortoptionen gäbe. Ein Bias b stellt sich dann ein, wenn eine gleichwertige Option präferiert wird.

Der Parameter b gibt an, ob eine Präferenz für eine der Entscheidungsoptionen vorliegt. Der Wert für b ist dann höher, wenn ein Verstärker beispielsweise attraktiver, weil ertragsstärker ist oder weniger Anstrengungen erfordert. Das Matching Law beschreibt zwar, wie sich Organismen in einer Entscheidungsaufgabe verhalten, aber es beschreibt nicht, welche Mechanismen diesem Verhalten zugrunde liegen. Des Weiteren beschreibt das Matching Law das durchschnittliche Verhalten während einer gesamten Trainingssession und abstrahiert über einzelne Entscheidungen. Zugrundeliegende Faktoren sind weiterhin Gegenstand wissenschaftlicher Forschung (Grace und Hucks, 2013).

Negative Konsequenzen im Entscheidungsverhalten

In einer natürlichen Umgebung müssen ständig negative gegen positive Konsequenzen abgewogen werden. Im Tierreich ist es sogar lebensnotwendig dies zu tun: ein Tier auf Futtersuche (Futter als positive Konsequenz), sollte sich beispielsweise stets der Gefahr eines Raubtiers (negative Konsequenz) bewusst sein. Wir versuchen die Auswirkungen unseres Handelns vorherzusehen, um die Option auszuwählen, die entweder zu positiven Auswirkungen führt oder negative Konsequenzen vermeidet. Die Fähigkeit, Konsequenzen gegeneinander abzuwägen, ist unerlässlich, um Entscheidungen zu treffen. Die Beobachtungen von Shimp et al. (2015) legen nahe, dass Belohnungslernen, das mit einer Gefahr der Bestrafung einhergeht, stärker von der Bestrafung als von der Belohnung beeinflusst wird. Individuen unterscheiden sich in ihrer Empfindlichkeit bezüglich aversiver Konsequenzen, sodass manche in Verhaltensanpassungsstörungen verharren. Ursächlich für diese Verhaltensanpassungsstörung könnte dies beispielsweise an einer überhöhten Belohnungsbewertung (Field et al., 2020; Hogarth, 2020) oder autonomen Reiz-Reaktions-Mechanismen liegen (Lüscher, Robbins und Everitt, 2020; Everitt und Robbins, 2022). Jean-Richard-dit-Bressel et al. (2023) schlagen ausgehend von ihrer Forschung außerdem eine weitere Möglichkeit vor: drei unterscheidbare Phänotypen, die unterschiedliche Konsequenzen aus ihren Handlungen ableiten. Der empfindliche Phänotyp (*sensitive phenotype*) entwickelt richtige kausale Überzeugungen, die dazu führen, dass das Verhalten so angepasst wird, dass möglichst viele Belohnungen erhalten und Bestrafungen vermieden werden. Der ahnungslose Phänotyp (*unaware phenotype*) entwickelt nach erhaltenen Bestrafungen in sich kohärente, aber falsche Überzeugungen, die zu weiteren Bestrafungen führen. Dieser Phänotyp überdenkt und verändert das Verhalten, um Bestrafungen zu vermeiden, aber aufgrund von falschen Überzeugungen, die zu Bestrafungen geführt haben, kommt es in Folge dessen zu weiteren Bestrafungen. Des Weiteren gibt es noch den zwanghaften Phänotyp (*compulsive phenotype*), der sein Verhalten nicht ändert und in dem maladaptiven Verhalten verharrt.

Park und Moghaddam (2017b) betonen, dass negative Konsequenzen im Entscheidungsverhalten zu wenig erforscht sind. In ihrer Forschungsarbeit konnten sie während ei-

ner Entscheidungsaufgabe sowohl von Neuronen des medialen präfrontalen Kortex (mPFC) als auch der *Area tegmentalis ventralis* Neuronenaktivität aufzeichnen. Ihre Arbeit legt nahe, dass Gruppen von Neuronen dieser Hirnregionen die Beziehung zwischen Verhalten und Bestrafung kodieren.

Obwohl operante Konditionierung mit ausschließlich positiver Verstärkung schon lange etabliert ist, ist die positive Bestrafung noch wenig erforscht (Crosbie, 1998). Die Problematik wird zum einen von Azrin (1960) dahingehend beschrieben, dass Bestrafungen zu einer vollständigen und dauerhaften Suppression des Verhaltens führen, wenn sie zu intensiv sind, oder umgekehrt, dass sie zu keiner Verhaltensänderung führen, wenn die Bestrafung zu mild ist (Church, 1963). Bis zu Beginn der 1960er Jahre galt Bestrafung als ineffiziente Methode um Verhalten dauerhaft zu modulieren. In einigen Studien (Church, 1963; Azrin und Holz, 1966), konnte jedoch gezeigt werden, dass Bestrafung, wenn sie richtig angewendet wird, eine effiziente Methode darstellt, um Verhalten zu formen.

Zielgerichtetes Verhalten und kognitive Flexibilität

Die Fähigkeit zielgerichtet auf die Umwelt zu reagieren ermöglicht eine flexible Anpassung an sich ändernde Umweltbedingungen. Diese Flexibilität des Verhaltens geht jedoch mit einer aufwändigen Kontrolle und Reaktionsüberwachung einher, die zulasten der Kapazität anderer kognitiver Prozesse geht (Gehring und Knight, 2000). Zielgerichtetes Verhalten wird gemäß der entsprechenden Konsequenzen abgewogen (Adams, 1982; Balleine und Dickinson, 1991; Balleine und Dickinson, 1998). Die Entwicklung von automatisierten Verhaltensmustern (*habits*) ermöglichen eine adäquate Möglichkeit auf Situationen zu reagieren, die kaum kognitive Anstrengungen erfordern

Die kognitive Flexibilität von Tieren wird bei der instrumentellen Konditionierung am häufigsten mittels des Umkehrlernens (*Reversal learning*) untersucht (Izquierdo und Belcher, 2012; Izquierdo, Brigman et al., 2017). Zahlreiche Studien belegen, dass das Umkehrlernen von mehreren Hirnregionen, insbesondere dem PFC, abhängt (Yuan und Raz, 2014; Funahashi und Andreau, 2013; Dajani und Uddin, 2015). Beim Umkehrlernen werden Assoziationen von zwei oder mehreren Stimuli in bestimmten Verstärkungskontingenzen gelernt. Nach einer vordefinierten Zeit werden die Verstärkungskontingenzen der Stimuli gewechselt und die Zeit wird gemessen, die das Versuchstier benötigt, um sein Verhalten der neuen Bedingung anzupassen.

Nachdem wir uns gerade angesehen haben, wie Verhalten systematisch untersucht werden kann, wollen wir uns im folgendem Abschnitt wieder der Gruppe zuwenden, die zielgerichtetes Verhalten erst ermöglicht: den Exekutiven Funktionen.

2.2 Exekutive Funktionen

Exekutive Funktionen (EF) sind eine entscheidende Basis für Lernen und Entwicklung. Viele soziale Vorgänge und kognitive Prozesse hängen von der Entwicklung dieser Funktionen ab. EF sind vor allem beim zielgerichteten Verhalten wichtig, das nicht automatisiert abläuft. Zielgerichtetes Verhalten, beispielsweise die Futtersuche eines Tieres, ist vor allem dann erforderlich, wenn kognitive Anstrengungen und besondere Aufmerksamkeit gefordert sind, um eine ungewohnte Situation zu bewältigen. Auch für komplexe Aufgaben, die mehrere Schritte zur Bewältigung erfordert, ist es notwendig, dass eine Kontrollinstanz die Zwischenschritte überprüft und unser Verhalten an die erforderlichen Begebenheiten anpasst. Die EF stimmen dabei beispielsweise Motorik, Gedächtnis und Aufmerksamkeit aufeinander ab, um ein günstiges Verhaltensergebnis zu ermöglichen und Verhalten der Situation entsprechend zu optimieren (Padoa-Schioppa, 2011).

Kognitive Flexibilität, Inhibitionsprozesse und kognitive Überwachungstätigkeiten (Monitoring), Planungs- und Entscheidungsprozesse sind Beispiele für Teilleistungen der EF, die alle gemeinsam haben, dass kognitive Prozesse koordiniert, gesteuert und kontrolliert werden, um das Verhalten gemäß veränderter Bedingungen zu modifizieren.

Die kognitive Flexibilität ist ein zentraler Bestandteil adaptiven Verhaltens und beinhaltet die Fähigkeit, sich situationsentsprechend reagieren und verhalten zu können (Diamond, 2013). Das Individuum wird durch die kognitive Flexibilität dazu befähigt, Handlungen zu planen und Alternativen abzuwägen und kann sich somit in sich verändernden Bedingungen zurechtfinden und Langzeitziele erreichen. Eslinger und Grattan (1993) beschrieben die reaktive kognitive Flexibilität (*set shifting*) als die Fähigkeit zur Reaktions- und Kognitionsumstellung, wenn es die äußeren Bedingungen erfordern.

Prozesse, bei der das Individuum mehr als eine Handlungsalternative zur Auswahl hat, um ein Ziel zu erreichen, und es diese Optionen gegeneinander abwägen muss, werden als Entscheidungsfindung bezeichnet. Die Entscheidungsfindung erfordert die systematische Prüfung der Handlungsalternativen und wird sowohl von kognitiven als auch emotionalen Aspekten und Vorerfahrungen beeinflusst (Padoa-Schioppa, 2011).

Pathologien der exekutiven Funktionen

Aufgrund der Komplexität der EF und ihrer obligatorischen Feinabstimmung führen eine Dysbalance der Subareale des Frontalkortex zu unterschiedlichen Verhaltensauffälligkeiten. Eine reduzierte kognitive Flexibilität findet sich wiederum bei zahlreichen neurologischen und psychiatrischen Erkrankungen wie Angst- und Belastungsstörungen (Park und Moghaddam, 2017a), Depressionen (Hammar und Årdal, 2009), Manie (Amodeo et al., 2017), Autismus-Spektrums-Störungen (Memari et al., 2013), Essstörungen wie Magersucht (*Anorexia nervosa*) (Sato et al., 2013), Zwangsstörungen (*obsessive-compulsive disorder*) (Vaghi et al., 2017) oder auch dem physiologischen Älterwerden (Berry et al., 2016).

Ratten als Modell exekutiver Funktionen

Die Erforschung der Funktionen des präfrontalen Kortex beim Menschen beschränkt sich methodisch hauptsächlich auf neuropsychologische Untersuchungen nach Hirnschädigungen, Transkranielle Magnetstimulation, Elektroenzephalographie und funktionelle Bildgebung mittels Kernspintomographie. Diese Tests haben jedoch zahlreiche Limitationen. Beispielsweise sind Hirnschädigungen sehr heterogen und nicht miteinander vergleichbar. In bildgebenden Verfahren gehen die feingranularen Abstufungen der heterogenen Aktionspotenzialfrequenzen der Neurone im PFC verloren. Um ein substanzielles Verständnis der neuronalen Grundlagen und der neurochemischen Modulationen der EF zu erlangen ist es deshalb notwendig suffiziente Modelle zu entwickeln, die eine präzisere Abgrenzung und die Definition spezifischer Funktionen der Subareale des PFC erlauben. Da die EF als integrative Leistung zu verstehen ist, deren Funktion im Verhaltenskontext betrachtet werden muss, bieten sich Tiermodelle zur Untersuchung der Funktion des PFC an.

Uylings, Groenewegen und Kolb (2003) formulierten allgemein akzeptierte Kriterien zum Vergleich von zerebralen Homologien unterschiedlicher Spezies. Diese sind 1. die Muster der spezifischen Verbindungen und ihre relative Dichte, 2. die funktionalen Eigenschaften, 3. die Anwesenheit und spezifische Verteilung verschiedener neuroaktiven Substanzen und Neurotransmitterrezeptoren, 4. die embryologische Entwicklung und 5. (lediglich für nahverwandte Spezies) die zytoarchitektonischen Charakteristiken. Aufgrund Ihrer Forschungsarbeiten kamen sie unter Berücksichtigung der oben genannten Kriterien zu dem Schluss, dass Ratten einen präfrontalen Kortex besitzen. Obwohl dieser weniger differenziert ist als bei Primaten, so zeigt er dennoch anatomisch und funktionelle Ähnlichkeiten.

Das Wirbeltier-Gehirn verarbeitet hochdifferenziert Sinneswahrnehmungen und koordiniert komplexe Verhaltensweisen. Studien legen nahe, dass im PFC von Ratten ähnliche Verarbeitungsmechanismen wie beim menschlichen PFC vorliegen (O'Reilly et al., 2002; Brown und Bowman, 2002). Raposo et al. (2012) schlussfolgerten zum Beispiel in Ihrer Arbeit, dass Menschen und Ratten sensorische Stimuli (auditiv und visuell) in ähnlicher Weise verarbeiten. Ratten wurden bereits in zahlreichen Studien, die Flexibilität im Verhalten (Durstewitz et al., 2010; Floresco, Block und Maric, 2008; Jaramillo, Borges und Zador, 2014; Karlsson, Tervo und Karpova, 2012; Kimchi und Laubach, 2009; Rich und Shapiro, 2009; Rodgers und DeWeese, 2014), Verhaltenskonflikte (Haddon, George und Killcross, 2008; Oualian und Gisquet-Verrier, 2010) und den schnellen Wechsel zwischen verschiedenen sensomotorischen Assoziationen (Baker und Ragozzino, 2014; Leenaars et al., 2012) untersuchen, verwendet und haben sich als Modell etabliert.

Läsionsstudien in medialen- und orbitofrontalen Hirnregionen bei Ratten legten nahe, dass die Versuchstiere verschiedene Verhaltensauffälligkeiten zeigten, die ähnlich waren zu den Verhaltensauffälligkeiten bei Primaten in Läsionsstudien in dorsolateralen und orbitofrontalen Regionen. So konnte beispielsweise gezeigt werden, dass Läsionen des mPFC schwere Defizite im Ausführen und Abrufen von Arbeitsgedächtnisaufgaben hervorrufen. Zum Beispiel waren dies Aufgaben mit verzögerter Reaktion (Kolb, Nonneman und Singh,

1974), verzögertem Wechsel (Divac, 1971; Kolb, 1974a; Wikmark, Divac und Weiss, 1973) und verschiedener Varianten des *(non)matching-to-sample* (Broersen et al., 1995; Dunnett, 1990; Kolb, 1974a; Otto und Eichenbaum, 1992). Diverse Defizite ließen sich auch in Aufmerksamkeitsaufgaben (Muir, Everitt und Robbins, 1996) und in Aufgaben, die Umkehr-Lernen (*reversal learning*) erforderten (wie z.B. Wechsel von Bedingungssignalen) (Feenstra und Bruin, 2004; Kolb und Whishaw, 1981; De Bruin et al., 2000; Birrell und Brown, 2000) zeigen. Läsionen des mPFC sorgten zusätzlich für Defizite in verschiedenen motorischen und Spezies-spezifischem Verhaltensweisen, die die Organisation motorischer Abläufe erfordern, beispielsweise beim Horten von Futter oder beim Nestbau (Kolb, 1974a; Kolb, 1974b; Kolb und Whishaw, 1981; Shipley und Kolb, 1977). Die Ergebnisse von Läsionsstudien überzeugten viele Forscher, dass es parallel entwickelte, wenn nicht sogar homologe Aufgaben und Funktionen des präfrontalen Kortex von Nagern und Primaten gibt (Uylings, Groenewegen und Kolb, 2003).

2.3 Präfrontaler Kortex und Entscheidungsverhalten

Der präfrontale Kortex ist zweifellos in die Ausführung der exekutiven Funktionen involviert, auch wenn noch nicht eindeutig geklärt ist, wie er dafür organisiert ist und welche Subareale an speziellen Funktionen beteiligt sind (Miller und Cohen, 2001). Die Funktionen des präfrontalen Kortex begründen sich aus ihrer Konnektivität zu anderen Hirnregionen und können nicht isoliert betrachtet werden, sondern ausschließlich im Rahmen ihrer Verbindungen. Phylogenetisch handelt es sich bei dem PFC um eine sehr junge Hirnregion (Brodmann, 1912; Jerison, 1994), die sich ontogenetisch erst spät entwickelt (Flechsig, 1920; Conel, 1939; Huttenlocher, 1990; Huttenlocher und Dabholkar, 1997). Der PFC unterhält reziproke Verbindungen zu dem Hirnstamm, dem Thalamus, den Basalganglien und dem limbischen System.

Die Funktionen der Afferenzen lassen sich auf die damit verbundenen Strukturen zurückführen. Der PFC erhält über das Diencephalon, den Hirnstamm und das limbische System Informationen über das Erregungsniveau, die Motivation und die viszerale Begleitempfindungen. All diese Hirngebiete sind besonders in die Kontrolle der Motorik und der Verstärkung involviert. Für das Verhalten sind vor allem die Afferenzen des Hypothalamus und der Amygdala relevant (Fuster, Bodner und Kroger, 2000). Die Amygdala (Porrino, Crane und Goldman-Rakic, 1981; Ray und Price, 1993) und der Hypothalamus (Kievit und Kuypers, 1975; Jacobson, Butters und Tovsky, 1978) projizieren in die ventralen und medialen Anteile des PFC und spielen mutmaßlich eine entscheidende Rolle in der Interpretation sensorischer Stimuli. LeDoux (1993) schlussfolgerte daraus eine wichtige Funktion für das emotionale Verhalten. Die Regionen des PFC erhalten direkte oder indirekte Projektionen vom Hippocampus, was ebenfalls eine entscheidende Funktion im Verhalten spielt (Rosene und Van Hoesen, 1977; Amaral, 1987; Barbas und Blatt, 1995). Diese Verbindungen formen mutmaßlich den Rahmen für die EF (Fuster, 1995).

Nachdem gerade die Hintergründe der Problemstellung erläutert und diese im aktuellen Kontext ihrer Forschung präsentiert wurden, schauen wir uns in Kapitel 3 das Versuchsparadigma sowie die allgemeine Methodik der Verhaltenstestung an, die in der vorliegenden Arbeit Verwendung fanden. In Kapitel 4 wird der Ablauf des initialen Lernens des Paradigmas beschrieben. In Kapitel 5 wird die Anpassung der Versuchstiere an dynamische Belohnungswahrscheinlichkeiten untersucht. Kapitel 6 beschreibt den Effekt einer Inaktivierung des medialen präfrontalen Kortex auf zielgerichtetes Verhalten. In Kapitel 7 wird eine Erweiterung des Paradigmas hinsichtlich negativer Handlungskonsequenzen beschrieben. In Kapitel 8 wird die Adaptation der Versuchstiere auf aversive Stimuli bei inaktiviertem medialen präfrontalen Kortex untersucht. Kapitel 9 fasst die gewonnenen Erkenntnisse zusammen und gibt einen Ausblick auf zukünftige Forschungsprojekte.

Kapitel 3

Material und Methoden

Alle in diesem Promotionsprojekt angewandten Methoden und Versuche wurden von dem Landesuntersuchungsamt Rheinland-Pfalz unter dem Aktenzeichen G14-1-069 bewilligt.

3.1 Versuchstiere und Unterbringung

Bei den Versuchstieren handelt es sich um zwölf (SW1-12) männliche Long-Evans-Ratten.

Die Ratten waren bei ihrer Ankunft im Labor fünf Wochen alt und wogen zwischen 200 g und 250 g. Bis zu einem Alter von fünf bis sechs Monaten lebten jeweils drei Tiere gemeinsam in einem Käfig. Nach Kanülenimplantation wurden die Tiere einzeln gehalten, hatten jedoch durchgängig akustischen, visuellen und olfaktorischen Kontakt zu ihren Artgenossen. Um Stress für die Tiere zu reduzieren, wurden sie täglich (montags-freitags) für 30 bis 60 Minuten unter Betreuung zusammengesetzt.

Die Käfige der Tiere waren in einem Luftstromschrank (UniProtect, Zoonlab) untergebracht, in dem laufend die Temperatur, die Luftfeuchtigkeit und der Luftdruck kontrolliert wurden. Die Temperatur betrug somit konstant etwa 23 °C, die Luftfeuchtigkeit lag bei 50 % bis 60 %. Da Ratten überwiegend nachtaktiv sind und die Verhaltensexperimente in ihrer wachen Phase stattfinden sollten, hatten die Tiere einen invertierten Tag-Nacht-Rhythmus. Die Beleuchtung im Luftstromschrank war von 20 Uhr abends bis 8 Uhr morgens angeschaltet und von 8 Uhr morgens bis 20 Uhr abends ausgeschaltet. Die Versuchstiere wurden unterhalb der Woche wasserrestringiert gehalten. Sonntags wurden die Wasserflaschen aus den Käfigen der Tiere entfernt. Am Wochenende stand das Wasser den Tieren ad libitum zur Verfügung. Von montags bis freitags fanden die Testungen einmal täglich statt. Während einer Testung, die 60 Minuten dauerte, hatten die Ratten die Möglichkeit, sich ihr Wasser in Form von Belohnungen zu verdienen. Die aufgenommene Flüssigkeitsmenge wurde nach jeder Sitzung berechnet (pro Belohnung gab es 30 µl Wasser) und sollte diese unter 8 ml gelegen haben, so erhielten die Versuchstiere anschließend die Differenz, um zu gewährleisten, dass sie ausreichend (8 ml) Flüssigkeit zu sich nehmen.

Die Ratten erhielten Trockenfutter in Form von Pellets als Hauptnahrungsquelle und zusätzlich gelegentlich Erdnussbutter, Mandelmus, Joghurt, Früchte und Nüsse. Die Ver-

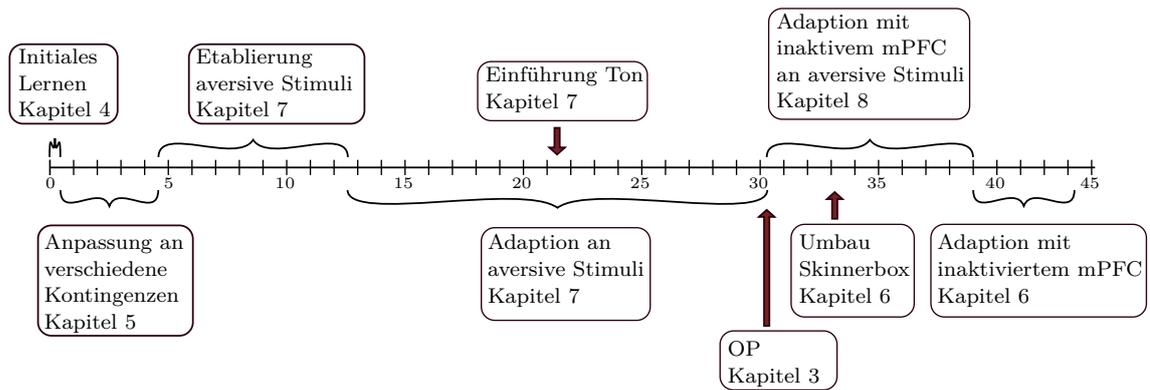


Abbildung 3.1: Gesamter Versuchszeitraum in Trainingswochen. Dargestellt sind die durchgeführten Versuche der Kohorte 1. Die geschweiften Klammern umfassen jeweils den Untersuchungszeitraum des entsprechenden Experiments.

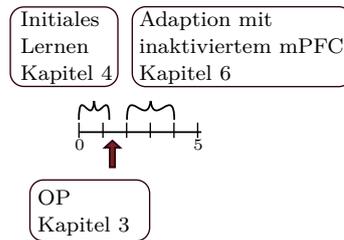


Abbildung 3.2: Wie in Abbildung 3.1, aber für Kohorte 2

suchstiere wurden vor und nach jeder experimentellen Sitzung gewogen und das jeweilige Gewicht wurde dokumentiert. Während der täglich stattfindenden Versuche von montags bis freitags verloren die Ratten an Gewicht, am Wochenende nahmen die Ratten jedoch wieder zu, sodass über die Wochen der Testung eine messbare Gewichtszunahme stattfand.

Im Versuchszeitraum wurden verschiedene Experimente durchgeführt, die in den Abbildungen 3.1 und 3.2 gezeigt werden.

Tabelle 3.1: Modifikationen der Skinnerbox im zeitlichen Verlauf.

Woche	Modifikation	Erklärung
17	Jegliche Verstärker müssen am Centerport abgeholt werden	Bessere Vergleichbarkeit der Verstärker
22	Einführung Ton	Etablierung eines bedingten Reizes
33	Umbau Skinnerbox	Operante & konsumatorischer Port an unterschiedlichen Seiten
35	Einführung Changeover delay other port (CODOP)	Minimum zwischen den Belohnungs-/Bestrafungstriggern und dem letzten Poke am jeweils anderen Choice Port

Tabelle 3.2 gibt einen Überblick darüber, welche Versuchstiere an dem jeweiligen Experiment teilgenommen haben und in welcher Versuchsanordnung der Versuch stattfand.

Tabelle 3.2: Teilnahme der Versuchstiere an den Experimenten. Das Tier hat in der Versuchsordnung proximal (●) oder distal (○) an dem Experiment teilgenommen. Angelehnt an Stoilova, Wette und Stüttgen (2019).

Experiment/Ratte # <i>Kohorte</i>	n	1 ₁	2 ₁	3 ₁	4 ₁	5 ₁	6 ₁	7 ₂	8 ₂	9 ₂	10 ₂	11 ₂	12 ₂
Initiales Lernen (Kapitel 4)	12	●	●	●	●	●	●	○	○	○	○	○	○
Versch. Kontingenzen (Kapitel 5)	3			●	●	●							
Matching Law (Kapitel 5)	3	●	●	●									
Adaptation (Kapitel 6)	10	●	●	●	●			○	○	○	○	○	○
Bestrafung (Kapitel 7 und 8)	6	●	●	●	●	●	●						
Hot Plate Test (Kapitel 8)	11	●	●		●	●	●	●	●	●	●	●	●

3.2 Skinnerbox und Paradigma

Bei der Verhaltensbox (Skinnerbox), die in einem geräuschgedämpften Schrank steht, handelt es sich um einen Quader mit einer Länge von 48 cm, einer Höhe von 28 cm und einer Breite von 27 cm. Der Boden des Quaders wird durch eine Edelstahlschublade ausgekleidet, die mit Holzspänen befüllt ist. Drei Zentimeter über dem Boden der Skinnerbox wird der eigentliche Boden durch 19 Edelstahlstäbe gebildet. Diese haben jeweils einen Durchmesser von 0,5 cm und einen Abstand zueinander von 1,2 cm. Die Edelstahlstäbe lassen sich über ein externes Gerät unter Strom setzen, sodass es möglich ist, den Versuchstieren einen aversiven Stromreiz über ihre Pfoten zu verabreichen. Die Intensität der Stromstärke der in Kapitel 7 und 8 beschriebenen Versuche lag zwischen 0,27 mA und 0,53 mA und wurde individuell für jedes Tier angepasst. Die Skinnerbox und der Shocker (ENV-414S) wurden von der Firma Med Associates hergestellt, die konischen Mulden und der Edelstahlboden von der Firma Lafayette Instrument. Der Verstärker (sowohl appetitiver als auch aversiver Reiz) war für eine limitierte Zeit verfügbar. Ein 1,4 kHz Ton 85 dB SPL, der solange ertönte wie die Belohnung verfügbar war, signalisierte dies.

In der Skinnerbox befinden sich drei kegelförmige Mulden (*Ports*) (LIC.80117RM, Lafayette Instrument, Lafayette, IN, USA), die einen Durchmesser von jeweils 3 cm haben und 4 cm vom Boden entfernt angebracht sind. Sie werden nachfolgend als linker Port, rechter Port und Belohnungsport (*Centerport*) bezeichnet. Nur an letztgenanntem Port wurden Belohnungen gegeben.

Eine Lichtschranke in den Mulden detektiert, ob und wie lange das Versuchstier seine Schnauze in den Port steckt (englisch *poke*). Die Versuchstiere müssen ihre Schnauzen mindestens 0,4 Sekunden entweder in die linke oder die rechte Mulde stecken, um eine Belohnung in der zentralen Mulde auszulösen. Es handelt sich bei den Pokes um natürliches Verhalten der Tiere, sodass die operante Antwort nicht antrainiert werden muss. Es lässt sich die Belohnungswahrscheinlichkeit über ein randomisiertes Intervall (RI) unabhängig für die linke und für die rechte Mulde festlegen. Die freigeschaltete Belohnung, in Form

von 30 μl Wasser, kann in der Mulde in der Mitte abgeholt werden. Die Wahrscheinlichkeit p bestimmt, wie viele Sekunden im geometrischen Mittel zwischen zwei möglichen Belohnungen liegen ($p = 1/\text{RI}[\text{s}]$). Dies bedeutet beispielsweise, dass wenn man $p = 0,0333$ wählt, man erwarten kann, dass im geometrischen Mittel alle 30 Sekunden eine Belohnung verfügbar ist ($1/0,0333 = 30$ Sekunden). Durch das RI steigt die Wahrscheinlichkeit für eine verfügbare Belohnung an einem Port, je länger das Tier nicht an diesem Port war. In der vorliegenden Arbeit verfügen beide Ports über ein unabhängiges randomisiertes Intervall. Die Tiere werden dazu animiert beide Ports aufzusuchen, da entweder an einem, an beiden oder an keinem Port eine Belohnung auslösbar und damit verfügbar ist. Ein weiterer Parameter ist der *Changeover Delay* (COD)[s]. Der COD gibt die Zeit an, in der nach einem Wechsel der operanten Ports eine operante Antwort nicht belohnt wird. Somit soll verhindert werden, dass die Tiere zu schnell zwischen den Ports wechseln.

Da die Tiere nach jedem *poke* in die operanten Ports den Belohnungsport aufsuchen, wurde ab Trainingswoche 22 ein Tonsignal eingeführt das signalisierte, wenn ein Verstärker (Belohnung oder Bestrafung) verfügbar war. Das Signal erklang über einen Lautsprecher, der war an der Decke der Versuchsbox montiert war. Das Signal war ein 1,4kHz purer Ton mit einem Schalldruckpegel von 85dB. Ab Trainingswoche 35 wurde die Variable *Changeover delay other port* (CODOP) eingeführt, um zu verhindern, dass die Tiere zwischen den Ports flottieren, ohne dafür sensibel zu sein an welchem Port sich eine Belohnung auslösen lässt. Tabelle 3.1 zeigt die Modifikationen der Skinnerbox über den Untersuchungszeitraum. Die Hardware Steuerung erfolgte mit dem Gerät CED Power 1401-3 und die verwendete Software war Cambridge Electronic Design Limited.

Versuchsanordnung proximal

Die Ports befinden sich alle nebeneinander an der kurzen Seite der Skinnerbox. Der Belohnungsport liegt zwischen den operanten Ports. Dieser Versuchsaufbau wird zu Beginn der Testungen für die Versuchstiere SW1-SW6 genutzt. Abbildung 3.3 zeigt sowohl ein Foto, als auch eine Skizze der Versuchsanordnung proximal.

Die Tiere der Kohorte 1 hatten sich in der langen Trainingszeit *habits* angewöhnt und reagierten nicht mehr sensitiv auf die Wechsel der Belohnungskontingenzen, was einen Umbau der Skinnerbox von Versuchsanordnung proximal zu distal erforderlich machte. In dem geänderten Versuchsaufbau gab es verglichen mit dem Versuchsaufbau proximal gleich viele Ports, gleiche Belohnungskontingenzen und lediglich eine veränderte Lage des Belohnungsports.

Versuchsanordnung distal

Die Skinnerbox wurde so umgebaut, dass die Belohnung an der gegenüberliegenden Seite der operanten Ports abgeholt werden musste (siehe dazu auch Abbildung 3.1). Somit sollten die Tiere mit einer geänderten Reaktions-Outcome-Assoziation (R-O association, R für englisch response, O für englisch outcome) getestet werden. Die Tiere mussten

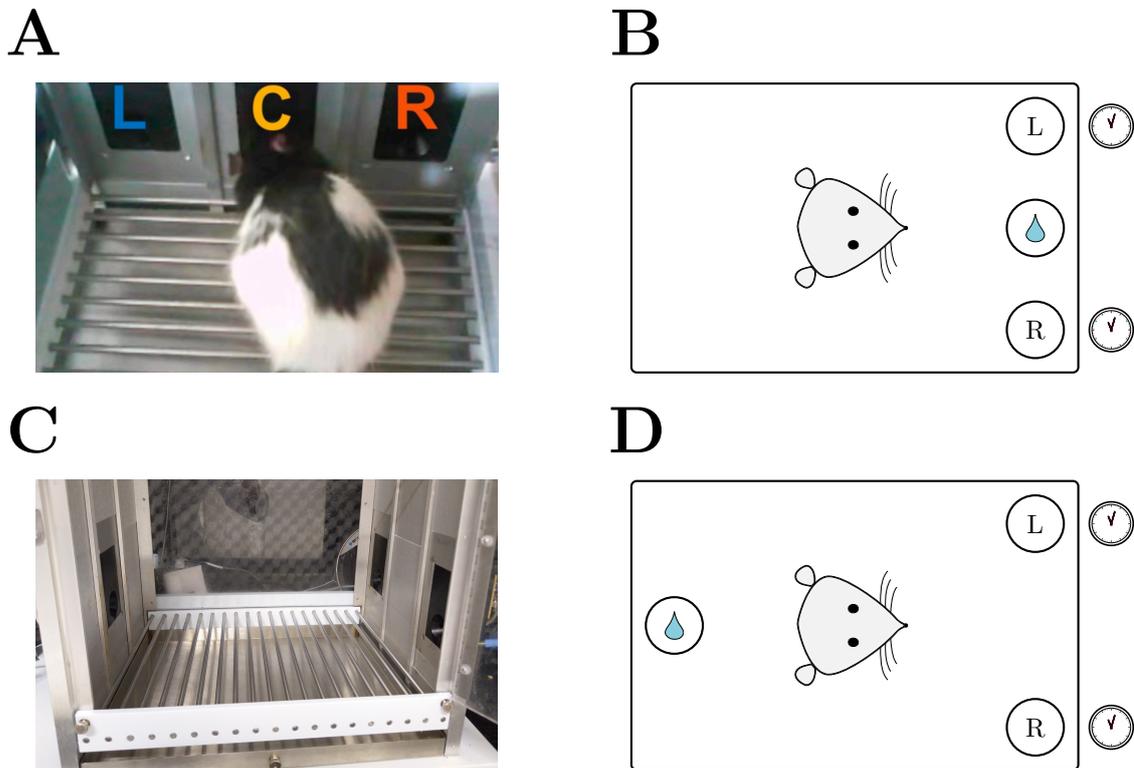


Abbildung 3.3: Versuchsanordnungen. **(A, B)** Versuchsanordnung proximal. Alle Ports befinden sich auf derselben Seite. **(B)** Skizze der Versuchsanordnung. Die operanten Ports sind mit L und R für links bzw. rechts bezeichnet. Die Belohnungen gibt es im mittleren Port. Dies wird durch einen Wassertropfen angezeigt. Die Ports befinden sich alle nebeneinander an der kurzen Seite der Skinnerbox. Die Verstärkungsverfügbarkeiten der operanten Ports L und R können beide individuell konfiguriert werden. Dies wird durch die Uhren dargestellt. **(C,D)** wie **(A,B)** aber für die Versuchsanordnung distal. Der Belohnungsport befindet sich auf der gegenüberliegenden Seite der operanten Ports.

außerdem mehr Zeit und Mühe investieren, um von den operanten Ports zum konsumatorischen zu gelangen. Die Belohnungen waren 5 Sekunden verfügbar. Dies wurde durch einen Signalton indiziert. Bewegten sich die Versuchstiere nicht innerhalb der Zeit zum konsumatorischen Port, galt die Belohnung als verpasst und konnte nicht mehr abgeholt werden (*omission*). Abbildung 3.3D zeigt sowohl ein Foto als auch eine Skizze des Setups.

3.3 Operation und Implantation der Kanülen

Um die Bedeutung des präfrontalen Kortex bei Entscheidungsprozessen zu untersuchen, wurden den Versuchstieren Kanülen mit einem Durchmesser von 0,5 mm (C315G, PlasticsOne, Roanoke, VA, USA) implantiert, über die man intrazerebral pharmakologische Substanzen verabreichen konnte.

Drei bis fünf Tage vor der Operation erhielten die Ratten 75 mg Enrofloxacin in 260 ml Trinkwasser. Wegen des bitteren Geschmacks des Antibiotikums, wurden dem Trinkwasser 10 ml 5 % Glucose-Lösung hinzugefügt, um zu gewährleisten, dass die Tiere bereits präoperativ eine adäquate Menge des Medikaments erhalten hatten. Außerdem wurden die Ratten schon vor der Operation an den Geschmack von Fruchtjoghurt gewöhnt, da

ihnen dieser nach der Operation als weiche und energiereiche Nahrung zur Verfügung stand.

Das zu operierende Tier erhielt zunächst eine Inhalationsnarkose mit einem Gasgemisch von Sauerstoff und Isofluran. Anschließend wurde das Operationsgebiet mithilfe eines Rasierers und Enthaarungscreme enthaart. Die Ratte erhielt zur Erhaltung der Narkose intraperitoneal $750 \mu\text{l kg}^{-1}$ KG Medetomidin ($0,15 \text{ mg kg}^{-1}$), Fentanyl ($0,005 \text{ mg kg}^{-1}$) und Midazolam ($2,0 \text{ mg kg}^{-1}$), das bereits zuvor in einer Mischspritze vorbereitet worden war.

Als das Tier schlief und keine Reflexe mehr auslösbar waren, wurde die Ratte auf dem Operationstisch in einem stereotaktischen Rahmen eingespannt, die Kopfhaut wurde desinfiziert und geöffnet. Anhand der stereotaktischen Koordinaten (Dalton et al., 2016) wurden die Kanülen im medialen präfrontalen Kortex implantiert. Ausgehend von Bregma ließen sich so mithilfe des Mikromanipulators die Implantationsstellen finden. Diese wurden markiert und nachdem jeweils drei Schrauben zur Stabilisierung in die Kalotte eingeführt wurden, fand die Kraniotomie statt. Die 5 mm (SW1-SW3) und die 6 mm (SW4-SW12) langen Kanülen wurden jeweils im 10° Winkel und 3,1 mm ab der Dura Mater implantiert.

Während der Operation wurden alle 20 Minuten die Reflexe der Ratte überprüft. Zum Ende der Operation wurden den Versuchstieren 10 mg kg^{-1} KG Enrofloxacin, 4 mg kg^{-1} KG Carprofen und $250 \mu\text{l}$ des Antagonisten des Anästhetikums verabreicht. Dieser bestand aus den Substanzen Atipamezol ($0,75 \text{ mg kg}^{-1}$), Flumazenil ($0,2 \text{ mg kg}^{-1}$) und Naloxon ($0,12 \text{ mg kg}^{-1}$). Während der Operation erhielten die Ratten zwischen 10 ml bis 18 ml isotonischer Kochsalzlösung oder 5 %ige Glucose Lösung als Flüssigkeitssubstitution und zur Aufrechterhaltung des Kreislaufs und des Metabolismus. Die pharmakologischen Substanzen wurden subkutan verabreicht. Zusätzlich zur Überprüfung der Reflexe wurde kontinuierlich die Temperatur über ein rektales Thermometer gemessen. Es wurde darauf geachtet, dass die gemessene Temperatur nicht unter 36°C fiel, indem sowohl die Temperatur des Wärmekissens, auf dem die Ratte lag angepasst wurde und die Ratte während der Operation zugedeckt wurde. Des Weiteren lag sie auf einer Windel, sodass sie trotz Wasserlassens trocken lag und nicht auskühlte. In der Aufwachphase stand der Käfig des Tieres auf einem Wärmekissen bis das sich dieses wieder selbst aufrichten konnte (Stellreflex). Letzterer Punkt war vor allem deshalb wichtig, damit die Ratte nicht unterkühlt.

Der Käfig der Ratte wurde am Tag und in der Nacht nach der Implantation statt mit Einstreu mit Tüchern ausgekleidet. Dies diente dazu, dass die noch nicht ganz wache Ratte nicht die Einstreu aspiriert. In der Nacht nach der Operation wurden der Ratte Joghurt, Wasser und Nüsse angeboten, damit sie zeitnah regeneriert. Die nächsten sieben Tage erhielt die Ratte weiterhin 75 mg Enrofloxacin in 290 ml Trinkwasser. Den 290 ml Trinkwasser waren wie bereits präoperativ weitere 10 ml 5%ige Glucose-Lösung zugesetzt. Die Ratten erhielten an den Folgetagen ebenfalls Carprofen. In Anhang A.2 findet sich eine ausführliche Tabelle der verwendeten pharmakologischen Substanzen.

3.4 Applikation der pharmakologischen Substanzen

Für die Experimente, die in Kapitel 6 und 8 beschrieben wurden, wurde den Versuchstieren intrazerebral Muscimol verabreicht. An Testtagen, die eine pharmakologische Applikation erforderten, wurden die Versuchstiere für 5 Minuten bis 15 Minuten in eine Narkoseeinleitungskammer gesetzt, in der sie mit Isofluran (1,5 % bis 2,5 % in reinem Sauerstoff) betäubt wurden. Nach ausreichender Sedierung wurde die Anästhesie außerhalb der Kammer über eine Gesichtsmaske aufrechterhalten.

Intrazerebrale Infusion

Die Verschlüsse der intrazerebralen Kanülen wurden entfernt und es wurde eine ein Millimeter längere Infusionskanüle eingeführt. Die Infusionskanüle war über einen feinen Schlauch mit einer 10 µl Hamilton Injektionsspritze verbunden, die in eine Infusionspumpe eingelegt war. Es wurden entweder in physiologischer Kochsalzlösung gelöstes Muscimol [1 mg ml^{-1}], das bei -18°C gelagert wurde, oder die äquivalente Menge Kochsalzlösung infundiert. Die Flussrate betrug jeweils 0,25 ml/min.

Die Tiere reagierten individuell unterschiedlich sensibel auf das Muscimol, sodass die Versuche mit unterschiedlichen Dosen (0,15 µl bis 0,5 µl) durchgeführt wurden. Für die anschließenden Analysen wurde dies berücksichtigt, indem die Daten für die verschiedenen Dosen für jedes Tier separat analysiert wurden. Bevor die Infusionskanüle nach erfolgter Infusion entfernt wurde, wurde sie für eine weitere Minute belassen, um zu gewährleisten, dass die infundierte Lösung vollständig in das Gehirn diffundieren konnte. Anschließend wurden die Versuchstiere wieder in ihre Käfige gesetzt, um wach zu werden und sich von der Narkose zu erholen. Die Testungen fanden 45 Minuten nach Ende der Narkose statt. Muscimol supprimiert für bis zu 9 Stunden die neuronale Aktivität (Krupa, Ghazanfar und Nicolelis, 1999).

3.5 Tötung und Histologie

Nachdem die Experimente abgeschlossen waren, wurde den Versuchstieren in die intrazerebralen Kanülen 0,025 % Evans Blue infundiert um deren Lokalisation zu verifizieren. Nach ungefähr 30 Minuten wurden die Ratten mit einer Mischung aus Ketamin / Xylazin anästhesiert. Nach Sicherstellung der vollständigen Anästhesie der Tiere kam es zur tierrechtgerechten Tötung durch Thoraxeröffnung und Entbluten. Anschließend wurden sie mit 4 % Paraformaldehyd fixiert. Die Gehirne wurden entnommen und ebenfalls für einige Tage in 4 % Paraformaldehyd fixiert. Anschließend wurden sie für 2 Tage bis 3 Tage in eine 30 % Sucrose Lösung eingebettet um anschließend eingefroren und in 100 µm dünne Scheiben geschnitten zu werden. Vor der Befestigung auf Objektträgern wurde jeder zweite Hirnschnitt mit Kresylviolett (Nissl) eingefärbt. Die übrigen Hirnschnitte wurden nicht eingefärbt, damit man die mit Evans Blue markierten Regionen unter dem Fluores-

zenz Mikroskop visualisieren kann (Abbildungen 3.4A und 3.4B). Abbildung 3.4C zeigt exemplarisch, dass die Kanülenspitzen der ersten Kohorte im mPFC lokalisiert waren. Die Lokalisation der Kanülen der übrigen Versuchstiere sind in Anhang A.3 zu finden.

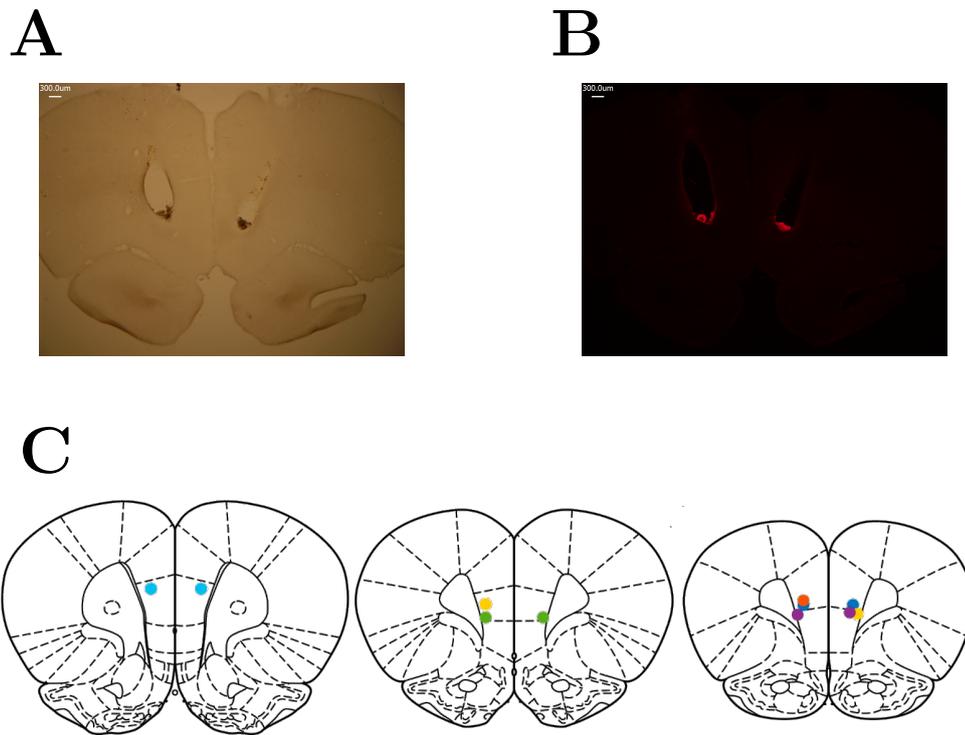


Abbildung 3.4: Lokalisation der intrazerebralen Kanülen. (A) zeigt einen ungefärbten Hirnschnitt eines Tieres, (B) die fluoreszierende Darstellung desselben Hirnschnitts. (C) Lokalisation der intrazerebralen Kanülen in Ratten SW1 ●, SW2 ●, SW3 ●, SW4 ●, SW5 ● und SW6 ●. Entnommen aus Stoilova, Wette und Stüttgen (2019).

3.6 Analysen und statistische Auswertung

Die statistische Analyse der Daten erfolgte mit dem Zweistichproben t-Test und ANOVA. Die abhängigen Variablen hierbei waren vorrangig $P(RF_L)$ und $P(R_L)$. Die Daten wurden mit Matlab (Version R2021A) analysiert und die Grafiken mit GIMP sowie Inkscape angefertigt.

Kapitel 4

Initiales Lernen

In diesem Kapitel wird untersucht, ob das hier vorgestellte Paradigma schnell zu erlernen ist. Wasserrestringierte Ratten werden in zwei Kohorten, die unterschiedliche Assoziation erlernen müssen mit dem kompletten Versuchsaufbau konfrontiert.

Für eine bessere Übersicht werden in diesem Kapitel die Methodik, die Daten und die Diskussion der zwei Kohorten in separaten Abschnitten aufgeführt.

4.1 Methodik Kohorte 1

Die erste Kohorte (SW1-SW6) wird in der Versuchsanordnung proximal (Abbildung 3.3B) getestet. Die Versuchstiere sollen die Assoziation erlernen, dass ihr operantes Verhalten die Freigabe einer Belohnung bewirkt. Abbildung 4.1 zeigt, dass die Tiere ihre Schnauze in den linken oder rechten Port stecken mussten (*poke*) um damit eine Belohnung im Centerport auszulösen. Die genauen Belohnungskontingenzen unterscheiden sich zwischen den Tieren und sind in Tabelle 4.1 aufgeführt. Die Tiere wurden mit einem COD von 0,4 Sekunden und einer Belohnungsdauer von 0,5 Sekunden getestet. Jeweils zwei Tiere wurden mit identischen Belohnungswahrscheinlichkeiten konfrontiert.

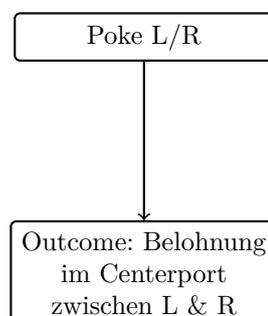


Abbildung 4.1: Schematische Darstellung der zu erlernenden Assoziationen. Initiale Assoziation in der Versuchsanordnung proximal.

Tabelle 4.1: Versuchsparameter des initialen Lernversuchs. RI_L sowie RI_R geben die programmierten Belohnungsintervalle für den linken und rechten Port an. Die Spalte $\frac{L}{L+R}$ gibt die erwartete Belohnungswahrscheinlichkeit für den linken Port gemessen an der Gesamtbelohnungsmenge an. Nach Stoilova, Wette und Stüttgen (2019)

Ratten #	RI_L [s]	RI_R [s]	$\frac{L}{L+R}$	COD [s]	Belohnung [s]
1/2	10	30	0,75	0,4	0,5
3/4	30	30	0,50	0,4	0,5
5/6	45	15	0,25	0,4	0,5

4.2 Ergebnisse Kohorte 1

Allgemeine Beobachtung der Tiere Nachdem die Versuchstiere in die Skinnerbox gesetzt wurden, zeigten sie ausgeprägtes exploratives Verhalten, was sich vor allem im Schnüffeln und in der Erkundung der Skinnerbox zeigte. Nach wenigen Minuten begannen sie damit ihre Schnauzen in alle 3 Mulden zu stecken.

Datenanalyse und statistische Evaluation Abbildung 4.2A zeigt exemplarisch die erste Trainingssession eines Tieres. In dieser Trainingssession beträgt das RI des rechten Ports (rot) 10 s und des linken Ports (blau) 30 s. Das Tier lernt binnen weniger Minuten, dass es durch sein operantes Verhalten Belohnungen auslösen kann. Dies wird dadurch angezeigt, dass das Tier vermehrt dieses Verhalten zeigt. Ebenfalls steigert es seine Aktivität am rechten, ertragsstärkeren Port innerhalb von 20 Minuten (Pfeilmarkierung).

Die Veränderung der Präferenz war auch bei den weiteren fünf Tieren ähnlich. Abbildung 4.2D zeigt die kumulative Anzahl der Belohnungen der sechs Tiere über die ersten drei Trainingstage. Alle Tiere konnten bereits am ersten Trainingstag Belohnungen erzielen. Die Anzahl der erhaltenen Belohnungen pro Trainingstag steigt zudem. Aus der statistischen ANOVA Auswertung, die die Anzahl an kumulativen Belohnungen im 10-Minuten-Takt zur Grundlage hat, geht zudem hervor, dass der Anstieg der erhaltenen Belohnungen am ersten und am zweiten Training signifikant sind. Dies bedeutet, dass die Tiere sich jeweils innerhalb ihrer ersten und zweiten 1-Stunden-Trainingssitzungen signifikant verbessern konnten. Während des dritten Trainings konnten sie zwar weiterhin ihre erhaltenen Belohnungen steigern, der Anstieg war aber nicht signifikant. Dies indiziert, dass die Tiere bereits nach der zweiten Trainingssession eine maximale Leistung in der Aufgabe erzielten. ($n = 6$; ANOVA mit Messwiederholungen, ermittelt über 10-min bins; Tag 1: $F(5,25) = 2,9$, $p = 0,035$; Tag 2: $F(5,25) = 6,1$, $p = 0,0008$; Tag 3: $F(5,25) = 1,2$, $p = 0,324$).

Um zu zeigen, dass die Tiere nicht nur über die initialen Trainingssessions die Anzahl ihrer Belohnungen steigern, sondern auch ihre erhaltenen Belohnungen in Relation zur maximal verfügbaren Anzahl an Belohnungen (ihre Trainingsleistung) über mehrere Tage verbessern konnten, wurde jeweils die Belohnungs-Effizienz für die Tiere ermittelt. Die

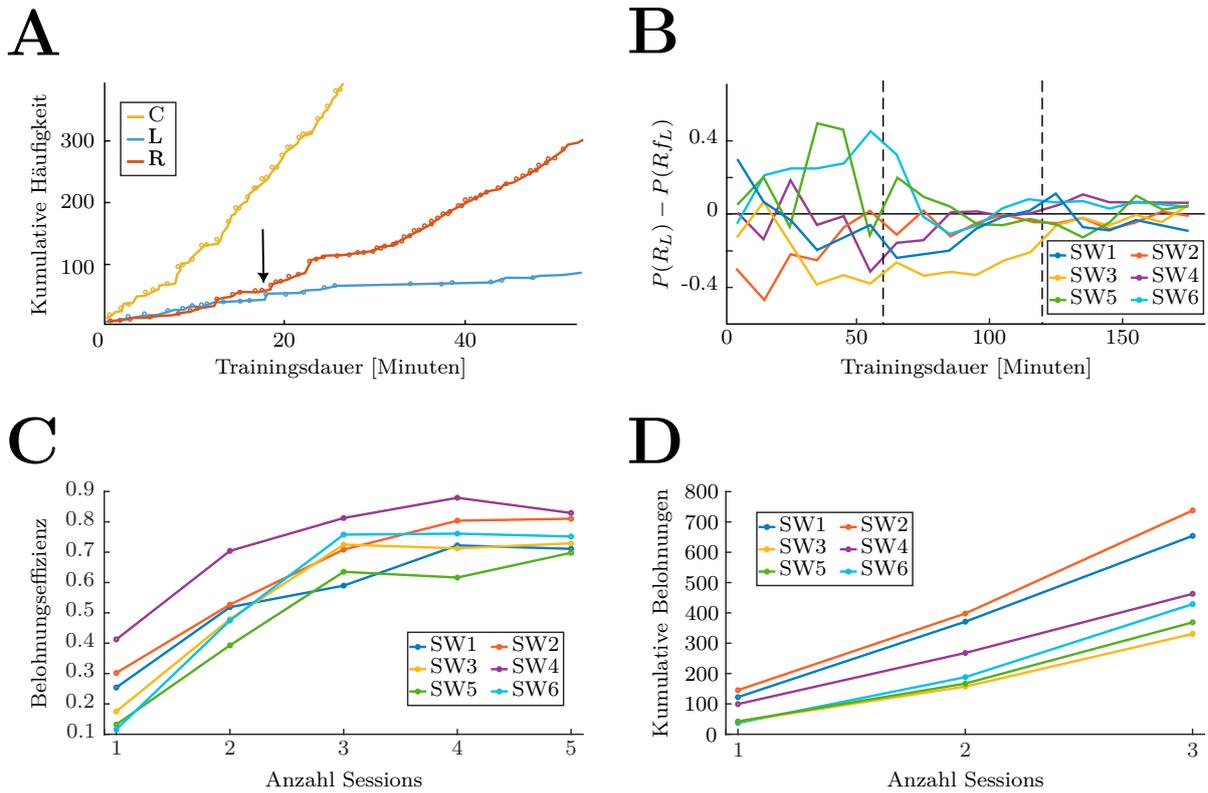


Abbildung 4.2: **(A)** Kumulative Anzahl operanten Verhaltens in 1-min Intervallen für Pokes in den linken (blau), rechten (rot), und mittleren Belohnungsort (gelb). Exemplarisch für ein Tier am 1. Testtag. **(B)** Relative Antworthäufigkeit $P(R_L)$ nachdem die programmierte Belohnungswahrscheinlichkeit $P(Rf_L)$ subtrahiert wurde, um hervorzuheben, dass alle Tiere ihr Verhalten gemäß der programmierten Belohnungswahrscheinlichkeit nach 3 Trainingstagen anpassen konnten (horizontale Linie entspricht *perfect matching*) **(C)** Belohnungseffizienz aller 6 Versuchstiere **(D)** und kumulative Belohnungen.

Belohnungseffizienz errechnet sich als Quotient der tatsächlich erhaltenen Belohnungen durch die maximal verfügbaren Belohnungen.

Abbildung 4.2C verdeutlicht, dass alle Tiere über die ersten fünf Trainingssessions ihre Belohnungs-Effizienz deutlich steigern konnten und alle Tiere in der fünften Session über 70 % der maximal verfügbaren Belohnungen erhalten haben.

In Abbildung 4.2B (Analyse durchgeführt durch Stüttgen, siehe Stoilova, Wette und Stüttgen (2019)) ist zu sehen, dass die Tiere anfangs mehr oder weniger zufällig eine Präferenz für einen Port entwickelten. Allerdings konnten sie im Verlauf des zweiten Trainings eine klare Präferenz für den ertragsstärkeren Port entwickeln. Dieses Verhalten ist konform zu dem von Herrnstein beschriebenen Matching Law.

4.3 Diskussion Kohorte 1

Alle Tiere erzielten durch spontanes Verhalten (Poking) innerhalb weniger Minuten Belohnungsgaben. Die Häufigkeit des Pokings nahm innerhalb kürzester Zeit stark zu, die relative Häufigkeit der Besuche an den beiden Nose Ports entsprach in etwa der relativen Häufigkeit der dort verfügbaren Belohnungen. Somit ermöglicht das Paradigma ein schnelles Training des operanten Verhaltens. Insgesamt entspricht das hier vorgestellte Paradigma der Anforderung, dass es schnell zu erlernen ist und natürliches Verhalten abbildet.

4.4 Methodik Kohorte 2

Die zweite Kohorte (SW7-SW12) wurde in der Versuchsanordnung distal (Abbildung 3.3D) getestet. Kohorte 2 sollte eine andere Assoziation (Abbildung 4.3) erlernen als Kohorte 1. Die Tiere müssen ihre Schnauzen in den linken beziehungsweise rechten Port stecken. Wenn nach diesem operanten Verhalten ein akustisches Signal ertönte, war dies der Indikator dafür, dass sie im Centerport an der gegenüberliegenden Seite eine Belohnung abholen konnten.

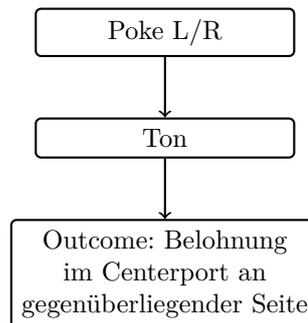


Abbildung 4.3: Schematische Darstellung der zu erlernenden Assoziationen. Geänderte Assoziation in der Versuchsanordnung distal.

Die Tiere der zweiten Kohorte wurden alle mit denselben Parametern getestet und lediglich die Freigabe der Belohnung unterschied sich. In den ersten 3 Tagen erfolgte bei allen Tieren eine automatische Belohnungsgabe. Das bedeutet, dass wenn die Tiere in den operanten Ports eine Belohnung auslösten, diese automatisch an den Belohnungsport abgegeben wurde, ohne dass die Tiere sich diese in einer limitierten Zeit abholen mussten. In den weiteren Tagen hatten die Tiere nach Freischaltung der Belohnung nur eine limitierte Zeit zur Verfügung, um diese abzuholen, da diese sonst nicht mehr verfügbar war.

4.5 Ergebnisse Kohorte 2

Allgemeine Beobachtung der Tiere Auch die Versuchstiere dieser Kohorte zeigten in der Skinnerbox ausgeprägtes exploratives Verhalten. Am ersten Testtag erfolgte bei allen Tieren eine automatische Belohnungsgabe. Das bedeutet, dass wenn die Tiere in den operanten Ports eine Belohnung auslösten, diese automatisch an den Belohnungsport abgegeben wurde, ohne dass die Tiere sich diese in einer limitierten Zeit abholen mussten. An dem ersten Testtag konnte kein einziges der Versuchstiere die Aufgabe erfolgreich lösen. Die Versuchstiere führten nach wenigen Minuten das operante Verhalten an allen drei Ports durch (siehe Abbildung 4.4). Allerdings konnten sie keine einzige Belohnung erhalten. Sie stellten das operante Verhalten ein und saßen nahezu regungslos in der Mitte der Skinnerbox. Daraufhin wurde am zweiten Testtag die Belohnungswahrscheinlichkeit an den operanten Ports von 30 auf 10 Sekunden erhöht. Damit sollte die Wahrscheinlichkeit, dass die Tiere eine Belohnung auslösen gesteigert werden.

Das Tier, dessen operantes Verhalten in Abbildung 4.4C dargestellt wird, sucht nach ca. 35-40 Trainingsminuten nach einem Poke in den linken Port den Belohnungsport auf und erhält dort eine Belohnung. Daraufhin sucht es wieder den linken Port auf und aktiviert erneut durch sein operantes Verhalten eine Belohnung. Das operante Verhalten tritt in der Folge häufiger auf. Die restlichen Tiere konnten auch bei erhöhter Belohnungswahrscheinlichkeit keine Belohnung erzielen.

Aufgrund der Tatsache, dass die Kohorte 1 in der Versuchsanordnung proximal, nach wenigen Minuten die Aufgabe erlernen konnte, wurden zunächst alle anderen Tiere der Kohorte 2 für 1-3 Testungen in der Versuchsanordnung proximal trainiert.

Sobald die Tiere erfolgreich in diesem Versuchsaufbau Belohnungen erzielen konnten, wurden die Tiere in der Versuchsanordnung distal getestet. Sobald die Tiere auch in dieser Konfiguration zeigten, dass sie sich nach dem Belohnungsport wieder an die operanten Ports und anschließend an den konsumatorischen Port bewegten, wurde dies als qualitativer Indikator dafür gewertet, dass die Tiere die Aufgabe verstanden hatten.

Datenanalyse und statistische Evaluation Abbildung 4.5 zeigt die quantitative Analyse des Lernfortschritts in der Versuchsanordnung distal, nachdem die Tiere nach dem initialen Training in der Versuchsanordnung proximal erneut mit dem Versuchsaufbau distal konfrontiert wurden.

Alle Tiere konnten auch in dieser Versuchsanordnung ihre Belohnungseffizienz im Verlauf des Trainings steigern. Nachdem die Belohnung während der ersten Trainingssessions noch automatisch gegeben wurde, um die Tiere mit dem geänderten Versuchsaufbau vertraut zu machen, war nach Etablierung des kompletten Paradigmas die Belohnung für 5 Sekunden verfügbar, wie es auch schon bei Kohorte 1 der Fall war.

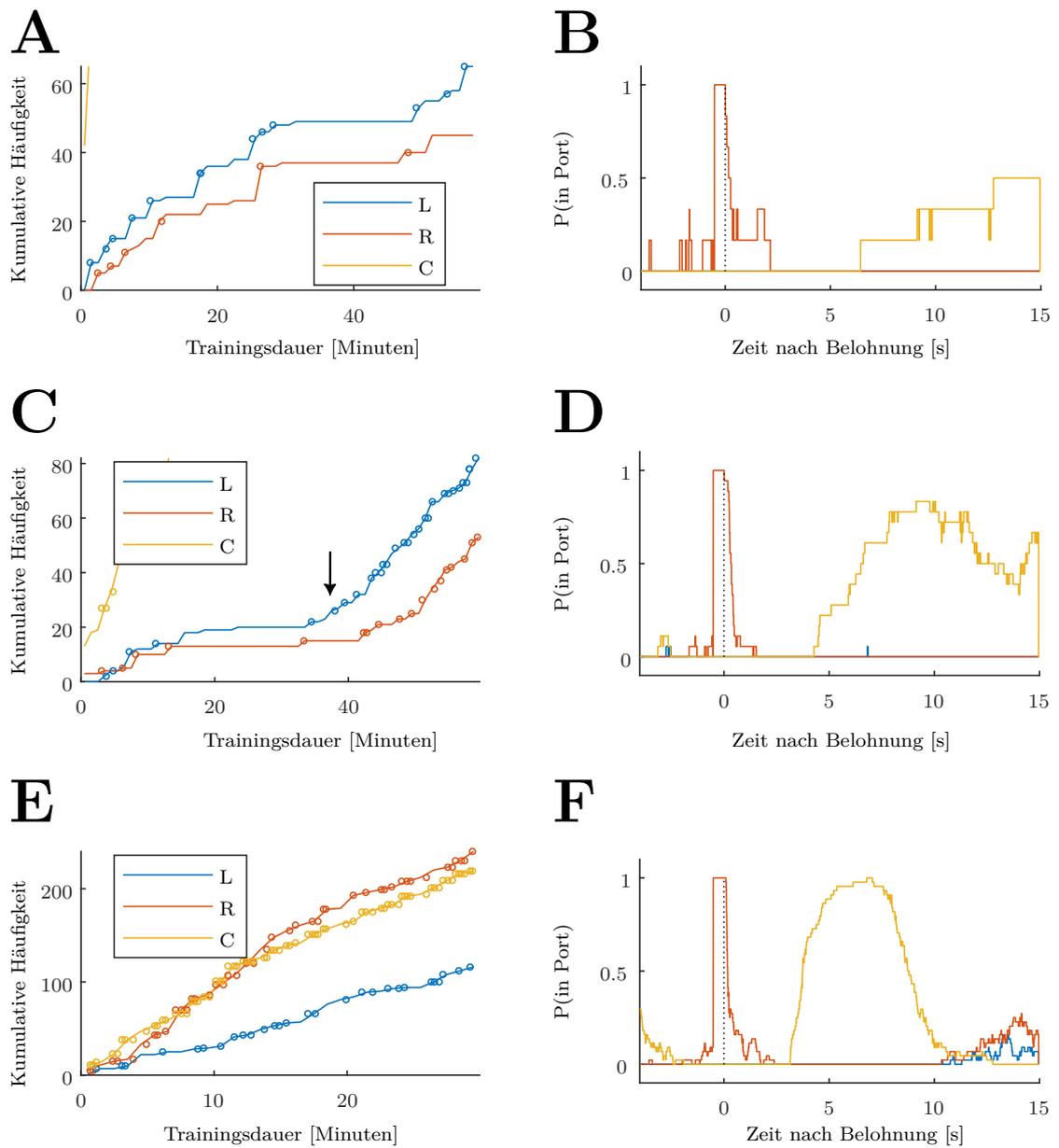


Abbildung 4.4: Initiales Lernen, Versuchsanordnung distal. **(A)** Initialer Lernversuch in der Versuchsanordnung distal. Die Belohnungen werden automatisch nach ihrer Freischaltung in den Belohnungsport gegeben. **(B)** Nach Auslösen der Belohnung (exemplarisch am rechten Port) bewegen sich die Tiere nicht zum Centerport. **(C)** Exemplarische Testung des Tieres, das am 2. Testtag durch sein operantes Verhalten Belohnungen erzielen konnte. Nach ca. 35 Minuten kann das Tier erfolgreich Belohnungen auslösen, indiziert durch den vermehrten Anstieg des operanten Verhaltens (Pfeil). **(D)** Das Tier bewegt sich nach Auslösen der Belohnung schneller und mit einer höheren Wahrscheinlichkeit zum Belohnungsport. **(E,F)** Das Tier detektiert den ertragsstärkeren (rechten) Port (vermehrtes Aufsuchen dieses Ports im Vergleich zum linken) und bewegt sich in 100% der Fälle innerhalb von 3 Sekunden zum Belohnungsport.

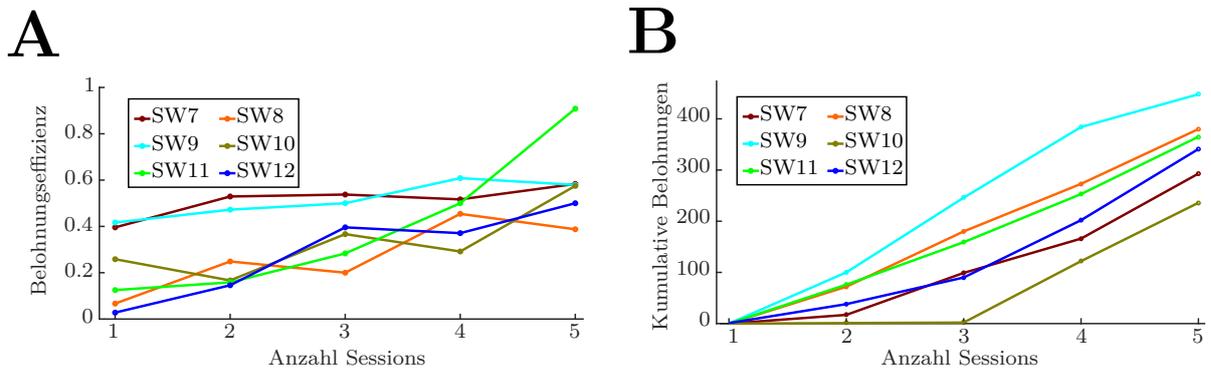


Abbildung 4.5: Belohnungseffizienz Kohorte 2 in der Versuchsanordnung distal. **(A)** Belohnungseffizienz aller 6 Versuchstiere **(B)** und kumulative Belohnungen. Alle Tiere konnten ihre Belohnungseffizienz und ihre kumulativen Belohnungen im Verlauf des Trainings steigern. Wie Abbildungen 4.2C und 4.2D, nur für Kohorte 2.

4.6 Diskussion Kohorte 2

Nachdem Kohorte 1 innerhalb von wenigen Minuten das Paradigma gelernt hatten, war nicht zu erwarten, dass die zweite Kohorte Schwierigkeiten mit der geänderten Konfiguration des Paradigmas haben würde. Allerdings konnten die Tiere, konfrontiert mit dem kompletten, veränderten Versuchsaufbau (Versuchsanordnung distal), zunächst keine Belohnungen erzielen und stellten ihr operantes Verhalten bei fehlender positiver Verstärkung ein. Möglicherweise konnten die Tiere nicht assoziieren, dass ihr operantes Verhalten mit der Belohnungsgabe in Zusammenhang stand. Dies führten wir zum einen auf die räumliche Distanz zwischen operanten und konsumatorischen Port zurück. Möglicherweise schien es für die Versuchstiere einen Widerspruch darin zu geben, dass es offensichtlich im Belohnungsport Wasser gibt, sie sich jedoch von dem Ort der Belohnung wegbewegen mussten, um an den operanten Ports eine erneute Belohnung auslösen zu können. Zum anderen erfolgte an den ersten Versuchstagen die Ausgabe der Belohnung automatisch, um die Tiere mit dem Versuchsaufbau vertraut zu machen. So musste es für die Ratten gewirkt haben, als sei das Wasser immer zufällig im Belohnungsport, wenn sie sich nach beliebig langer Zeit nach dem Auslösen der Belohnung dort aufhielten.

Dies führte dazu, dass die Versuchstiere statt einem Training, zwei bis vier Trainings benötigten, um in dem Paradigma Belohnungen zu erhalten. Als aber die erforderliche Assoziation gelernt war, adaptierten sie ihr Verhalten und steigerten über die Testtage ihre erhaltenen Belohnungen und ihre Belohnungseffizienz.

Kapitel 5

Adaptation an verschiedene Belohnungskontingenzen

Für das in der Einleitung erwähnte Ziel, perspektivisch elektrophysiologische Einzelzellableitungen in einem Verhaltensparadigma erfassen zu können, ist es vorteilhaft, wenn mehrere Bedingungswechsel in einer einzigen Trainingssession stattfinden. Dies ist deshalb eine wünschenswerte Bedingung, damit man gezielt Neuronenaktivität während eines Lernprozesses beobachten kann. Im folgenden Kapitel wird ein Versuch beschrieben, der das Anpassungsverhalten der Versuchstiere an verschiedene Belohnungskontingenzen untersucht. Bei drei der Versuchstiere soll getestet werden, ob sie ihr Verhalten gemäß des *Matching Laws* anpassen. Mit drei anderen Versuchstieren soll getestet werden, wie schnell sie sich an geänderte Belohnungskontingenzen anpassen können.

5.1 Methodik

Kohorte 1 wurde in zwei Subkohorten aufgeteilt (Subkohorte 1: SW1-SW3, Subkohorte 2: SW4-SW6). Die erste Subkohorte wurde über jeweils drei Trainingstage mit derselben Belohnungskontingenz getestet. Die Belohnungskontingenzen der individuellen Tiere sind in Tabelle 5.1 abgebildet.

Tabelle 5.1: Belohnungskontingenzen Subkohorte 1. Abgebildet sind die Verstärkerpläne der Subkohorte 1 im hier beschriebenen Versuch. Jede Zeile zeigt die jeweiligen Verstärkerpläne der Tiere über die 15 Trainingstage. Nach Stoilova, Wette und Stüttgen (2019).

Tag	SW1		SW2		SW3	
	RI _L [s]	RI _R [s]	RI _L [s]	RI _R [s]	RI _L [s]	RI _R [s]
1-3	45	15	15	45	30	30
4-6	15	45	45	15	5	55
7-9	55	5	5	55	55	5
10-12	5	55	55	5	15	45
13-15	30	30	30	30	45	15

Die zweite Subkohorte erhielt einen Versuchsplan, mit dem getestet wurde, wie schnell sich die Versuchstiere an geänderte Bedingungen adaptieren können. Tabelle 5.2 zeigt die Anzahl der Kontingenzenwechsel pro Trainingseinheit (*Session*). In den weiß hinterlegten Bereichen ändert sich jeweils am 3. Testtag die Belohnungskontingenz (seltener Wechsel). In den hellgrau hinterlegten Bereichen wechselt die Belohnungskontingenz täglich (moderater Wechsel) und in den dunkelgrau hinterlegten Bereichen dreimal pro Training (häufiger Wechsel).

Tabelle 5.2: Wechsel der Belohnungskontingenzen Subkohorte 2. Die Tabelle zeigt die Anzahl der Wechsel der Belohnungskontingenz (0: kein Wechsel an diesem Tag). Die Belohnungskontingenz änderte sich täglich (hellgrau hinterlegt), einmal alle drei Tage (weiß hinterlegt) und dreimal täglich (dunkelgrau hinterlegt). Nach Stoilova, Wette und Stüttgen (2019).

Ratte/Tag	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
SW4	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1	1	1	1	1	3	3	3	3	3
SW5	3	3	3	3	3	1	1	1	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1
SW6	1	1	1	1	1	3	3	3	3	3	0	0	1	0	0	1	0	0	1

5.2 Ergebnisse

In den drei Tagen, die dieselbe Belohnungskontingenz aufwiesen, passten die drei Tiere der Subkohorte 1 ihr operantes Verhalten der eingestellten Belohnungskontingenz an. Die Wahrscheinlichkeit den linken Port ($P(R_L)$) (P für englisch *probability*: Wahrscheinlichkeit, R für englisch *response*) statt des rechten Ports ($P(R_R)$) zu wählen gleicht sich der eingestellten Wahrscheinlichkeit an, dass das operante Verhalten am linken Port $P(Rf_L)$ (Rf für englisch *reinforcement*) belohnt wird. Dieses Verhalten wird so vom Matching Law prognostiziert (siehe Gleichung (2.2)). Abbildung 5.1A zeigt dies exemplarisch für ein Versuchstier. Die Auswertungen der anderen beiden Versuchstiere findet sich in Abbildung A.1.

Abbildung 5.1B zeigt das Anpassungsverhalten der drei Versuchstiere unter der Verwendung des *Generalized Matching Law* (siehe Gleichung (2.3)). Alle Tiere zeigten ein *Undermatching* (Steigung < 1 : SW1: Steigung = 0,61 Achsenabschnitt = 0,001; SW2: Steigung = 0,64 Achsenabschnitt = 0,06; SW3: Steigung = 0,62 Achsenabschnitt = 0,07). Erfasst wurden jeweils die Trainingsdaten des 3. Testtages eines Kontingenzenblockes.

Die zweite Subkohorte hat ihr operantes Verhalten ebenfalls der eingestellten Belohnungswahrscheinlichkeit angepasst. Abbildung 5.2 zeigt das Anpassungsverhalten dieser Tiere während der 19 Trainingstage.

Die Tiere können auch bei häufigem Bedingungswechsel ihr Verhalten flexibel an die geltenden Bedingungen adaptieren.

Anhand Abbildung 5.2 wird deutlich, dass die Versuchstiere während der 19 Trainingstage dynamisch ihr operantes Verhalten (Maß dafür: $P(R_L)$) der sich wechselnden

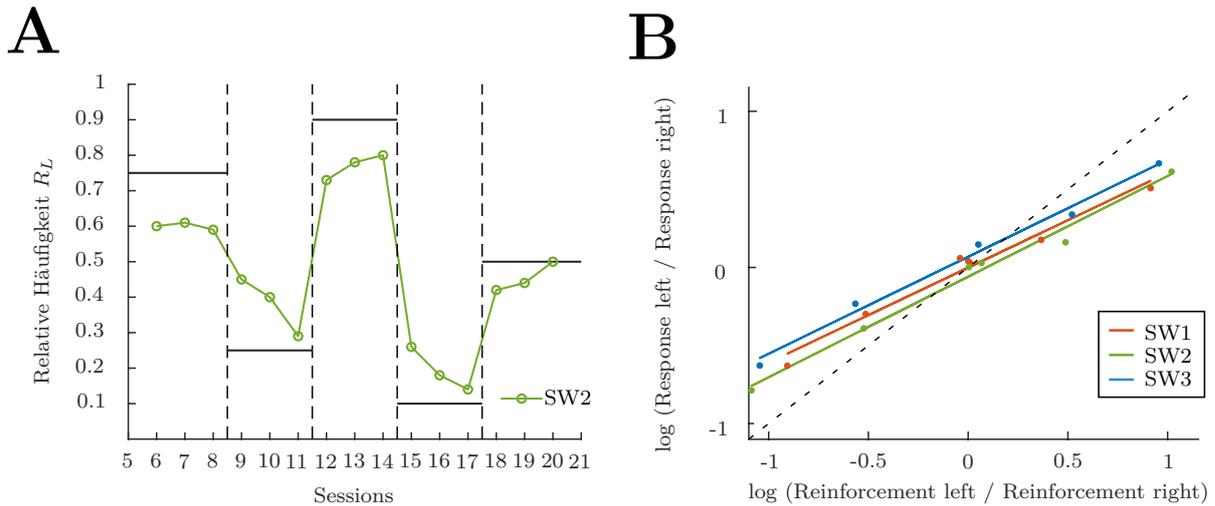


Abbildung 5.1: Adaptation an unterschiedliche Belohnungskontingenzen. **(A)** Exemplarisches Verhalten eines Versuchstiers. Die vertikal gestrichelten Linien zeigen die jeweiligen Kontingenzwechsel an. Die horizontalen Linien zeigen perfektes Matching Verhalten an. Die Kreise stehen dabei jeweils für die Performance im Training. Das Tier passt sein operantes Verhalten $P(R_L)$ an die eingestellte Belohnungskontingenz $P(Rf_L)$ an. **(B)** Jeder Graph zeigt das Verhalten eines individuellen Tiers. Die Winkelhalbierende zeigt perfektes Matching. Kein Tier passt sein operantes Verhalten exakt der eingestellten Belohnungskontingenz an. Alle Tiere „undermatchen“ (Steigung <1). Erfasst wurden jeweils die Trainingsdaten des 3. Testtages eines Kontingenzblockes.

Belohnungskontingenzen ($P(Rf_L)$) anpassen, unabhängig davon, wie häufig ein Wechsel stattfand (nach 20, 60 oder nach 180 Minuten).

Es wurde die Adaptation an geänderte Belohnungskontingenzen bei seltenem, moderaten und häufigen Bedingungswechseln analysiert (Analyse durchgeführt durch Stoilova, siehe Stoilova, Wette und Stüttgen (2019)). Es wurde die Wahrscheinlichkeit, den linken Port zu wählen 15 Minuten vor und nach dem Bedingungswechsel untersucht. Unter allen 3 Bedingungen adaptieren die Tiere ähnlich schnell ihr Verhalten an die geänderten Gegebenheiten.

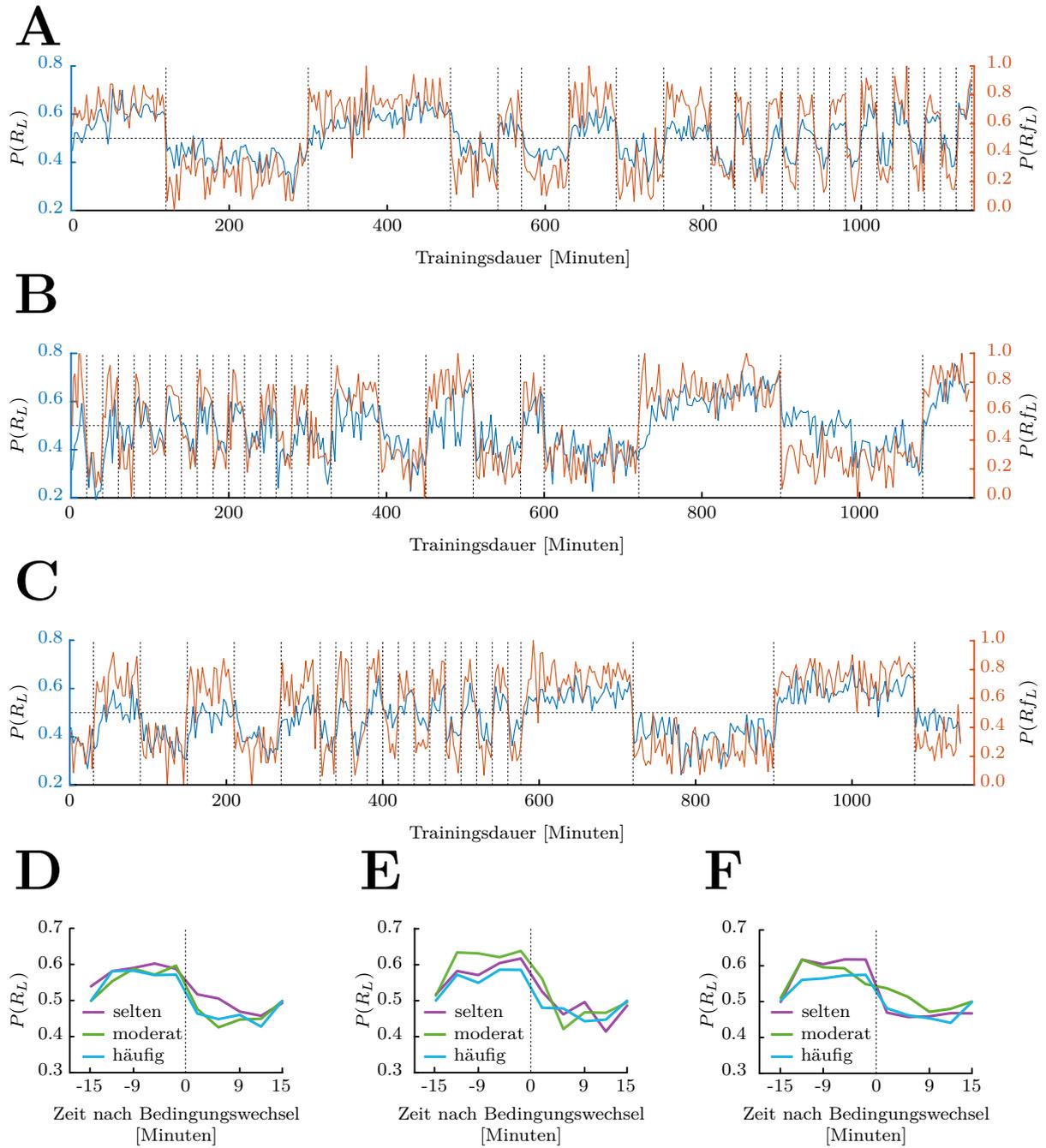


Abbildung 5.2: **(A-C)** Anpassung der Tiere SW4-SW6 an unterschiedlich häufige Kontingenzwechsel über 19 Trainingssessions mit einer Granularität von 10 Minuten. Die Daten aller 3 Tiere sind separat abgebildet. Der rote Graph zeigt die jeweils eingestellte Belohnungskontingenz $P(R_{fL})$, der blaue Graph das operante Verhalten $P(R_L)$. **(D-F)** Wahrscheinlichkeit den linken Port zu wählen, vor und nach einem Bedingungswechsel. Auswertung des Anpassungsverhaltens der Versuchstiere SW4-SW6 bei seltenem, moderaten und häufigem Bedingungswechsel. Der Bedingungswechsel wird durch die gestrichelte vertikale Linie angezeigt. Nach Stoilova, Wette und Stüttgen (2019).

5.3 Diskussion

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, dass die Versuchstiere flexibel ihr Verhalten an sich ändernde Belohnungskontingenzen anpassen können, ohne dass hierfür weiteres Training erforderlich wäre. Außerdem lässt sich feststellen, dass die Adaptation an die geänderten Bedingungen meist innerhalb einer Trainingssession erfolgt. Iigaya et al. (2017) zeigten, dass es durchaus für die Tiere sinnvoll sein kann, wenn sie undermatchen. Wenn die Bedingungen häufig wechseln, konnten Versuchstiere durch das Undermatching sogar mehr Belohnungen erhalten, als wenn sie ihr Verhalten gemäß des Matching Laws exakt anpassen würden. Um gezielt Neuronenaktivität während eines Lernprozesses zu untersuchen ist es vorteilhaft, wenn mehrere Kontingenzwchsel in einer Trainingssession stattfinden. Izquierdo, Brigman et al. (2017) untersuchten in einer Metaanalyse die Forschung zur kognitiven Flexibilität und stellten dabei fest, dass in den meisten Publikationen lediglich ein Bedingungswechsel pro Trainingssession stattfand. Auch in den Publikationen von Bathellier et al. (2013) und Dalton et al. (2016) wurde die kognitive Flexibilität von Nagern untersucht, um Erkenntnisse über die Funktion des präfrontalen Kortex zu erlangen. Allerdings zeigte sich in diesen Studien, dass die Versuchstiere mehrere Trainingssessions benötigten, um die Entscheidungsaufgaben zu lösen. In den oben beschriebenen Versuchen hatten die Tiere bis zu drei Kontingenzwchsel in einer einzigen Trainingssession. Die anfängliche Hypothese lautete, dass sich Tiere in einer schnell ändernden Umgebung schneller adaptieren können als Tiere, bei denen sich die Umgebungsbedingungen selten ändern. Aus Abbildung 5.2 wird ersichtlich, dass es keinen Unterschied in der Zeit der Adaptation macht, wie häufig die Bedingungswechsel erfolgen. Wir hätten erwartet, dass sich Tiere in einer schnell ändernden Umgebung auch schneller anpassen können. Experimentell hätte sich dies in einer steileren Anpassung bei häufigem Wechsel und einem gleichbleibenden Verhalten bei seltenem Wechsel gezeigt. Dies konnte experimentell (bei kleiner Kohortengröße) nicht bestätigt werden.

Das Paradigma wird dem Anspruch gerecht, dass es schnell zu erlernen ist. Zudem können die Versuchstiere ihr operantes Verhalten bereits am zweiten Trainingstag an die vorgegebene Belohnungskontingenz gemäß des Matching Laws anpassen. Es lassen sich mehrere Kontingenzwchsel pro Trainingssession implementieren, was verdeutlicht, wie schnell der Lernprozess in dem beschriebenen Paradigma abläuft.

Somit eignet sich das Paradigma auch hervorragend zur Untersuchung der Effekte pharmakologischer Manipulationen auf Anpassungsverhalten. Dies soll im nächsten Kapitel beleuchtet werden.

Kapitel 6

Adaptation bei inaktiviertem mPFC

In diesem Kapitel wird ein Experiment zur Fragestellung beschrieben, wie sich das Anpassungsverhalten der Versuchstiere bei inaktiviertem medialen präfrontalen Kortex (mPFC) verändert. In vorhergehenden Studien konnte gezeigt werden, dass der präfrontale Kortex bei Ratten mit dem Arbeitsgedächtnis, der Aufmerksamkeit, der Antworteinleitung (*response initiation*), der Steuerung von autonomen Prozessen und Emotionen in Verbindung steht (Heidbreder und Groenewegen, 2003). Die transiente Inaktivierung des mPFC sollte daher zu einer Veränderung des Adaptationsvermögens der Versuchstiere bei einer Entscheidungsaufgabe führen. Die Versuchstiere wurden in diesem Versuch in verschiedenen Versuchsanordnungen getestet, die der Übersicht halber in separaten Abschnitten aufgeführt werden.

6.1 Methodik Versuchsanordnung proximal

Um bei den Versuchstieren eine transiente Inaktivierung des mPFC zu erzeugen, wurde der GABA_A-Rezeptor Agonist Muscimol intrazerebral verabreicht, zur Kontrolle diente Saline (siehe Abschnitt 3.3). Die Versuchstiere wurden in der Versuchsanordnung proximal getestet. Die Tabelle 6.1 veranschaulicht den Aufbau einer Trainingssession.

Tabelle 6.1: Aufbau der 60-minütigen Session. Während des ersten und letzten Abschnitts konnte symmetrisch eine Belohnung ausgelöst werden, im mittleren Block war ein Port ertragsstärker.

Zeitabschnitt	Belohnung RI:RI[s]	Dauer [min]
1	45:45	25
2	15:45	25
3	45:45	10

6.2 Ergebnisse Versuchsanordnung proximal

Allgemeine Beobachtung der Tiere Die Tiere erwachten wenige Minuten nach Beendigung der Narkose, die für die intrazerebrale Infusion eingeleitet wurde. Nach Beendigung der Narkose wirkten die Tiere in ihren Käfigen psychomotorisch unauffällig. Die Testungen erfolgten 40 Minuten nach der Narkose.

Datenanalyse und statistische Evaluation Abbildung 6.1A zeigt exemplarisch das Verhalten eines Tieres beim Training nach Saline-Infusion. Im ersten Block des Trainings konnte von den Versuchstieren an beiden operanten Ports mit gleicher Häufigkeit eine Belohnung ausgelöst werden. Im zweiten Block konnte am rechten Port im Mittel dreimal häufiger eine Belohnung freigeschaltet werden als am linken. Ungefähr ab Minute 35 (also 10 Minuten nach dem Bedingungswechsel) ändert sich die Präferenz des Versuchstieres, was sich in einem steileren Anstieg der roten Kurve sowie einem flacheren Anstieg der blauen Kurve zeigt.

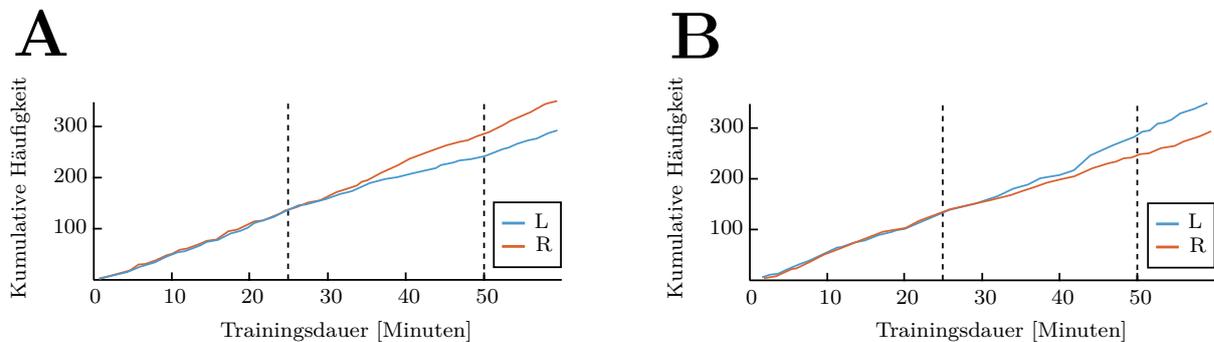


Abbildung 6.1: Adaptation an veränderte Bedingungen und Beteiligung des mPFC. **(A)** Exemplarische Trainingssession nach Saline und nach Muscimol-Infusion **(B)**. Die gestrichelten Linien zeigen jeweils einen Bedingungswechsel an. In der ersten Grafik ist im 2. Block der rechte Port ertragsstärker, in der zweiten Grafik der linke.

Abbildung 6.1B zeigt eine Trainingssession desselben Tieres nach bilateralen Muscimol-Infusion in den mPFC. Der ertragsstärkere Port im 2. Block ist hier der linke. Bei Betrachtung des Verhaltens fällt auf, dass das operante Verhalten ähnlich zu dem nach Saline-Infusion ist. Abbildung 6.2A zeigt die grafische Analyse der Daten der 6 Versuchstiere. Sowohl unter Muscimol als auch unter Saline kommt es zu einem veränderten Präferenzverhalten bezüglich des ertragsstärkeren Ports, was durch ein vermehrtes Aufsuchen dieses sichtbar wird. In der zweifaktoriellen ANOVA mit Messwiederholung ließ sich im gleichen Beobachtungszeitraum statistisch ein signifikanter Unterschied im adaptiven Verhalten bezüglich der Zeit, nicht aber bezüglich der verabreichten Substanz ermitteln. Auch in der Interaktion zwischen der Zeit und der Droge ließ sich kein signifikanter Unterschied ermitteln ($n = 4$; ANOVA mit Messwiederholung in 1-minütigen Zeitabständen über 30 Minuten; Zeit: $F(30,90) = 8,18$; $p = 0,01$; Droge: $F(1,3) = 2,5$; $p = 0,21$, Zeit * Droge: $F(30,90) = 1,03$; $p = 0,42$). Abbildung 6.2B zeigt, dass die Tiere sowohl unter Saline

als auch unter Muscimol ein ähnlich häufiges operantes Verhalten zeigten. Unter Muscimol lösten sie nahezu die gleiche Menge Belohnungen aus, wie in den Kontrollsitzen ($T = 1,98$; $p = 0,06$). Es wurden in beiden Gruppen nahezu keine Belohnungen verpasst. Dieses Verhalten war bei allen sechs Versuchstieren zu beobachten.

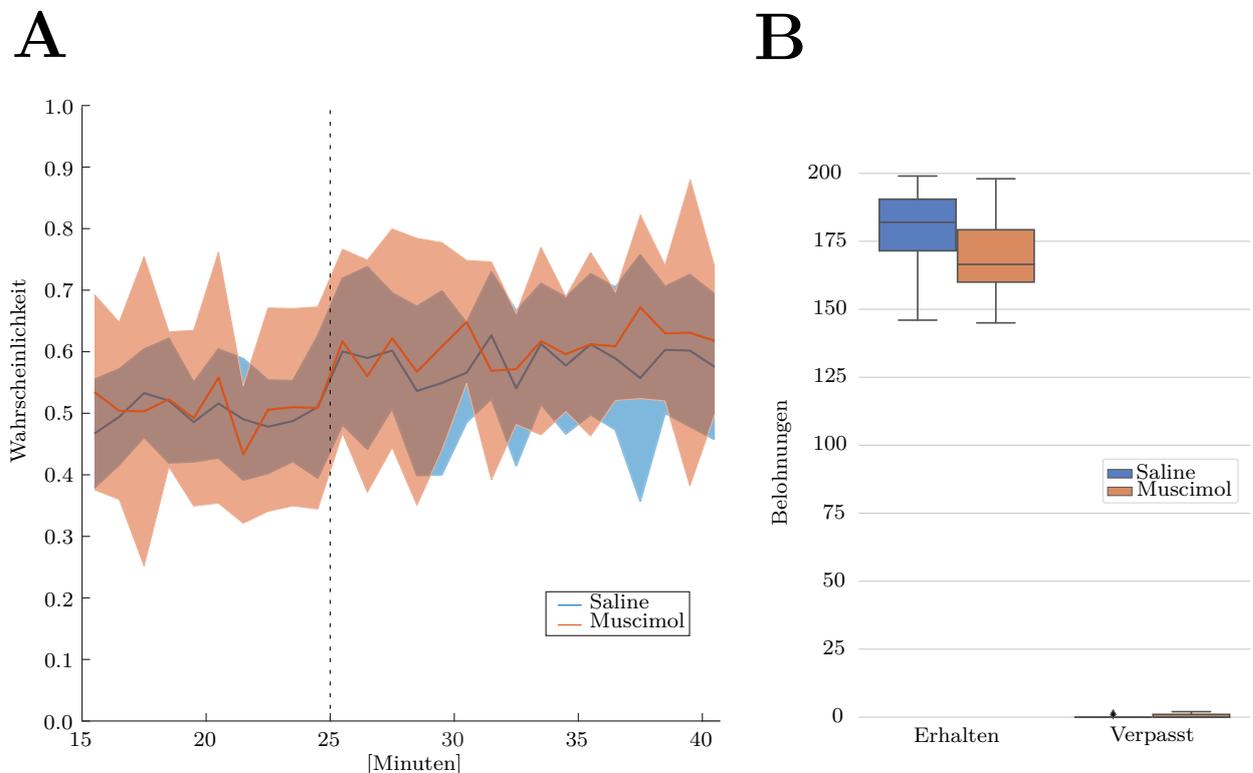


Abbildung 6.2: **(A)** Adaptation an veränderte Bedingungen und Beteiligung des mPFC, Kohorte 1, Versuchsanordnung proximal. Durchschnittliche Wahrscheinlichkeit den ertragsstärkeren Port zu bevorzugen gemittelt über die Versuchstiere. Die gestrichelte Linie zeigt den Bedingungswechsel an. **(B)** Ausgelöste Belohnungen. Gezeigt werden die erhaltenen und verpassten Belohnungen sowohl in den Muscimol als auch in den Saline Sitzungen.

6.3 Diskussion Versuchsanordnung proximal

Die Analyse der Daten in der Versuchsanordnung proximal ergab, dass sich das adaptive Verhalten bei inaktivierten mPFC nicht signifikant von dem Verhalten unter Saline unterscheidet. Darüber hinaus fällt auf, dass bereits unter Saline die Adaptation an die veränderten Bedingungen weniger stark ausgeprägt war als in den Versuchen, die in den Kapitel 4 und 5 beschrieben wurden. Eine mögliche Erklärung dafür, dass die Tiere ihr Verhalten nur noch wenig an die Kontingenzenwechsel anpassen, wäre, dass durch die Läsion der Operation am mPFC substantiell das Entscheidungsverhalten der Tiere verändert ist. Golebiowska und Rygula (2017) beschrieben allerdings, dass exzitotoxische Läsionen des mPFC nicht das Entscheidungsverhalten bei Ratten beeinflussen. Bei Beobachtung der Versuchstiere während des Versuchs fiel auf, dass die Tiere nur noch zwischen den operanten Ports flottiert sind und nicht mehr darauf reagiert haben, an welchem Port sich

Belohnungen auslösen ließen. Die Tiere suchten bei Auslösen einer Belohnung an einem operanten Port zunächst den anderen operanten Port auf, bevor sie sich zum Belohnungssport bewegt haben.

Hierfür gibt es verschiedene Gründe, die in Betrachtung gezogen werden sollten. Zum einen wäre es denkbar, dass die Tiere nach den Monaten intensiven Trainings habituelle Verhaltensmuster und somit kein zielgerichtetes Verhalten mehr zeigen. Hull (1930) fand heraus, dass Versuchstiere nach langdauerndem Training automatisierte Verhaltensmuster (*habits*) entwickeln, die keine kognitive Anstrengungen erfordern und oftmals zum gewünschten Ergebnis führen. Diese *habits* sind abhängig vom Stimulus und unabhängig vom Wert des Verstärkers (Hull, 1930). Dickinson et al. (1995) schlossen daraus, dass das Übertraining (*overtraining*) die empfundene Korrelation zwischen dem instrumentellen Verhalten und der erhaltenen Belohnung reduzierte.

Zum anderen wäre es denkbar, dass die Tiere in ihrer Kosten-Nutzen-Analyse bei der Entscheidungsfindung zu wenig Kosten, in Form von Zeit, Mühe und Bewegung, dafür investieren müssen, beide operante Ports nacheinander aufzusuchen, um eine Belohnung auszulösen. Gold und Shadlen (2007) zeigten, dass unter anderem auch die investierten Kosten die Entscheidungsfindung beeinflussen. Um diese Hypothese zu untersuchen, wurde anschließend an die oben beschriebenen Testungen die Skinnerbox umgebaut, sodass sich die operanten Ports auf einer und der konsumatorische Port auf der gegenüberliegenden Seite befand (Versuchsordnung distal) (siehe dazu Abbildungen 3.1 und 3.3D).

6.4 Methodik Versuchsordnung distal

Kohorte 1 wurden nach den Beobachtungen in der Versuchsordnung proximal zusätzlich in der Versuchsordnung distal getestet. Sie hatten für die Testungen für diesen Versuch bereits sieben Monate Training absolviert. Die Tiere erhielten unterschiedliche Muscimol-Dosen, diese wurden bei den Analysen gemittelt. Die Versuche in der Versuchsordnung distal wurden zusätzlich mit Kohorte 2 durchgeführt. Kohorte 2 hatte eine andere Lernhistorie und vor diesem Experiment 10 bis 15 Trainingssessions absolviert.

Da unser Interesse vor allem dem Adaptationsverhalten an unterschiedliche Belohnungskontingenzen galt, wurde bei beiden Kohorten in dieser Versuchsordnung die 60-minütige Trainingssession in zwei 30-minütige Zeitabschnitte mit vertauschten Belohnungskontingenzen (reversal learning) aufgeteilt. Tabelle 6.2 veranschaulicht die Struktur der Trainingssession.

Tabelle 6.2: Aufbau der 60-minütigen Session. Die Seite des ertragsstärkeren Ports wechselte nach 30 Minuten.

Zeitabschnitt	Belohnung RI:RI[s]	Dauer [min]
1	90:22	30
2	22:90	30

6.5 Ergebnisse Versuchsanordnung distal

Datenanalyse und statistische Evaluation Abbildungen 6.3A bis 6.3C zeigen exemplarisch eine Kontrollsituation nach Saline-Infusion, in Abbildungen 6.3D bis 6.3F ist eine Sitzung nach Muscimol-Infusion dargestellt. In der Kontrollsituation zeigt das Tier im ersten Zeitabschnitt keine Präferenz für einen Port, sondern sucht beide Ports etwa gleich häufig auf. Auch im zweiten Zeitabschnitt präferiert das Tier erst 15 Minuten nach dem Bedingungswechsel den ertragsstärkeren Port. In Abbildung 6.3B wird am Zeitpunkt 0 eine Belohnung am rechten Port ausgelöst. Ein Signalton indiziert die Verfügbarkeit einer Belohnung und innerhalb von 1 Sekunde verweilt das Tier in nahezu 100 % der Fälle für die nächsten 7 Sekunden am Belohnungsport. Während dieser Sitzung wurden lediglich drei Belohnungen verpasst (Abbildung 6.3C). Das Verhalten unter Muscimol unterschied sich deutlich von dem unter Saline. Nach Auslösen einer Belohnung, während einer Muscimol-Sitzung bewegt sich das Tier trotz des belohnungsindizierenden Signaltons nicht zum Belohnungsport (Abbildung 6.3E). Aus Abbildung 6.3E wird deutlich, dass das Versuchstier mit inaktiviertem mPFC nicht zu langsam ist, um die freigeschaltete Belohnung innerhalb des verfügbaren Intervalls abzuholen, sondern sich gar nicht erst zum Belohnungsport bewegt. Es werden dementsprechend viele Belohnungen verpasst (Abbildung 6.3F). Abbildung 6.4 zeigt das Verhalten aller Versuchstiere der Kohorte 1 während des Trainings nach Saline- und Muscimol- Infusion. Die Tiere suchen nach zerebraler Saline Infusion beide operante Ports gleich häufig auf, obwohl ein Port ertragsstärker war. Dies ist ein anderes Ergebnis als vom Matching Law prognostiziert. Mit inaktiviertem mPFC präferieren die Tiere augenscheinlich deutlicher den ertragsstärkeren Port als in den Kontrollsituationen. Nach dem Kontingenzwechsel präferierten die Tiere weiterhin den Port, der im ersten Block ertragsstärker war. In der zweifaktoriellen ANOVA zeigt sich, dass der Einfluss des Faktors Zeit keinen signifikanten Unterschied auf das Verhalten der Tiere bezüglich ihres Adaptationsverhaltens ausübt. Der Hauptfaktor Droge erzeugt ebenfalls keinen statistisch signifikanten Unterschied. Auch in der Interaktion der Hauptfaktoren ließ sich kein statistisch signifikanter Unterschied zeigen ($n = 6$; ANOVA mit Messwiederholung in 1-minütigen Zeitabständen über 30 Minuten; Zeit: $F(30,90) = 3,68$; $p = 0,08$; Droge: $F(1,3) = 2,7$; $p = 0,2$; Zeit * Droge: $F(30,90) = 0,92$; $p = 0,44$). Auch wenn die Inaktivierung des mPFC zu keinem statistisch signifikanten Unterschied in der Wahl des ertragsstärkeren Ports führte, so war das operante Verhalten der Tiere insgesamt deutlich verändert. Es war nicht möglich, die komplette Trainingsdauer zu analysieren, weil die Tiere mit inaktiviertem mPFC ihr operantes Verhalten vorzeitig einstellten. Sowohl die exemplarische Testung als auch die Analyse des operanten Verhaltens aller Tiere in Abbildung 6.4B gibt eine mögliche Erklärung für das beobachtete Verhalten.

Abbildung 6.4B zeigt die erhaltenen versus die verpassten Belohnungen nach Saline und nach Muscimol-Infusion. Es wurden in den Kontrollsituationen fast keine Belohnungen verpasst. Bei einer transienten Inaktivierung des mPFC sind die Tiere nicht in der Lage so viele Belohnungen zu erhalten, wie in den Kontrollsituationen. Das operante Verhalten

nach Inaktivierung des mPFC ist möglicherweise generell supprimiert, was sich in den statistisch signifikant weniger erhaltenen Belohnungen zeigt (Erhaltene Belohnungen nach Saline vs. nach Muscimol: $T = 8,2$; $p = 1,29 * 10^{-10}$). Außerdem wurden trotz weniger ausgelösten Belohnungen statistisch signifikant mehr Belohnungen verpasst (Verpasste Belohnungen nach Saline vs. nach Muscimol: $T = -4,55$; $p = 3,77 * 10^{-5}$). Abbildung 6.4C zeigt die Anzahl der operanten Antworten (*Pokes*) in die operanten Ports und in den Belohnungsport. Es zeigt sich eine statistisch signifikante Reduktion des operanten Verhaltens (Anzahl Pokes in operante Ports Saline vs. Muscimol: $T=2,8$; $p=0,01$; Anzahl Pokes in den Belohnungsport Saline vs. Muscimol: $T=4,6$; $p = 3,3 * 10^{-5}$).

Die Ergebnisse der Versuche der Kohorte 2 unterscheiden sich nicht wesentlich von den hier dargestellten. Die Auswertungen der Kohorte 2 finden sich in Anhang A.5.

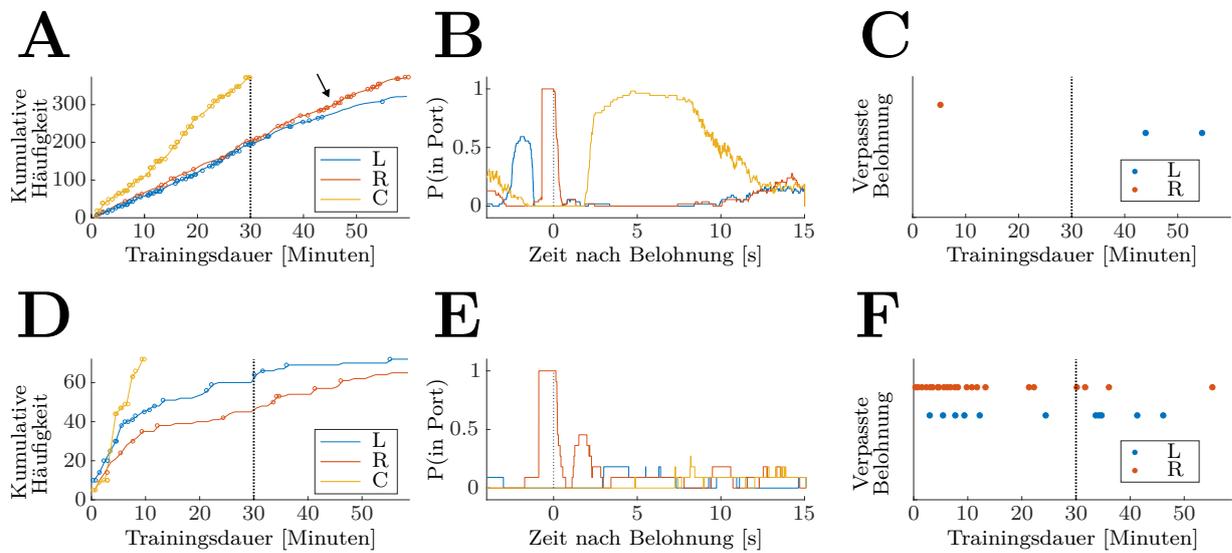


Abbildung 6.3: Adaptation mit mPFC Beteiligung - Kohorte 1, Versuchsanordnung distal. Exemplarische Testung nach Saline (A-C) und Muscimol-Infusion (D-F). (A,D) Kumulative Häufigkeit mit den Ports zu interagieren. In der Kontrollsituation wird nach Auslösen der Belohnung der Belohnungsport aufgesucht (B), in der Muscimol-Sitzung nicht (E). (C, F) Verpasste Belohnungen, die am linken und rechten Port ausgelöst wurden, aber nicht abgeholt wurden. Es werden in der Kontrollsituation nur drei Belohnungen verpasst (C), in der Muscimol-Sitzung jedoch sehr viele (F).

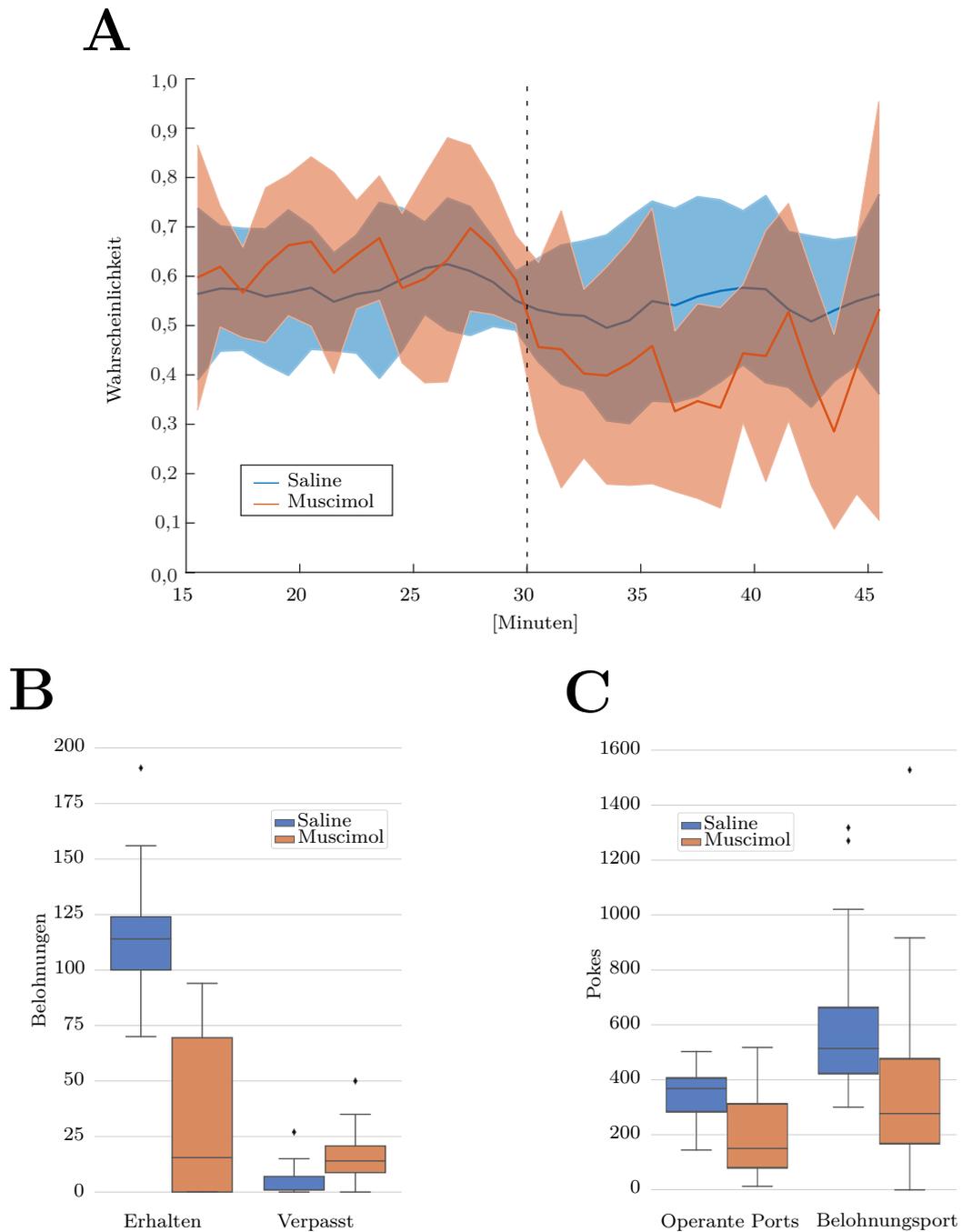


Abbildung 6.4: Adaptation und Beteiligung des mPFC, Versuchsanordnung distal, Kohorte 1. **(A)** Durchschnittliche Wahrscheinlichkeit den ertragsstärkeren Port zu bevorzugen, gemittelt über die Tiere in der Versuchsanordnung distal. Die gestrichelte Linie zeigt den Bedingungswechsel an. Nach Muscimol-Infusion präferieren die Tiere weiterhin den operanten Port, der vor dem Bedingungswechsel ertragsstärker war. **(B)** Anzahl der erhaltenen und verpassten Belohnungen. Nach Muscimol Infusion werden signifikant weniger Belohnungen ausgelöst, von den ausgelösten Belohnungen wurden signifikant mehr verpasst als nach Saline Infusion. **(C)** Anzahl an Pokes in die Ports. Es kommt unter Muscimol zu einer statistisch signifikanten Reduktion des operanten Verhaltens.

6.6 Diskussion Versuchsanordnung distal

Die Tiere der Kohorte 1 zeigten auch nach intrazerebraler Saline Infusion kaum Sensitivität bezüglich der eingestellten Belohnungskontingenz und adaptierten ihr Verhalten nicht, um ihre Belohnungen zu maximieren. Offensichtlich schienen die Tiere wieder (oder immer noch) habituelles Verhalten zu zeigen und reagierten nicht sensitiv auf die Belohnungskontingenzwechsel.

Allerdings war es den Tieren in den Kontrolltestungen adäquat möglich generell Belohnungen zu erhalten. In der Versuchsanordnung distal war das konditionierte, operante Verhalten unter Muscimol bei ansonsten unauffälliger motorischer Aktivität supprimiert. Bemerkenswert ist es jedoch, dass gravierend weniger Belohnungen ausgelöst wurden, als in den Kontrolltestungen und von den wenigen ausgelösten Belohnungen viele nicht abgeholt (und somit verpasst) wurden. Die positive Verstärkung fiel weitestgehend weg, was wiederum eine Reduktion des operanten Verhaltens bewirkt haben könnte. Dieses Experiment sollte untersuchen, inwiefern die Adaptation an geänderte Belohnungskontingenzen durch die Inaktivierung des mPFC verändert wird. Es zeigte sich bei beiden Kohorten in der Versuchsanordnung distal, dass durch die transiente Inaktivierung des mPFC nicht bloß die Adaptation beeinflusst wird, sondern es den Tieren nicht adäquat möglich war, die Aufgabe korrekt zu lösen. Entweder war die Kenntnis, wie Belohnungen ausgelöst werden können selbst oder aber der Zugang zu der Kenntnis, die für die Assoziation von Verhalten und der entsprechenden Konsequenz (*response-outcome association*) notwendig ist, nicht abrufbar. Neben Killcross und Coutureau (2003) stellten auch Corbit und Balleine (2003) und Tran-Tu-Yen et al. (2009) in ihren Studien dar, dass der präfrontale Cortex, speziell die prälimbische Region, essenziell wichtig ist, um die Beziehung zwischen Handlungen und den daraus folgenden Konsequenzen zu verstehen und zu lernen. Die Versuchstiere mit inaktivierten mPFC konnten in der Versuchsanordnung distal möglicherweise nicht mehr die Assoziation zwischen ihrem operanten Verhalten und dem Auslösen von Belohnungen herstellen, obwohl sie dies zuvor gelernt hatten. Somit lässt sich schlussfolgern, dass der mPFC bei einer Verhaltenskomponente zu wichtig ist, als das bei seiner Inaktivierung die Aufgabe adäquat gelöst werden kann.

Kapitel 7

Adaptation bei aversiven Stimuli

In diesem Kapitel wird ein Versuch beschrieben, indem neben positiver Verstärkung zusätzlich Bestrafung in das Paradigma integriert wird. Die Versuchstiere müssen in jeder Entscheidung abwägen, ob sie eine sichere Belohnung erhalten wollen, oder zusätzlich eine risikoreichere, die von Zeit zu Zeit mit einem Stromreiz gepaart ist. Die Tiere zeigten eine deutliche Präferenz für die risikoärmere, sichere Belohnung und verpassten somit zwar einige Belohnungen, aber vermieden auch Bestrafungen.

7.1 Methodik

Die Versuchstiere der ersten Kohorte (SW1-SW6) wurden in der Versuchsanordnung proximal (Abbildung 3.3B) getestet. Zusätzlich zu den Belohnungen konnten über den unter Abschnitt 3.2 beschriebenen Schocker aversive Reize in Form von Stromreizen gesetzt werden.

Das operante Verhalten sollte nicht vollständig ausbleiben, sondern lediglich reduziert sein. Basierend auf empirischen Daten der Arbeitsgruppe starteten die Versuche bei allen Tieren mit einer Stromstärke von 0,3 mA. Allerdings musste im zeitlichen Verlauf der Testung die Intensität gesteigert werden, um die durch Bestrafung hervorgerufene Verhaltenssuppression aufrecht zu erhalten. Die Intensitätserhöhung erfolgte in Schritten von 0,01 mA bis 0,05 mA.

Die Testungen für diesen Versuch erfolgten initial mit zwei Versuchstieren. Zunächst konnten an beiden operanten Ports im Mittel alle 30 Sekunden eine Belohnung freigeschaltet werden. Zusätzlich zu den Belohnungen wurde über die gesamte Trainingsdauer an einem der operanten Ports auch Bestrafungen ausgelöst. Dies diente dazu die Stromstärke zu ermitteln, die eine Veränderung im operanten Verhalten herbeiführte. In diesem Kapitel werden schrittweise die erfolgten Versuche, um sowohl die Frequenz als auch die Intensität des aversiven Reizes zu erproben, beschrieben.

Um Bestrafung und Belohnung vergleichbarer zu gestalten, mussten sowohl Belohnungen als auch Bestrafungen während des akustischen Signals am konsumatorischen Port abgeholt werden. Wurde der Verstärker nicht abgeholt, so galt dies als verpasst (*omission*).

7.2 Ergebnisse

Allgemeine Beobachtung der Tiere Die Versuchstiere zeigten erst bei einer Intensität von 0,5 mA Reaktionen wie Zusammenzucken oder Unterbrechung des operanten Verhalten. Trotzdem hatte der aversive Reiz einen allgemein supprimierenden Effekt auf das operante Verhalten. Bei der Beobachtung fiel auf, dass einige Versuchstiere zwar bei einer Intensität von 0,3 mA Abwehrreaktionen zeigten, aber direkt anschließend das operante Verhalten wieder aufnahmen. Da keine Angstkonditionierung (Campos et al., 2013) erreicht werden sollte und Ziel der Beobachtung die Entscheidungsfindung war, musste die Vorgehensweise bezüglich des aversiven Stimulus angepasst werden. Es erfolgte eine empirische Ermittlung der Parameter des aversiven Stimulus. Es ließ sich eine beständige Verhaltenssuppression bei einer Belohnungs- und Bestrafungsfrequenz von jeweils 90 bzw. 20 Sekunden beobachten. Die Belohnungen wurden symmetrisch freigeschaltet.

Mit dieser Konfiguration wurden die vier weiteren Tiere getestet.

Datenanalyse und statistische Evaluation

Da das Anpassungsverhalten der Tiere untersucht werden sollte, wurden verschiedene Kontingenzen (ein Wechsel, zwei Wechsel, drei Wechsel, vier Wechsel), in denen die Seite des bestrafenden Ports wechselte, erprobt. Abbildung 7.1A zeigt exemplarisch die Testung eines Tiers, bei dem nach 30 Minuten die Seite, die mit Bestrafung assoziiert ist, wechselt. Das Tier präferiert den operanten Port, der nicht mit der Bestrafung assoziiert ist. Nach dem Kontingenzwechsel adaptiert es sein Verhalten an die geänderten Bedingungen und präferiert nun den Port, der nicht mit Bestrafung assoziiert ist.

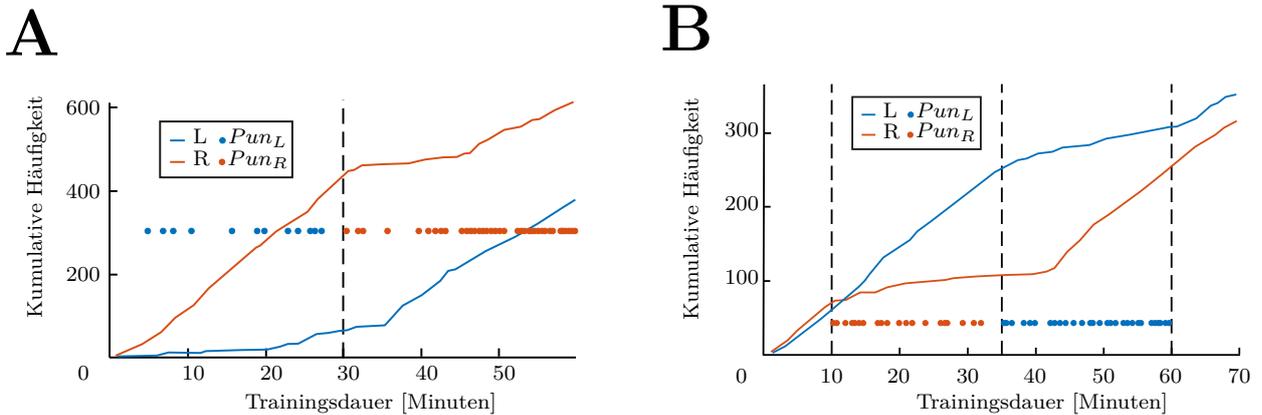


Abbildung 7.1: **(A)** Adaptation an Bestrafung mit einem Bedingungswechsel. Exemplarische Session eines Tiers. Die Seite des mit Bestrafung assoziierten Ports wechselt nach 30 Minuten (vertikal gestrichelte Linie). Das Tier präferiert in beiden Abschnitten jeweils die Seite, die nicht mit der Bestrafung assoziiert ist. Das Tier passt seine Präferenz nach dem Bedingungswechsel an. **(B)** Exemplarische Testung eines Tiers mit mehreren Bedingungswechseln. Wie in **(A)** aber mit mehreren Bedingungswechseln. Das Tier adaptiert sein Verhalten an die geänderten Kontingenzen.

Im weiteren Verlauf der Versuchsreihe wurden vier verschiedene Kontingenzen in einer Trainingssession implementiert. Tabelle 7.1 zeigt die Struktur der Session. Abbildung 7.1B zeigt exemplarisch solch eine Testung.

Tabelle 7.1: Aufbau der 60-minütigen Session. Diese wurde in vier Abschnitte unterteilt.

Zeitabschnitt	Dauer [min]	Belohnung $RI_L:RI_R$ [s]	Bestrafung RI [s]
1	10	45:45	\emptyset
2	25	45:45	20
3	25	45:45	20
4	10	45:45	\emptyset

Abbildung 7.1B zeigt, dass das Versuchstier während des ersten Zeitabschnitts beide operanten Ports gleich häufig aufsucht, wie es auch das Matching Law prognostiziert. Im zweiten Zeitabschnitt können zusätzlich zu den Belohnungen am rechten Port auch Bestrafungen ausgelöst werden (Pun_R). Kurz nach Einführung der Bestrafung verringert das Tier seine operante Aktivität an diesem Port. Im dritten Zeitabschnitt wechselt die Seite des Ports, der mit Bestrafung assoziiert ist (Pun_L). Das Tier adaptiert daraufhin sein Verhalten und verringert seine Aktivität an dem bestrafenden Port, während es am anderen Port seine Aktivität steigert. Im letzten Abschnitt fällt die Bestrafung weg und das Tier sucht wieder beide operanten Ports ähnlich häufig auf. Die in Abbildung 7.1B dargestellte Adaptation bei häufigem Kontingenzwechsel konnte jedoch nicht bei allen Versuchstieren reproduziert werden. Das Verhalten der anderen Versuchstiere war durch die häufigen Bedingungswechsel vollständig supprimiert.

Die anderen Versuchstiere konnten ihr Verhalten nicht an die häufigen Bedingungswechsel adaptieren. Da wir mit der Bestrafung reproduzierbare Präferenzwechsel erzeugen wollten, vereinfachten wir die Struktur der Trainingssession, sodass die Tiere lediglich darauf reagieren mussten, wenn ein Port zusätzlich bestraft wurde. Beständiges Verhalten aller Versuchstiere hatte sich in einer 60-minütigen Trainingssession etabliert, die in drei Blöcke unterteilt war. Tabelle 7.2 zeigt die Struktur der Trainingssession.

Tabelle 7.2: Aufbau der 60-minütigen Session. Diese wurde in drei Abschnitte unterteilt. Während des gesamten Trainings konnte symmetrisch eine Belohnung ausgelöst werden, im mittleren Block wurde eine Seite zusätzlich bestraft.

Zeitabschnitt	Dauer [min]	Belohnung $RI_L:RI_R$ [s]	Bestrafung RI [s]
1	20	45:45	\emptyset
2	25	45:45	20
3	15	45:45	\emptyset

Während des ersten Zeitabschnitts wurden beide operanten Ports gleich häufig von dem Tier aufgesucht, um Belohnungen auszulösen. Im zweiten Block konnten zusätzlich zu den Belohnungen auch Bestrafungen am rechten Port ausgelöst werden (Pun_R). Die

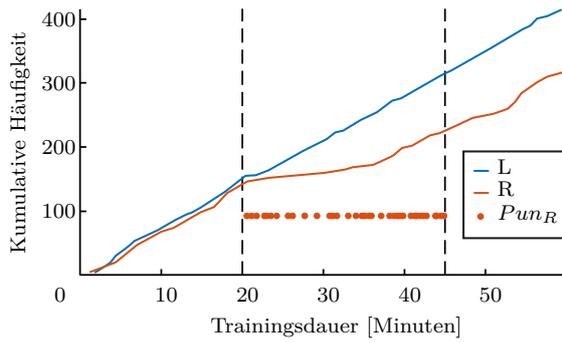
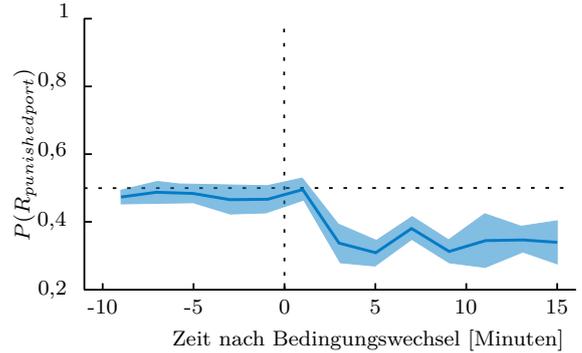
A**B**

Abbildung 7.2: **(A)** Adaptation an Bestrafung. Exemplarische Darstellung einer Trainingssession. Im zweiten Block induzieren die Bestrafungen eine Reduktion des operanten Verhaltens am rechten Port. **(B)** Adaptation an Bestrafung. Nach der Einführung der Bestrafung (vertikale, gestrichelte Linie) bevorzugen die Versuchstiere den Port, der nicht mit Bestrafung assoziiert ist. Dargestellt ist das Verhalten der sechs Versuchstiere über mehrere Trainings. Dargestellt sind der Durchschnittswert (blaue Linie) und die jeweiligen Standardfehler des Mittelwertes (blau unterlegt).

Bestrafungen induzierten kurz nach ihrer Einführung eine Reduktion des operanten Verhaltens an diesem Port. Diese Suppression war jedoch nicht vollständig. Nach Wegfall der Bestrafung suchte das Tier wieder beide operante Ports ähnlich häufig auf. Abbildung 7.2A zeigt exemplarisch eine Trainingssession. Dieses Verhalten ließ sich auch bei den anderen fünf Versuchstieren beobachten.

Abbildung 7.2B zeigt die Auswertung des Verhaltens aller sechs Versuchstiere. Vor der Einführung der Bestrafung suchen die Tiere gleich häufig beide operanten Ports auf. Kein Port wird bevorzugt, die Wahrscheinlichkeit einen Port zu wählen liegt bei 50%. Nach Einführung der Bestrafung reduzieren die Tiere innerhalb weniger Minuten die Wahrscheinlichkeit diesen Port aufzusuchen. Sie präferieren deutlich den Port, der nicht mit der Bestrafung assoziiert ist und reduzieren so zwar ihre Belohnungen, aber vermeiden auch mögliche aversive Konsequenzen.

7.3 Diskussion

Die Schwierigkeit bei der Integration negativer Konsequenzen lag in der Ermittlung der Häufigkeit und der Intensität, mit der der aversive Reiz erfolgen soll, um eine belastbare Aussage über Verhalten treffen zu können. Anfänglich wurde zunächst bei einer Subgruppe von zwei Tieren die Integration des aversiven Reizes implementiert. Die Etablierung eines reproduzierbaren Verhaltens der Tiere in Abhängigkeit von Intensität und Frequenz des aversiven Stimulus gestaltete sich anspruchsvoll. Initial konnten die Bestrafungen im Schnitt alle 3 Minuten ausgelöst werden. Mutmaßlich konnten die Ratten ihr operantes Verhalten nicht in Verbindung mit den Bestrafungen bringen, da diese womöglich zu selten gegeben wurden. Analog zur Vorgehensweise die Shimp et al. (2015) publizierten,

wurde die Bestrafungsfrequenz verändert. Die alleinige Steigerung der Frequenz (bei Belassen der Intensität) führte dazu, dass die Versuchstiere den bestrafenden Port komplett mieden. Dieses Ergebnis war konsistent zu früheren Untersuchungen, die zeigten, dass Versuchstiere bei gleichwertigen Alternativen (symmetrische Belohnung) die Option, an der potenziell auch mit einer Bestrafung zu rechnen wäre, mieden (Bouton und Schemers, 2015). Die in den Versuchen verwendeten Stromintensitäten waren deutlich unter denen, die häufig in Angstkonditionierungsversuchen (bis zu 1,5 mA) verwendet werden (Pietersen et al., 2006). Die initiale Stromstärke lag bei den Versuchstieren bei 0,3 mA. Es zeigte sich jedoch, dass diese im zeitlichen Verlauf der Testung erhöht werden musste, um die durch Bestrafung hervorgerufene Verhaltenssuppression aufrecht zu erhalten. Dem gegenübergestellt, sollte die Intensität der Bestrafung keine komplette Suppression des operanten Verhaltens hervorrufen. Häufig lag zwischen der kompletten Suppression und gar keiner Reduktion des operanten Verhaltens lediglich 0,01 mA bis 0,03 mA. Lag eine komplette Suppression des operanten Verhaltens vor, so musste in dem darauffolgenden Training komplett auf Bestrafung verzichtet werden und es erfolgte eine hochfrequentierte Belohnungsgabe, um das Tier für die Aufgabe zu motivieren. Ob, wann und wie oft die Intensität gesteigert werden musste, war individuell bei den Tieren unterschiedlich.

Die Etablierung mehrerer Kontingenzwechsel gestaltete sich schwierig und war trotz gelungener Adaptation einiger Tiere (siehe Abbildung 7.1B) nicht in der gesamten Kohorte reproduzierbar. Durch die Bestrafungen war das Verhalten allgemein bei ihnen supprimiert. Nach einem Kontingenzwechsel (Wechsel des Ports, der mit Bestrafung assoziiert war) war die Diskrepanz zwischen erwarteter Belohnung und Bestrafung so groß, dass einige Tiere nicht den Port aufsuchten, der im vorigen Zeitabschnitt mit der Bestrafung assoziiert war. Auch Jean-Richard-dit-Bressel et al. (2023) beobachteten, dass unterschiedliche Phänotypen differierend auf Bestrafungen reagieren. So gibt es beispielweise Typen, die aus Bestrafungen richtige Schlüsse ziehen und ihr Verhalten anpassen, um Bestrafungen zu vermeiden. Konträr dazu gibt es allerdings auch Typen, die falsche Schlüsse aus den erhaltenen Bestrafungen ziehen, ihr Verhalten nicht adäquat anpassen und somit in der Folge weiterhin Bestrafungen erhalten. Es zeigte sich, dass die gesamte Kohorte ein beständiges Verhalten zeigte, wenn die Aufgabe vereinfacht wurde. Die Trainingssession wurde in drei Blöcke aufgeteilt und lediglich im mittleren Block war einer der operanten Ports (zufällig ausgewählt) mit Bestrafung assoziiert.

In der initialen Versuchsanordnung mussten die Versuchstiere die Belohnungen am Centerport abholen, aber erhielten die Bestrafungen direkt am operanten Port. Die Hälfte der Versuchstiere zeigte in den ersten Trainingssessions im zweiten Abschnitt (Bestrafungen aktiv) keine klare Präferenz für einen der operanten Ports. Sie verpassten an beiden Ports zahlreiche der ausgelösten Verstärker.

Durch die Bestrafung wurde eine allgemeine Hemmung des Verhaltens induziert, da die Tiere die Bestrafungen nicht vollständig vermeiden konnten. Der Versuchsaufbau wurde dahingehend modifiziert, dass sämtliche Verstärker am Centerport abgeholt werden muss-

ten. Ihre Verfügbarkeit wurde durch ein akustisches Signal angezeigt. Durch diese Modifikationen hatten die Tiere die Möglichkeit, auf die positiven Verstärker zu verzichten und so auch die Bestrafungen zu vermeiden. Die dargestellten Ergebnisse in Abbildungen 7.1 und 7.2 wurden in der modifizierten Versuchsanordnung gewonnen.

In Abschnitt 2.1 wurde darauf eingegangen, welche Schwierigkeiten bei der Implementierung von Bestrafung in einem Verhaltensparadigma zu berücksichtigen sind. Auch praktisch wurden diese Schwierigkeiten bei der Durchführung des Versuchs beobachtet. Dadurch, dass die Intensität der Bestrafung graduell erhöht wurde, war es möglich über einen langen Zeitraum eine deutliche, aber unvollständige Suppression des operanten Verhaltens zu erreichen. Wie bereits in Kapitel 1 erläutert, ist dies eine relevante Voraussetzung um in nachfolgenden Experimenten Einzelzell-Ableitungen durchführen zu können. Die Reproduzierbarkeit und die Beständigkeit des Verhaltens der Versuchstiere verdeutlichen die erfolgreiche Implementierung und Integration von negativen Konsequenzen in das Paradigma.

Kapitel 8

Adaptation an aversive Stimuli bei inaktiviertem mPFC

In Kapitel 7 wurde gezeigt, dass die Tiere dauerhaft und beständig in einer Entscheidungsaufgabe Bestrafungen vermieden und dadurch potenziell auch auf Belohnungen verzichteten. In diesem Kapitel wird die Adaptation an aversive Stimuli bei inaktiviertem mPFC untersucht. In Abschnitt 2.3 wurde beschrieben, dass der PFC eine zentrale Rolle in der Ausführung exekutiver Funktionen spielt und in Kapitel 6 konnte gezeigt werden, dass der mPFC wichtig für zielgerichtetes Verhalten ist. Wir gingen deshalb davon aus, dass die transiente Inaktivierung des mPFC zu einer Verringerung der Adaptation an geänderte Kontingenzen bei der Entscheidungsaufgabe führen würde.

8.1 Methodik

Um eine transiente Inaktivierung des mPFC zu erzeugen, wurde der GABA_A-Rezeptor Agonist Muscimol intrazerebral verabreicht, zur Kontrolle diente eine Saline (physiologische Kochsalzlösung) Infusion. Tabelle 8.1 zeigt schematisch den Ablauf einer Trainingswoche.

Tabelle 8.1: Exemplarischer schematischer Ablauf einer Trainingswoche.

	Belohnung $RI_L:RI_R$ [s]	Aversiver Stimulus	Infusion
Montag	45:45	\emptyset	\emptyset
Dienstag	45:45	RI 20 [s] im zweiten Zeitabschnitt	Saline
Mittwoch	45:45	RI 20 [s] im zweiten Zeitabschnitt	Muscimol
Donnerstag	45:45	\emptyset	\emptyset
Freitag	45:45	RI 20 [s] im zweiten Zeitabschnitt	Saline / Muscimol

Es zeigte sich, dass die Tiere ein beständiges Verhalten zeigten, wenn die Trainingssession in drei Abschnitte aufgeteilt war. Tabelle 8.2 zeigt den Aufbau der 60-minütigen Trainingssession.

Tabelle 8.2: Aufbau der 60-minütigen Session. Diese wurde in drei Abschnitte unterteilt. Während des gesamten Trainings konnte symmetrisch eine Belohnung ausgelöst werden, im mittleren Block wurde eine Seite zusätzlich bestraft.

Zeitabschnitt	Dauer [min]	Belohnung RI _L :RI _R [s]	Bestrafung RI [s]
1	20	45:45	∅
2	25	45:45	20
3	15	45:45	∅

Es ließ sich während der gesamten Trainingsdauer eine symmetrische Belohnung mit jeweils einem RI von 45 Sekunden auslösen. Mit dem ersten und letzten Zeitabschnitt sollte den Versuchstieren ein etwaiges Bias, das sie aus vorigen Testungen antrainiert hatten, beziehungsweise sich in der aktuellen Trainingssession angeeignet haben, abgewöhnt werden. Im zweiten Zeitabschnitt konnte zusätzlich zur symmetrischen Belohnung mit einem RI von 20 Sekunden an einem Port eine Bestrafung ausgelöst werden. Um einen systematischen Bias zu vermeiden, wurde die Seite des bestrafenden Ports zufällig ausgewählt.

Es wurde darauf geachtet, dass jedes Tier sowohl bei Saline- als auch bei Muscimol-Testungen mehrere Trainings absolviert hatte, bei denen jeweils der rechte respektive der linke Port derjenige, der mit Bestrafung assoziiert war.

In dieser Versuchsstruktur zeigten die Tiere über viele Testungen ein reproduzierbares Verhalten. Wie in Kapitel 7 erläutert, musste die Intensität des aversiven Reizes im Verlauf der Testungen individuell nachjustiert werden. Die pharmakologischen Testungen fanden nur statt, wenn die Versuchstiere in den unmittelbar vorangehenden Sessions einen deutlichen bestrafungsinduzierten Bias zeigten. Die Tiere wurden in der Versuchsanordnung proximal getestet.

Um zu überprüfen, ob die Inaktivierung des mPFC zu einer Veränderung der Schmerzwahrnehmung führt, wurde nach Abschluss der oben beschriebenen Versuche zusätzlich der Hot Plate Test (Hot/Cold Plate NG 35100, Ugo-Basile, Gemonio, Italy) durchgeführt. Bei dem Hot Plate Test werden supraspinale Reaktionen hervorgerufen, um dem thermalen Schmerz zu entgehen (Mulder und Pritchett, 2004). Eine Metallplatte wurde auf 50 °C erhitzt und die Tiere wurden auf diese gesetzt. Ein transparenter Plastikzylinder um die Platte verhinderte, dass die Tiere sich dem Test entzogen. Es wurde die Zeit gemessen, bis das Tier ein Unbehagen durch supraspinale Reaktionen signalisierte (Lecken der Pfoten, springen). Sobald das Tier ein solches Verhalten zeigte, wurde der Plastikzylinder entfernt und das Tier konnte die Metallplatte verlassen. Der Hot-Plate-Test wurde sowohl nach Infusion von Saline als auch nach Infusion von Muscimol in den mPFC durchgeführt. Die Tests wurden auf Video aufgezeichnet. Die Videos wurden von Beobachtern, die hinsichtlich der Versuchsbedingungen (Saline versus Muscimol) verblindet waren bewertet.

8.2 Ergebnisse

Datenanalyse und statistische Evaluation Nachdem die Versuchsstruktur erprobt und die Integrierung des aversiven Reizes erfolgreich implementiert war (siehe Kapitel 7), sah das Verhalten nach einer intrazerebralen Saline respektive Muscimol Infusion wie in Abbildung 8.1 gezeigt aus (Analyse durchgeführt durch Stüttgen, siehe Stoilova, Wette und Stüttgen (2019)).

Bei Analyse der Trainingssessions der sechs Versuchstiere wird deutlich, dass sie nach der intrazerebralen Saline Infusion eine deutliche Präferenz für den nicht mit Bestrafung assoziierten Port ausbildeten. Diese Präferenz war bei inaktiviertem mPFC nicht mehr erkennbar (siehe Abbildung 8.1A). Die ANOVA Messwiederholung zeigt signifikante Effekte sowohl bezüglich der verabreichten Substanz als auch der Zeit. ($n = 6$; ANOVA mit Messwiederholung in 10-minütigen Abständen über 60 Minuten; Zeit: $F(12,60) = 3,8$; $p = 0,0003$; Substanz: $F(1,5) = 11,9$; $p = 0,018$; Zeit \times Substanz: $F(12,60) = 2,0$; $p = 0,04$). Es wird außerdem deutlich, dass Bestrafungen einen supprimierenden Effekt auf das operante Verhalten haben (Abbildung 8.1B). Diese Suppression wird jedoch durch Inaktivierung des mPFC aufgehoben. ($n = 6$ ANOVA mit Messwiederholungen in 10-minütigen Abständen über 60 Minuten, Zeit: $F(12,60) = 10,3$; $p = 1,4 * 10^{-10}$; Substanz: $F(1,5) = 1,0$; $p = 0,35$; Zeit * Substanz: $F(12,60) = 4,0$; $p = 0,0002$).

Die Versuchstiere verpassten sowohl nach Saline als auch nach Muscimol Infusion nahezu keine Verstärker, als sie ausschließlich Belohnungen auslösen konnten (Abbildung 8.1C). Sobald auch aversive Stimuli in die Entscheidung integriert wurden, ließen die Tiere in beiden Gruppen einige Verstärker aus. Sie verzichteten somit auf mögliche Belohnungen, aber vermieden auch potenzielle Bestrafungen (Abbildung 8.1D). Dieses Verhalten war auch durch die Inaktivierung des mPFC nicht beeinträchtigt (ANOVA mit Messwiederholungen in 10-minütigen Abständen über 60 Minuten; Zeit: $F(12,60) = 2,6$; $p = 0,007$; Substanz: $F(1,5) = 0,02$; $p = 0,89$; Zeit * Substanz: $F(12,60) = 0,69$; $p = 0,75$).

Abbildung 8.2A zeigt die erhaltenen Bestrafungen nach intrazerebraler Saline beziehungsweise Muscimol Infusion. Die Versuchstiere erhielten nach mPFC Inaktivierung signifikant mehr Bestrafungen (Zweistichproben t-Test unter der Annahme unterschiedlicher Varianzen: $T = -2$; $p = 0,03$).

Um zu analysieren, ob die Inaktivierung des mPFC auch zu einer veränderten Schmerzwahrnehmung führt, wurde mit allen Versuchstieren der Hot Plate Test durchgeführt. Quantitativ zeigte sich eine Veränderung der Reaktionszeit nach Muscimol Infusion, die einen Trend in Richtung Signifikanz zeigt (Zweistichproben t-Test unter der Annahme unterschiedlicher Varianzen: $T = 1,6$; $p = 0,06$). Qualitativ reagierten die Tiere nicht adäquat um dem thermalen Schmerzreiz zu entgehen. Eine Steigerung der Atemfrequenz und ein vermehrtes Trippeln konnte früher beobachtet werden, als dass die Tiere ein aktives Vermeidungsverhalten (springen, Pfoten lecken) zeigten.

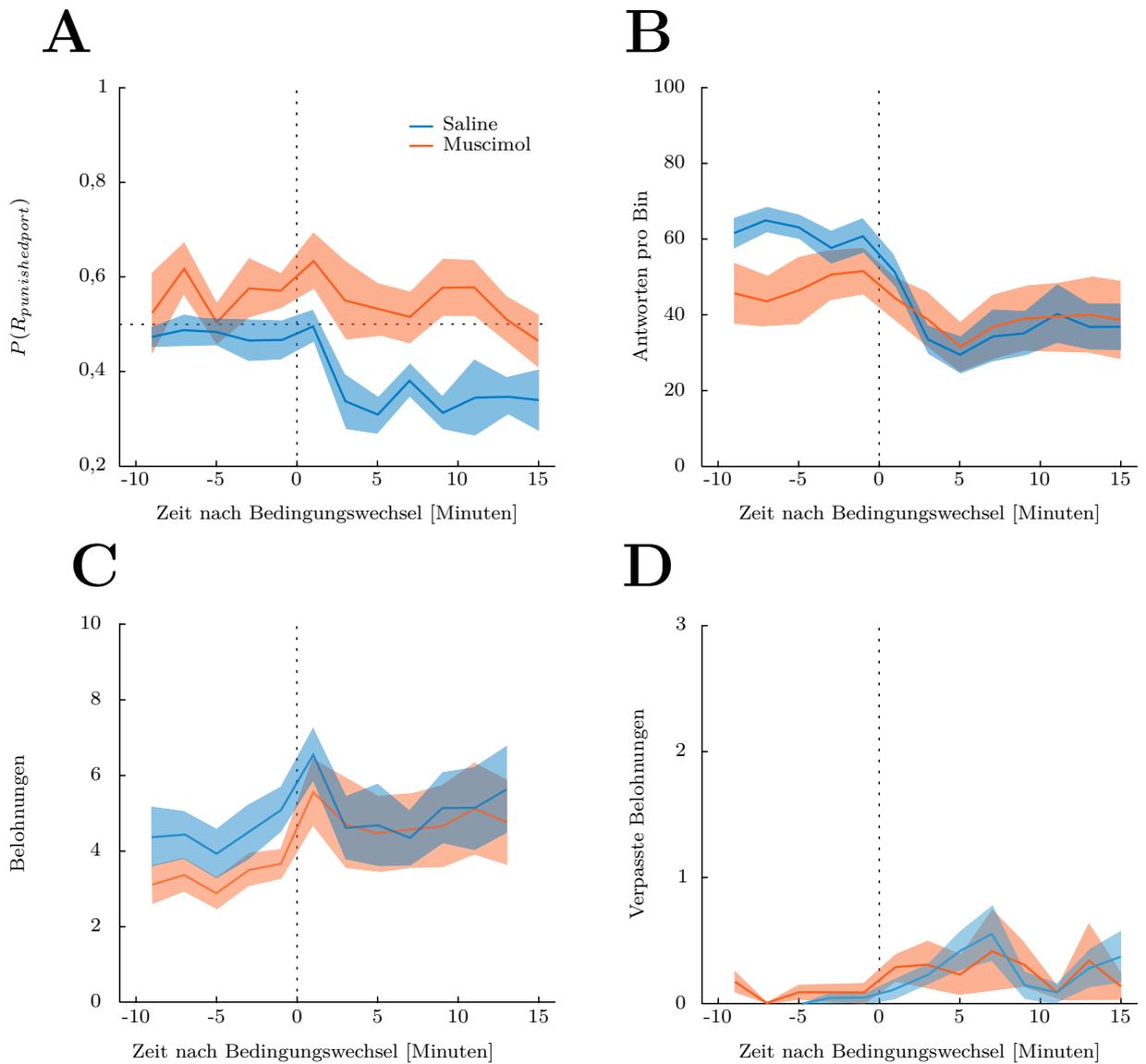


Abbildung 8.1: Adaptation an Bestrafung und Beteiligung des mPFC. **(A)** Durchschnittliche Wahrscheinlichkeit den mit Bestrafung assoziierten Port zu bevorzugen gemittelt über die Versuchstiere in mehreren Trainings. Die vertikal gestrichelte Linie zeigt die Einführung der Bestrafung an. Nach Saline Infusion präferieren die Versuchstiere den nicht-mit Bestrafung assoziierten Port und passen ihr Verhalten dementsprechend an. Nach Inaktivierung des mPFC findet die Anpassung nicht statt. **(B)** wie in **(A)**, aber dargestellt sind die operanten Antworten. **(C)** wie in **(A)**, aber dargestellt sind die ausgelösten Belohnungen. **(D)** wie in **(A)**, aber dargestellt sind die verpassten Belohnungen.

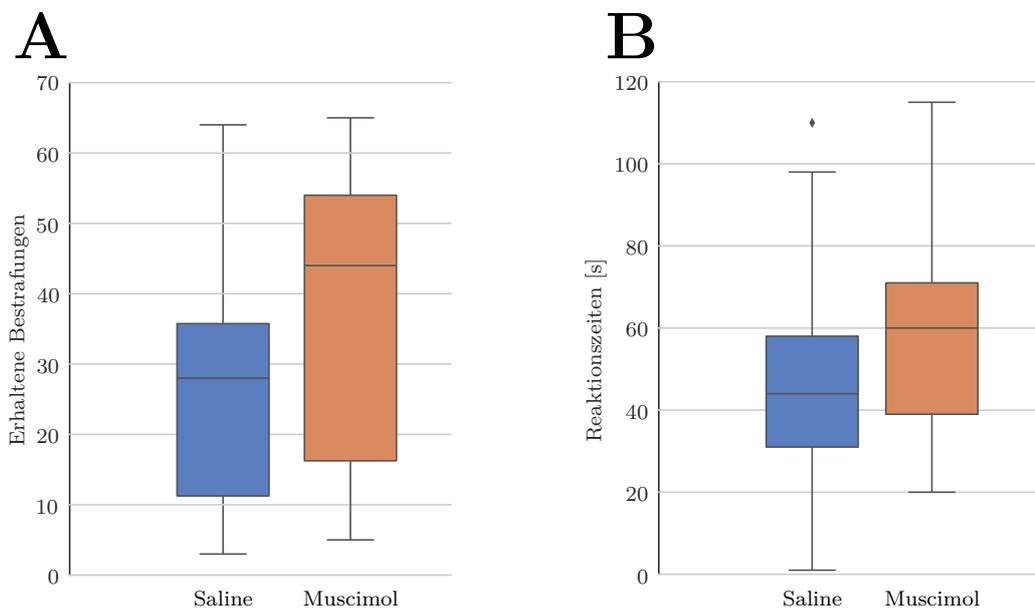


Abbildung 8.2: **(A)**: Erhaltene Bestrafungen unter Saline und Muscimol. Die Tiere erhielten signifikant häufiger Bestrafungen nach Inaktivierung des mPFC. **(B)**: Reaktionszeiten der Versuchstiere im Hot Plate Test. Die mPFC Inaktivierung verursachte keine signifikante Veränderung der Reaktionszeiten.

8.3 Diskussion

Die Tiere passten nach zerebraler Muscimol Infusion ihr Verhalten nicht an, um den aversiven Stimulus zu umgehen, wie sie es im Kapitel 7 gezeigt hatten und erhielten somit auch häufiger Bestrafungen. Im Hot Plate Test konnte zwar kein signifikanter quantitativer Unterschied gemessen werden, aber die Tiere reagierten inadäquat um dem thermalen Schmerzreiz zu entgehen. Möglicherweise wurde durch die Inaktivierung des mPFC auch die Schmerzwahrnehmung verändert. Es gibt zahlreiche Studien, die dem PFC eine wichtige Schnittstelle in der Wahrnehmung von sensorischer und affektiver Schmerzwahrnehmung zuschreiben (Zhang et al., 2015; Kong et al., 2013; Schulz et al., 2015; Apkarian et al., 2005). Es konnte gezeigt werden, dass der mPFC in der Regulation und Prozessierung von kognitiven und emotionalen Affekten bezüglich aversiver Reize (Gilmartin, Kwapis und Helmstetter, 2013; Gilmartin, Balderston und Helmstetter, 2014; Jiang et al., 2014) und Schmerz (Baulmann et al., 1999; Luongo et al., 2013; Okine et al., 2016) eine entscheidende Rolle spielt. Ong, Stohler und Herr (2019) beschrieben eine allgemeine Schmerzdesensibilisierung durch eine Inaktivierung des mPFC, da der mPFC aufgrund seiner Konnektivität zu anderen Hirnarealen antinozizeptive Effekte herbeiführt. Geng et al. (2016) zeigten in ihrer Studie, dass eine durch Muscimol induzierte Inaktivierung des mPFC die sensorische Schmerzwahrnehmung thermaler Stimuli nicht beeinflusst, aber die Schmerzwahrnehmung mechanischer Schmerzen herabsetzt.

Da es sich bei Schmerz um eine komplexe, subjektive Sinneswahrnehmung (Bushnell, Čeko und Low, 2013) handelt, könnten auch die Erlebnisse im Training (mehr Bestrafungen nach mPFC Inaktivierung, viele erhaltene Belohnungen in Saline Sessions) die Hot Plate Testung beeinflusst haben. So war möglicherweise die Aversivität und nicht die sensorische Schmerzwahrnehmung reduziert. Qualitativ konnte bei allen Tieren beobachtet werden, dass sie inadäquat reagierten, um dem thermalen Reiz zu entgehen. In den Kontrollsitzen sprangen die Tiere in die Luft, oder leckten sich die Pfoten, um dem thermalen Reiz auszuweichen. In den Sitzungen, in denen der mPFC inaktiviert war blieben die Ratten sitzen, aber ihre Herz- und Atemfrequenz nahmen zu. Die Messdaten, der Beobachter wiesen eine hohe Varianz auf. Die Beobachter erhielten eine Liste mit möglichen Reaktionen der Ratten, die ein Unwohlsein signalisieren könnten. Anschließend wurden den Beobachtern die Videos gezeigt und sie sollten die Zeit benennen, ab der die Ratten auf den thermischen Reiz reagierten. Bei Auswertung der Daten ergaben sich große interindividuelle Unterschiede, ab welchem Zeitpunkt die Beobachter ein Unbehagen der Versuchstiere wahrnahmen. Eine weitere mögliche Erklärung ist, dass die Wahrnehmung und die Aversivität unverändert war, aber dass die Tiere ihr Verhalten nicht flexibel und adäquat anpassen konnten. Weitere Versuche mit einer größeren Kohorte wären notwendig, um die Frage abschließend zu beantworten.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass die Inaktivierung des mPFC dazu führte, dass die Versuchstiere ihr Verhalten nicht mehr anpassten, um Bestrafungen zu vermeiden.

Kapitel 9

Zusammenfassung

Die Intention dieser Arbeit lag darin, ein Verhaltensparadigma zu etablieren, das die Untersuchung adaptiven Entscheidungsverhaltens bei Änderungen von Belohnungs- und Bestrafungskontingenzen in Kombination mit neuropharmakologischen Manipulationen erlaubt. Das in dieser Arbeit implementierte Paradigma wurde schnell erlernt, beinhaltete negative sowie positive Konsequenzen, deren Veränderungen reproduzierbare Verhaltensänderungen der Versuchstiere erzielten, und wir konnten zeigen, dass dieses Paradigma sich mit pharmakologischer Manipulation des mPFC kombinieren lässt.

Die Versuchstiere lernten innerhalb weniger Minuten, dass und wie sie Belohnungen auslösen konnten und passten ihr operantes Verhalten konform zum *Matching Law* an. Innerhalb von zwei bis drei Trainingstagen erreichten sie ein asymptotisches Leistungsniveau im Verhaltenstraining. Ein schnell erlernbares Paradigma ermöglicht nicht nur eine Reduktion der experimentellen Arbeit, sondern erlaubt auch elektrophysiologisch einzelne Neurone beim Lernvorgang zu beobachten. Dies gestaltet sich häufig schwierig, wenn ein operantes Verhalten über einen längeren Zeitraum erlernt werden musste. Ein weiterer Vorteil des hier vorgestellten Paradigmas ist, dass es möglich ist mehrere Kontingenzwechsel in einer einzigen Trainingssession zu implementieren. Dies ermöglicht es elektrophysiologische Einzelzelleitungen vor und nach einem Kontingenzwechsel zu erfassen, um zu beobachten, ob sich die Aktionspotenzialfrequenz der Neuronen bei einem Bedingungswechsel ändert. Dies wurde bereits erfolgreich bei Affen (Paton et al., 2006) und Tauben (Starosta, Stüttgen und Güntürkün, 2014), aber kaum bei Nagern untersucht.

Es konnte gezeigt werden, dass der mPFC eine bedeutende Rolle bei dem untersuchten Verhalten spielt. In die Entscheidungsaufgabe konnten negative Stimuli involviert werden, was ein adäquateres Abbild der Natur darstellt, da die Konsequenzen des Handelns zu meist sowohl positive als auch negative Folgen haben. Es zeigte sich, dass die Versuchstiere eine klare Präferenz für die nicht mit Bestrafung assoziierte Belohnung entwickelten, auch wenn sie dadurch weniger Belohnungen erhielten. Bei Inaktivierung des mPFC war das Verhalten der Versuchstiere indifferent und sie vermieden nicht den operanten Port, der mit Bestrafung assoziiert war. Es konnte allerdings nicht abschließend geklärt werden, ob dies zum Teil auf eine reduzierte Schmerzwahrnehmung der Versuchstiere zurückzuführen war.

Des Weiteren wurde der Einfluss pharmakologischer Substanzen auf das operante Verhalten untersucht. Die systemische Gabe von Substanzen, die mit dem Dopamin-D₂-Rezeptor interagieren, veränderten das operante Verhalten in der Entscheidungsaufgabe. Dies hängt vermutlich mit dem dopaminergen Signalweg im Belohnungslernen und der Modulation der kognitiven Flexibilität zusammen (Stoilova, Wette und Stüttgen, 2019).

Nachdem dieses Verhaltensparadigma implementiert und über mehrere Monate etabliert wurde, wäre es in folgenden Versuchen denkbar, weitere Variablen zu einzuführen. Über implantierte Elektroden ließen sich extrazelluläre Einzelzelleitungen in verschiedenen Subarealen des präfrontalen Kortex ableiten. Durch die Einzelzelleitungen ließen sich neuronale Aktivität beim Lernvorgang und bei der Entscheidungsfindung erfassen. Außerdem wäre es denkbar, dass einzelne Hirnareale bei der Entscheidungsaufgabe mittels Reizelektroden elektrisch stimuliert werden und man beobachten könnte, wie das operante Verhalten dadurch modifiziert wird. Durch diese Techniken oder die Kombination dieser Techniken -transiente Inaktivierung bestimmter Hirnregionen über intrazerebrale Kanülen, intrazerebrale Elektroden zur Einzelzelleitung oder elektrischen Stimulation- wird die Zuordnung eines bestimmten Hirnareals beziehungsweise ein neuronales Aktivitätsmuster einer abgrenzbaren kognitiven Leistung ermöglicht. Dies wird helfen, die Bedeutung und Funktion verschiedener Areale des präfrontalen Kortex zu erfassen und ermöglicht somit zukünftig psychiatrische Erkrankungen besser zu verstehen und mögliche Therapieansätze zu implementieren.

Literaturverzeichnis

- Adams, Christopher D. (1982). „Variations in the sensitivity of instrumental responding to reinforcer devaluation“. In: *The Quarterly Journal of Experimental Psychology Section B* 34.2b, S. 77–98.
- Amaral, David G. (1987). „Memory: anatomical organization of candidate brain regions“. In: *In Handbook of Physiology, Section 1: The Nervous System* 5, S. 211–294.
- Amodeo, Dionisio A. et al. (2017). „Cognitive flexibility impairment and reduced frontal cortex BDNF expression in the ouabain model of mania“. In: *Neuroscience* 345, S. 229–242.
- Apkarian, A. Vania et al. (2005). „Human brain mechanisms of pain perception and regulation in health and disease“. In: *European journal of pain* 9.4, S. 463–484.
- Azrin, Nathan H. (1960). „Sequential effects of punishment“. In: *Science* 131.3400, S. 605–606.
- Azrin, Nathan H. und W.C. Holz (1966). „Punishment in Operant Behavior“. In: *Operant Behavior. Areas of Research and Application*. Honig, WK, Ed. Appleton-Century-Crofts, New York.
- Baker, Phillip M. und Michael E. Ragozzino (2014). „The prelimbic cortex and subthalamic nucleus contribute to cue-guided behavioral switching“. In: *Neurobiology of learning and memory* 107, S. 65–78.
- Balleine, Bernard W. (2019). „The meaning of behavior: discriminating reflex and volition in the brain“. In: *Neuron* 104.1, S. 47–62.
- Balleine, Bernard W. und Anthony Dickinson (1991). „Instrumental performance following reinforcer devaluation depends upon incentive learning“. In: *The Quarterly Journal of Experimental Psychology* 43.3, S. 279–296.
- Balleine, Bernard W. und Anthony Dickinson (1998). „Goal-directed instrumental action: contingency and incentive learning and their cortical substrates“. In: *Neuropharmacology* 37.4-5, S. 407–419.
- Balsam, Peter D, Michael R Drew und CR Gallistel (2010). „Time and associative learning“. In: *Comparative cognition & behavior reviews* 5, S. 1.
- Barbas, Helen und Gene J. Blatt (1995). „Topographically specific hippocampal projections target functionally distinct prefrontal areas in the rhesus monkey“. In: *Hippocampus* 5.6, S. 511–533.

- Barrett, James E und Susan M Hoffmann (1991). „Neurochemical changes correlated with behavior maintained under fixed-interval and fixed-ratio schedules of reinforcement“. In: *Journal of the experimental analysis of behavior* 56.2, S. 395–405.
- Bathellier, Brice et al. (2013). „A multiplicative reinforcement learning model capturing learning dynamics and interindividual variability in mice“. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences* 110.49, S. 19950–19955.
- Baulmann, J. et al. (1999). „Tachykinin receptor inhibition and c-Fos expression in the rat brain following formalin-induced pain“. In: *Neuroscience* 95.3, S. 813–820.
- Baum, William M (1993). „Performances on ratio and interval schedules of reinforcement: Data and theory“. In: *Journal of the experimental analysis of behavior* 59.2, S. 245–264.
- Baum, William M. (1974). „On two types of deviation from the matching law: bias and undermatching 1“. In: *Journal of the experimental analysis of behavior* 22.1, S. 231–242.
- Berry, Anne S. et al. (2016). „Aging affects dopaminergic neural mechanisms of cognitive flexibility“. In: *Journal of Neuroscience* 36.50, S. 12559–12569.
- Birrell, Jennifer M und Verity J Brown (2000). „Medial frontal cortex mediates perceptual attentional set shifting in the rat“. In: *Journal of Neuroscience* 20.11, S. 4320–4324.
- Boakes, Robert A. (1993). „The role of repetition in transforming actions into habits: The contribution of John Watson and contemporary research to a persistent theme“. In: *Mexican journal of behavior analysis*, S. 67–90.
- Bouton, Mark E. und Scott T. Schepers (2015). „Renewal after the punishment of free operant behavior.“ In: *Journal of Experimental Psychology: Animal Learning and Cognition* 41.1, S. 81.
- Brodmann, Korbinian (1912). „Neue Ergebnisse über die vergleichende histologische Lokalisation der Grosshirnrinde mit besonderer Berücksichtigung des Stirnhirns“. In: *Anat Anz* 41.Suppl, S. 157–216.
- Broersen, Laus M et al. (1995). „The role of the medial prefrontal cortex of rats in short-term memory functioning: further support for involvement of cholinergic, rather than dopaminergic mechanisms“. In: *Brain research* 674.2, S. 221–229.
- Brown, Verity J. und Eric M. Bowman (2002). „Rodent models of prefrontal cortical function“. In: *Trends in neurosciences* 25.7, S. 340–343.
- Bryan, William Lowe und Noble Harter (1897). „Studies in the physiology and psychology of the telegraphic language.“ In: *Psychological Review* 4.1, S. 27.
- Bushnell, M. Catherine, Marta Čeko und Lucie A. Low (2013). „Cognitive and emotional control of pain and its disruption in chronic pain“. In: *Nature Reviews Neuroscience* 14.7, S. 502–511.
- Campos, Alline C et al. (2013). „Animal models of anxiety disorders and stress“. In: *Brazilian Journal of Psychiatry* 35, S101–S111.

- Church, Russell M. (1963). „The varied effects of punishment on behavior.“ In: *Psychological Review* 70.5, S. 369.
- Cole, Mark R (1994). „Response-rate differences in variable-interval and variable-ratio schedules: An old problem revisited“. In: *Journal of the Experimental Analysis of Behavior* 61.3, S. 441–451.
- Conel, J. LeR (1939). *The postnatal development of the human cerebral cortex. Vol. 1. The cortex of the newborn.* Harvard Univ. Press.
- Corbit, Laura H. und Bernard W. Balleine (2003). „The role of prelimbic cortex in instrumental conditioning“. In: *Behavioural brain research* 146.1-2, S. 145–157.
- Critchfield, Thomas S und Kennon A Lattal (1993). „Acquisition of a spatially defined operant with delayed reinforcement“. In: *Journal of the Experimental Analysis of behavior* 59.2, S. 373–387.
- Cronin, Patricia B (1980). „Reinstatement of postresponse stimuli prior to reward in delayed-reward discrimination learning by pigeons“. In: *Animal Learning & Behavior* 8.3, S. 352–358.
- Crosbie, John (1998). „Negative reinforcement and punishment“. In: *Handbook of research methods in human operant behavior.* Springer, S. 163–189.
- Dajani, Dina R. und Lucina Q. Uddin (2015). „Demystifying cognitive flexibility: Implications for clinical and developmental neuroscience“. In: *Trends in neurosciences* 38.9, S. 571–578.
- Dalton, Gemma L. et al. (2016). „Multifaceted contributions by different regions of the orbitofrontal and medial prefrontal cortex to probabilistic reversal learning“. In: *Journal of Neuroscience* 36.6, S. 1996–2006.
- Dawson, GR und Anthony Dickinson (1990). „Performance on ratio and interval schedules with matched reinforcement rates“. In: *The Quarterly Journal of Experimental Psychology Section B* 42.3b, S. 225–239.
- De Bruin, Jan PC et al. (2000). „Role of the prefrontal cortex of the rat in learning and decision making: effects of transient inactivation“. In: *Progress in brain research* 126, S. 103–113.
- Diamond, Adele (2013). „Executive functions“. In: *Annual review of psychology* 64, S. 135–168.
- Dickinson, Anthony et al. (1995). „Motivational control after extended instrumental training“. In: *Animal Learning & Behavior* 23.2, S. 197–206.
- Divac, Ivan (1971). „Frontal lobe system and spatial reversal in the rat“. In: *Neuropsychologia* 9.2, S. 175–183.
- Dunnett, Stephen B (1990). „Role of prefrontal cortex and striatal output systems in short-term memory deficits associated with ageing, basal forebrain lesions, and cholinergic-rich grafts.“ In: *Canadian Journal of Psychology/Revue canadienne de psychologie* 44.2, S. 210.

- Durstewitz, Daniel et al. (2010). „Abrupt transitions between prefrontal neural ensemble states accompany behavioral transitions during rule learning“. In: *Neuron* 66.3, S. 438–448.
- Eslinger, Paul J. und Lynn M. Grattan (1993). „Frontal lobe and frontal-striatal substrates for different forms of human cognitive flexibility“. In: *Neuropsychologia* 31.1, S. 17–28.
- Everitt, Barry J und Trevor W Robbins (2022). „Updating Actions to Habits to Compulsions Ten Years On“. In: *Evaluating the Brain Disease Model of Addiction*.
- Feenstra, Matthijs GP und Jan PC de Bruin (2004). „Strategy switching and the rat prefrontal cortex“. In: *Prefrontal cortex: From synaptic plasticity to cognition*. Springer, S. 175–200.
- Field, Matt et al. (2020). „Recovery from addiction: Behavioral economics and value-based decision making.“ In: *Psychology of Addictive Behaviors* 34.1, S. 182.
- Flechsig, Paul Emil (1920). *Anatomie des menschlichen Gehirns und Rückenmarks auf myelogenetischer Grundlage. v. 1. Bd. 1*. G. Thieme.
- Floresco, Stan B., Annie E. Block und T.L. Maric (2008). „Inactivation of the medial prefrontal cortex of the rat impairs strategy set-shifting, but not reversal learning, using a novel, automated procedure“. In: *Behavioural brain research* 190.1, S. 85–96.
- Funahashi, Shintaro und Jorge Mario Andreau (2013). „Prefrontal cortex and neural mechanisms of executive function“. In: *Journal of Physiology-Paris* 107.6, S. 471–482.
- Fuster, Joaquín M. (1995). *Memory in the cerebral cortex: an empirical approach to neural networks in the human and nonhuman primate*. The MIT Press.
- Fuster, Joaquín M., Mark Bodner und James K. Kroger (2000). „Cross-modal and cross-temporal association in neurons of frontal cortex“. In: *Nature* 405.6784, S. 347–351.
- Gallistel, C Randy und John Gibbon (2000). „Time, rate, and conditioning.“ In: *Psychological review* 107.2, S. 289.
- Gehring, William J. und Robert T. Knight (2000). „Prefrontal–cingulate interactions in action monitoring“. In: *Nature neuroscience* 3.5, S. 516–520.
- Geng, Kai-Wen et al. (2016). „Ethanol increases mechanical pain sensitivity in rats via activation of GABA A receptors in medial prefrontal cortex“. In: *Neuroscience bulletin* 32.5, S. 433–444.
- Gilmartin, Marieke R., Nicholas L. Balderston und Fred J. Helmstetter (2014). „Prefrontal cortical regulation of fear learning“. In: *Trends in neurosciences* 37.8, S. 455–464.
- Gilmartin, Marieke R., Janine L. Kwapis und Fred J. Helmstetter (2013). „NR2A-and NR2B-containing NMDA receptors in the prelimbic medial prefrontal cortex differentially mediate trace, delay, and contextual fear conditioning“. In: *Learning & memory* 20.6, S. 290–294.
- Gold, Joshua I. und Michael N. Shadlen (2007). „The neural basis of decision making“. In: *Annual Review of Neuroscience* 30, S. 535–574.
- Grace, Randolph C. und Andrew D. Hucks (2013). „The allocation of operant behavior“. In: *APA handbook of behavior analysis*.

- Haddon, Josephine Elizabeth, David Noel George und S. Killcross (2008). „Contextual control of biconditional task performance: evidence for cue and response competition in rats“. In: *Quarterly journal of experimental psychology* 61.9, S. 1307–1320.
- Hammar, Åsa und Guro Årdal (2009). „Cognitive functioning in major depression-a summary“. In: *Frontiers in human neuroscience* 3, S. 26.
- Heidbreder, Christian A. und Henk J. Groenewegen (2003). „The medial prefrontal cortex in the rat: evidence for a dorso-ventral distinction based upon functional and anatomical characteristics“. In: *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 27.6, S. 555–579.
- Herrnstein, Richard J. (1961). „Relative and absolute strength of response as a function of frequency of reinforcement“. In: *Journal of the experimental analysis of behavior* 4.3, S. 267.
- Hogarth, Lee (2020). „Addiction is driven by excessive goal-directed drug choice under negative affect: translational critique of habit and compulsion theory“. In: *Neuropsychopharmacology* 45.5, S. 720–735.
- Hull, Clark L (1930). „Knowledge and purpose as habit mechanisms.“ In: *Psychological review* 37.6, S. 511.
- Huttenlocher, Peter R. (1990). „Morphometric study of human cerebral cortex development“. In: *Neuropsychologia* 28.6, S. 517–527.
- Huttenlocher, Peter R. und Arun S. Dabholkar (1997). „Regional differences in synaptogenesis in human cerebral cortex“. In: *Journal of comparative Neurology* 387.2, S. 167–178.
- Iigaya, Kiyohito et al. (2017). „Learning fast and slow: deviations from the matching law can reflect an optimal strategy under uncertainty“. In: *bioRxiv*, S. 141309.
- Izquierdo, Alicia und Annabelle M. Belcher (2012). „Rodent models of adaptive decision making“. In: *Psychiatric Disorders*. Springer, S. 85–101.
- Izquierdo, Alicia, Jonathan L. Brigman et al. (2017). „The neural basis of reversal learning: an updated perspective“. In: *Neuroscience* 345, S. 12–26.
- Jacobson, Stanley, Nelson Butters und Nisa J. Tovsky (1978). „Afferent and efferent subcortical projections of behaviorally defined sectors of prefrontal granular cortex“. In: *Brain Research* 159.2, S. 279–296.
- James, William (1863). *Principles of psychology*. Henry Holt und Company.
- Jaramillo, Santiago, Katharine Borges und Anthony M. Zador (2014). „Auditory thalamus and auditory cortex are equally modulated by context during flexible categorization of sounds“. In: *Journal of Neuroscience* 34.15, S. 5291–5301.
- Jean-Richard-dit-Bressel, Philip et al. (2023). „A cognitive pathway to punishment insensitivity“. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences* 120.15, e2221634120.
- Jerison, Harry J. (1994). „Evolution of the brain“. In: *Neuropsychology*. Elsevier, S. 53–82.
- Jiang, Zhao-Cai et al. (2014). „Inactivation of the prelimbic rather than infralimbic cortex impairs acquisition and expression of formalin-induced conditioned place avoidance“. In: *Neuroscience letters* 569, S. 89–93.

- Karlsson, Mattias P., Dougal G.R. Tervo und Alla Y. Karpova (2012). „Network resets in medial prefrontal cortex mark the onset of behavioral uncertainty“. In: *Science* 338.6103, S. 135–139.
- Kievit, Job und Henricus G. Kuypers (1975). „Basal forebrain and hypothalamic connection to frontal and parietal cortex in the Rhesus monkey“. In: *Science* 187.4177, S. 660–662.
- Killcross, S. und Etienne Coutureau (2003). „Coordination of actions and habits in the medial prefrontal cortex of rats“. In: *Cerebral cortex* 13.4, S. 400–408.
- Kimble, Gregory A. und Lawrence C. Perlmutter (1970). „The problem of volition.“ In: *Psychological Review* 77.5, S. 361.
- Kimchi, Eyal Yaacov und Mark Laubach (2009). „Dynamic encoding of action selection by the medial striatum“. In: *Journal of Neuroscience* 29.10, S. 3148–3159.
- Kolb, Bryan (1974a). „Dissociation of the effects of lesions of the orbital or medial aspect of the prefrontal cortex of the rat with respect to activity“. In: *Behavioral Biology* 10.3, S. 329–343.
- Kolb, Bryan (1974b). „Prefrontal lesions alter eating and hoarding behavior in rats“. In: *Physiology & behavior* 12.3, S. 507–511.
- Kolb, Bryan, Arthur J Nonneman und RK Singh (1974). „Double dissociation of spatial impairments and perseveration following selective prefrontal lesions in rats.“ In: *Journal of comparative and physiological psychology* 87.4, S. 772.
- Kolb, Bryan und Ian Q Whishaw (1981). „Neonatal Frontal Lesions in the rat: sparing of learned but not species-typical behavior in the presence of reduced brain weight and cortical thickness.“ In: *Journal of comparative and physiological psychology* 95.6, S. 863.
- Kong, Jian et al. (2013). „Functional connectivity of the frontoparietal network predicts cognitive modulation of pain“. In: *PAIN®* 154.3, S. 459–467.
- Krupa, David J., Asif A. Ghazanfar und Miguel A.L. Nicolelis (1999). „Immediate thalamic sensory plasticity depends on corticothalamic feedback“. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences* 96.14, S. 8200–8205.
- Lattal, Kennon A und Josele Abreu-Rodrigues (1997). „Response-independent events in the behavior stream“. In: *Journal of the Experimental Analysis of Behavior* 68.3, S. 375–398.
- Lattal, Kennon A und Suzanne Gleeson (1990). „Response acquisition with delayed reinforcement.“ In: *Journal of Experimental psychology: Animal behavior processes* 16.1, S. 27.
- LeDoux, Joseph E. (1993). „Emotional memory systems in the brain“. In: *Behavioural brain research* 58.1-2, S. 69–79.
- Leenaars, Cathalijn H.C. et al. (2012). „Switch-task performance in rats is disturbed by 12 h of sleep deprivation but not by 12 h of sleep fragmentation“. In: *Sleep* 35.2, S. 211–221.

- Luongo, Livio et al. (2013). „Role of metabotropic glutamate receptor 1 in the basolateral amygdala-driven prefrontal cortical deactivation in inflammatory pain in the rat“. In: *Neuropharmacology* 66, S. 317–329.
- Lüscher, Christian, Trevor W Robbins und Barry J Everitt (2020). „The transition to compulsion in addiction“. In: *Nature Reviews Neuroscience* 21.5, S. 247–263.
- McDevitt, Margaret A und Ben A Williams (2001). „Effects of signaled versus unsignaled delay of reinforcement on choice“. In: *Journal of the Experimental Analysis of Behavior* 75.2, S. 165–182.
- Memari, Amir Hossein et al. (2013). „Cognitive flexibility impairments in children with autism spectrum disorders: links to age, gender and child outcomes“. In: *Research in Developmental Disabilities* 34.10, S. 3218–3225.
- Miller, Earl K. und Jonathan D. Cohen (2001). „An integrative theory of prefrontal cortex function“. In: *Annual review of neuroscience* 24.1, S. 167–202.
- Muir, Janice L, Barry J Everitt und Trevor W Robbins (1996). „The cerebral cortex of the rat and visual attentional function: dissociable effects of mediofrontal, cingulate, anterior dorsolateral, and parietal cortex lesions on a five-choice serial reaction time task“. In: *Cerebral cortex* 6.3, S. 470–481.
- Mulder, Guy B. und Kathleen Pritchett (2004). „Rodent analgesiometry: the hot plate, tail flick and Von Frey hairs“. In: *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science* 43.3, S. 54–55.
- O'Reilly, Randall C. et al. (2002). „Prefrontal cortex and dynamic categorization tasks: representational organization and neuromodulatory control“. In: *Cerebral cortex* 12.3, S. 246–257.
- Okine, Bright N. et al. (2016). „N-palmitoylethanolamide in the anterior cingulate cortex attenuates inflammatory pain behaviour indirectly via a CB1 receptor-mediated mechanism“. In: *Pain* 157.12, S. 2687–2696.
- Ong, Wei-Yi, Christian S Stohler und Deron R. Herr (2019). „Role of the prefrontal cortex in pain processing“. In: *Molecular neurobiology* 56.2, S. 1137–1166.
- Otto, Tim und Howard Eichenbaum (1992). „Complementary roles of the orbital prefrontal cortex and the perirhinal-entorhinal cortices in an odor-guided delayed-nonmatching-to-sample task“. In: *Behavioral neuroscience* 106.5, S. 762.
- Oualian, Catherine und Pascale Gisquet-Verrier (2010). „The differential involvement of the prelimbic and infralimbic cortices in response conflict affects behavioral flexibility in rats trained in a new automated strategy-switching task“. In: *Learning & memory* 17.12, S. 654–668.
- Padoa-Schioppa, Camillo (2011). „Neurobiology of economic choice: a good-based model“. In: *Annual review of neuroscience* 34, S. 333–359.
- Park, Junchol und Bitu Moghaddam (2017a). „Impact of anxiety on prefrontal cortex encoding of cognitive flexibility“. In: *Neuroscience* 345, S. 193–202.

- Park, Junchol und Bitá Moghaddam (2017b). „Risk of punishment influences discrete and coordinated encoding of reward-guided actions by prefrontal cortex and VTA neurons“. In: *Elife* 6.
- Paton, Joseph J. et al. (2006). „The primate amygdala represents the positive and negative value of visual stimuli during learning“. In: *Nature* 439.7078, S. 865–870.
- Pietersen, C.Y. et al. (2006). „Fear conditioning and shock intensity: the choice between minimizing the stress induced and reducing the number of animals used“. In: *Laboratory animals* 40.2, S. 180–185.
- Porrino, L.J., A.M. Crane und P.S. Goldman-Rakic (1981). „Direct and indirect pathways from the amygdala to the frontal lobe in rhesus monkeys“. In: *Journal of Comparative Neurology* 198.1, S. 121–136.
- Raposo, David et al. (2012). „Multisensory decision-making in rats and humans“. In: *Journal of neuroscience* 32.11, S. 3726–3735.
- Ray, James P. und Joseph L. Price (1993). „The organization of projections from the mediodorsal nucleus of the thalamus to orbital and medial prefrontal cortex in macaque monkeys“. In: *Journal of Comparative Neurology* 337.1, S. 1–31.
- Reed, Phil et al. (2000). „Free-operand performance on variable interval schedules with a linear feedback loop: no evidence for molar sensitivities in rats.“ In: *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes* 26.4, S. 416.
- Reynolds, George Stanley (1975). „A primer of operant conditioning, rev“. In:
- Rich, Erin L. und Matthew Shapiro (2009). „Rat prefrontal cortical neurons selectively code strategy switches“. In: *Journal of Neuroscience* 29.22, S. 7208–7219.
- Rodgers, Chris C. und Michael R. DeWeese (2014). „Neural correlates of task switching in prefrontal cortex and primary auditory cortex in a novel stimulus selection task for rodents“. In: *Neuron* 82.5, S. 1157–1170.
- Rosene, Douglas L. und Gary W. Van Hoesen (1977). „Hippocampal efferents reach widespread areas of cerebral cortex and amygdala in the rhesus monkey“. In: *Science* 198.4314, S. 315–317.
- Sato, Yasuhiro et al. (2013). „Neural basis of impaired cognitive flexibility in patients with anorexia nervosa“. In: *PloS one* 8.5, e61108.
- Schaal, David W et al. (1998). „Mechanisms underlying the effects of unsignaled delayed reinforcement on key pecking of pigeons under variable-interval schedules“. In: *Journal of the Experimental Analysis of Behavior* 69.2, S. 103–122.
- Schulz, Enrico et al. (2015). „Prefrontal gamma oscillations encode tonic pain in humans“. In: *Cerebral cortex* 25.11, S. 4407–4414.
- Shimp, Kristy G. et al. (2015). „Affective and cognitive mechanisms of risky decision making“. In: *Neurobiology of learning and memory* 117, S. 60–70.
- Shipley, James E und Bryan Kolb (1977). „Neural correlates of species-typical behavior in the Syrian golden hamster.“ In: *Journal of Comparative and Physiological Psychology* 91.5, S. 1056.

- Skinner, B.F. (1938). *The behavior of organisms*. Appleton-Century Co, S. 457.
- Skinner, B.F. (1953). „Selections from Science and Human Behavior“. In: *Readings in Philosophy of Psychology* 1.
- Staddon, John E.R. und Daniel T. Cerutti (2003). „Operant conditioning“. In: *Annual review of psychology* 54.1, S. 115–144.
- Starosta, Sarah, Maik C. Stüttgen und Onur Güntürkün (2014). „Recording single neurons' action potentials from freely moving pigeons across three stages of learning“. In: *JoVE (Journal of Visualized Experiments)* 88, e51283.
- Stoilova, Vanya V., Sina A. Wette und Maik C. Stüttgen (2019). „A Free-Operant Reward-Tracking Paradigm to Study Neural Mechanisms and Neurochemical Modulation of Adaptive Behavior in Rats“. In: *International journal of molecular sciences* 20.12, S. 3098.
- Thorndike, Edward L. (1898). „Animal intelligence: An experimental study of the associative processes in animals.“ In: *The Psychological Review: Monograph Supplements* 2.4, S. i.
- Thorndike, Edward L. (1912). *Animal intelligence. Experimental studies*.
- Tran-Tu-Yen, Delphine A.S. et al. (2009). „Transient role of the rat prelimbic cortex in goal-directed behaviour“. In: *European Journal of Neuroscience* 30.3, S. 464–471.
- Uylings, Harry BM, Henk J Groenewegen und Bryan Kolb (2003). „Do rats have a prefrontal cortex?“ In: *Behavioural brain research* 146.1-2, S. 3–17.
- Vaghi, Matilde M. et al. (2017). „Specific frontostriatal circuits for impaired cognitive flexibility and goal-directed planning in obsessive-compulsive disorder: evidence from resting-state functional connectivity“. In: *Biological psychiatry* 81.8, S. 708–717.
- Wiegand, Martin (2013). *Prozesse organisationalen lernens*. Bd. 174. Springer-Verlag.
- Wikmark, RGE, I Divac und R Weiss (1973). „Retention of spatial delayed alternation in rats with lesions in the frontal lobes“. In: *Brain, behavior and evolution* 8.5, S. 329–339.
- Williams, Ben A (1991). „Marking and bridging versus conditioned reinforcement“. In: *Animal Learning & Behavior* 19.3, S. 264–269.
- Winter, Janet und Charles C Perkins (1982). „Immediate reinforcement in delayed reward learning in pigeons“. In: *Journal of the Experimental Analysis of Behavior* 38.2, S. 169–179.
- Yuan, Peng und Naftali Raz (2014). „Prefrontal cortex and executive functions in healthy adults: a meta-analysis of structural neuroimaging studies“. In: *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 42, S. 180–192.
- Zhang, Zizhen et al. (2015). „Role of prelimbic GABAergic circuits in sensory and emotional aspects of neuropathic pain“. In: *Cell reports* 12.5, S. 752–759.
- Zimbardo, Philip G (2013). *Psychologie*. Springer-Verlag.

Anhang A

Appendix

A.1 Verwendete Geräte

Tabelle A.1: Verwendete Geräte.

Gerätebezeichnung	Firma	Erklärung
BioScape UniProtect	Zoonlab, Castrop-Rauxel, Deutschland	Luftstromschrank
ENV-008	Med Associates, Georgia, VT, USA	Skinnerbox
ENV-414SA	Med Associates, Georgia, VT, USA	Schocker-Modul
LIC.80117RM	Lafayette Instrument, Lafayette, IN, USA	Ports
EZ-B800	World Precision Instruments, Sarasota, FL, USA	Narkoseeinleitungskammer
C315I	PlasticsOne	Infusionskanüle
Pump 11 Elite	Harvard Apparatus, Holliston, MA, USA	Infusionspumpe
Keyence BZ-8000K	Keyence, Osaka, Japan	Fluoreszenz Mikroskop
Hot/Cold Plate NG 35100	Ugo-Basile, Gemonio, Italien	Hot Plate Test

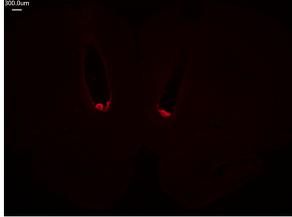
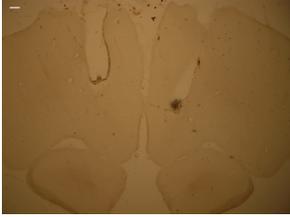
A.2 Verwendete pharmakologische Substanzen

Tabelle A.2: In der Operation verwendete Pharmaka.

Wirkstoff	Wirkweise	Indikation
Atipamezol	spezifischer α -2-Antagonist	hebt die sedative Wirkung von Medetomidin auf
Enrofloxacin	Antibiotikum aus der Klasse der Fluorchinolone	Bakteriostatische und bakteriozytische Wirkung
Eticlopride	Selektiver Dopamin Antagonist am D ₂ -Rezeptor	Blockiert selektiv D ₂ -Rezeptor Bindungsstellen
Fentanyl	entfaltet seine Wirkung über den μ -Rezeptor und hemmt die synaptische Übertragung in der Schmerzbahn	intra- und postoperative Schmerzen
Flumazenil	kompetitiver Antagonist an der Benzodiazepinbindungsstelle des GABA _A -Rezeptors	Antidot von Benzodiazepinen, Beendigung einer Narkose
Isofluran	moduliert allosterisch ionotrope Rezeptoren, steigert vor allem die Aktivität an GABA _A -Rezeptoren	Inhalationsnarkotikum
Medetomidin	α -2-Adrenorezeptor-Agonist	Schmerzmittel und Sedativum
Midazolam	Benzodiazepin, das in Anwesenheit von endogenem GABA die GABAerge Neurotransmission verstärkt	Sedativum, zur Einleitung einer Anästhesie, als Antikonvulsans
Muscimol	hochaffiner, kompetitiver, orthosterischer Agonist an GABA _A und Partialagonist an GABA _{A-Rho} -Rezeptoren	Aktivierung des inhibitorischen Systems des Gehirns
Naloxon	μ -selektiven Antagonisten an Opioidrezeptoren	völlige oder teilweise Aufhebung opioidinduzierter ZNS-Depressionen
Quinpirole	Selektiver D ₂ - und D ₃ -Rezeptor Agonist	Lokomotionsfördernd über D ₂ - und D ₃ -Rezeptoren
Rimadyl	Cyclooxygenase 1 und 2 Hemmer	nichtsteroidales Antiphlogistikum mit analgetischer, antipyretischer und antiphlogistischer Wirkung

A.3 Lokalisation der intrazerebralen Kanülen

Tabelle A.3: Lokalisation der intrazerebralen Kanülen im mPFC von SW7-SW12.

Versuchstier	Ungefärbter Hirnschnitt	Fluoreszierende Darstellung
SW7		
SW8		
SW9		
SW10		
SW11		
SW12		

A.4 Matching Verhalten

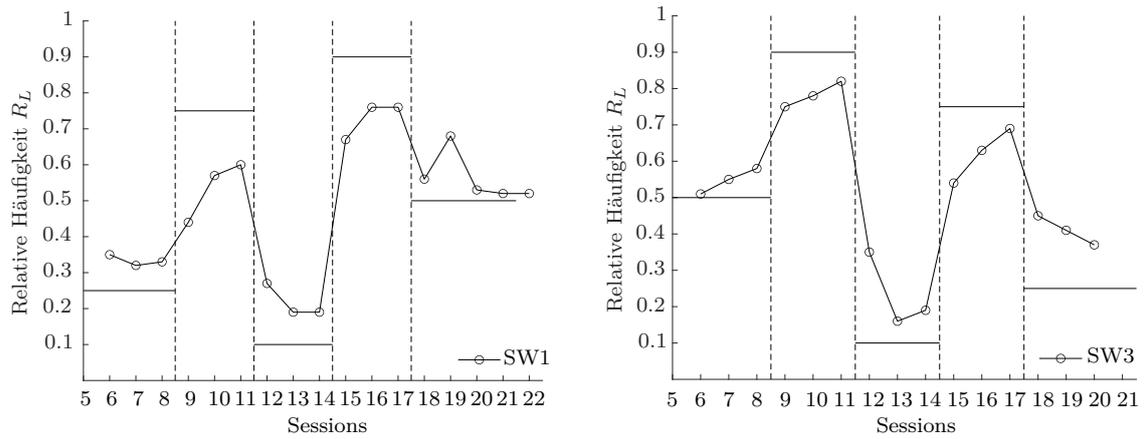


Abbildung A.1: Adaptation an unterschiedliche Belohnungskontingenzen. Die vertikal gestrichelten Linien zeigen die jeweiligen Kontingenzwechsel an. Die horizontalen Linien zeigen perfektes Matching Verhalten an. Die Kreise stehen dabei jeweils für die Performance im Training. Das Tier passt sein operantes Verhalten $P(R_L)$ an die eingestellte Belohnungskontingenz $P(Rf_L)$ an.

A.5 Adaptation bei inaktiviertem mPFC

In der zweifaktoriellen ANOVA mit Messwiederholung zeigt sich kein statistisch signifikanter Unterschied im Verhalten bezüglich der Hauptfaktoren Zeit und Droge. Auch die Interaktion der beiden Hauptfaktoren zeigte keinen statistisch signifikanten Unterschied. ($n = 6$; ANOVA mit Messwiederholung in 1-minütigen Abständen über 30 Minuten; Zeit: $F(30,30) = 1,88$; $p = 0,4$; Droge: $F(1,1) = 0,13$; $p = 0,78$; Zeit * Droge: $F(30,30) = 2,04$; $p = 0,39$).

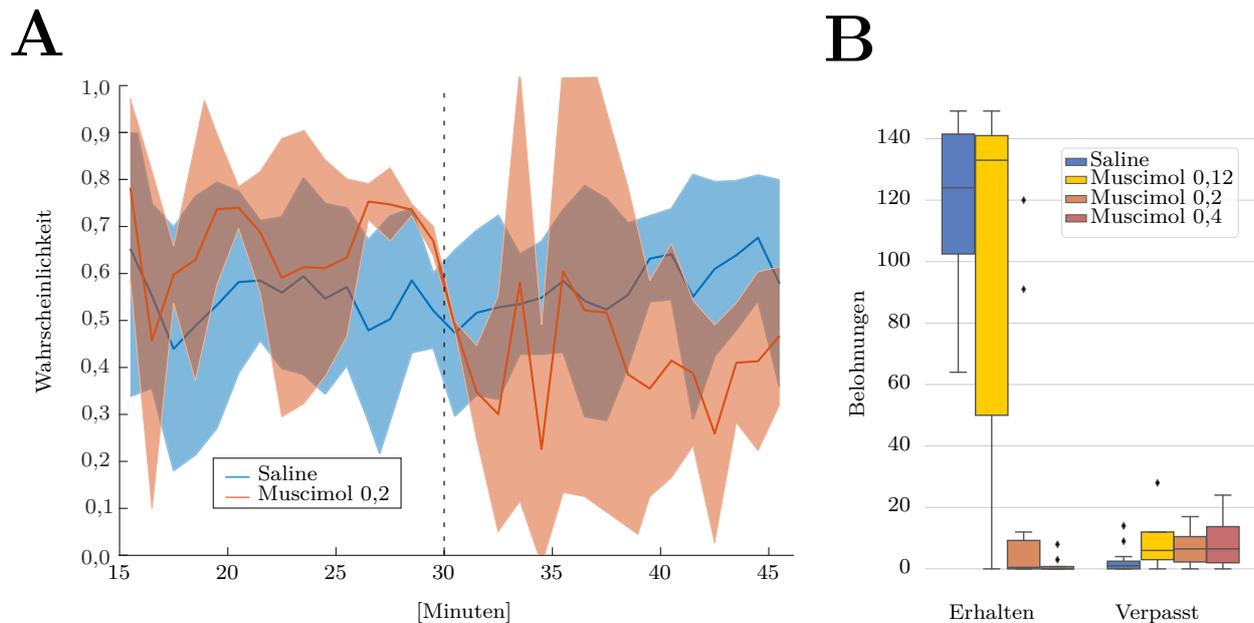


Abbildung A.2: Adaptation und Beteiligung des mPFC - Kohorte 2. **(A)** Durchschnittliche Wahrscheinlichkeit den ertragsstärkeren Port zu bevorzugen, gemittelt über die Tiere der Kohorte 2. Nach der Muscimol-Infusion präferieren die Tiere den ertragsstärkeren Port im 1. Trainingsblock, aber können ihr Verhalten nach dem Bedingungswechsel nicht anpassen und präferieren denselben, nunmehr aber ertragsschwächeren Port. **(B)** Erhaltene und verpasste Belohnungen. Nach Muscimol Infusion werden weniger Belohnungen erhalten. Muscimol in μl .

Neben der generelle Unterdrückung des operanten Verhaltens, was sich in einer geringeren Anzahl an ausgelösten Belohnungen zeigt (Erhaltene Belohnungen Saline vs. $0,12 \mu\text{l}$ Muscimol: $T = 1,02$; $p = 0,33$; Saline vs. $0,2 \mu\text{l}$ Muscimol: $T = 5,87$; $p = 1,2 * 10^{-5}$; Saline vs. $0,4 \mu\text{l}$ Muscimol: $T = 11,02$; $p = 3,65 * 10^{-9}$) wurden auch von den wenigen ausgelösten Belohnungen viele verpasst (Verpasste Belohnungen Saline vs. $0,12 \mu\text{l}$ Muscimol: $T = -1,8$; $p = 0,09$; Saline vs. $0,2 \mu\text{l}$ Muscimol: $T = -1,8$; $p = 0,09$; Saline vs. $0,4 \mu\text{l}$ Muscimol: $T = -2,02$; $p = 0,06$).

Danksagung

Mein Dank gilt zunächst Herrn Prof. Dr. und Frau Dr. rer. nat. für die exzellente Betreuung dieser Arbeit. Die zahlreichen Gespräche auf intellektueller und persönlicher Ebene werden mir immer als Bereicherung in Erinnerung bleiben. Auch für die mühevollen Arbeit des Korrekturlesens möchte ich mich herzlich bedanken.

Ich danke Lukas Bernhard für die Unterstützung, die konstruktiven Bemerkungen und den IT-Support. Außerdem möchte ich mich bei bedanken, die mich bei statistischen Fragestellungen unterstützt hat. Bei meinen Eltern möchte ich mich ganz besonders herzlich bedanken für die uneingeschränkte Unterstützung auf meinem bisherigen Lebensweg.

Sina Wette

Ausbildung

- 7/2023 **Approbation als Ärztin**, *Bezirksregierung Düsseldorf*, Düsseldorf
- 5/2023 **3. Abschnitt der ärztlichen Prüfung**, *Universität Duisburg-Essen*, Essen
Note: Gut
- 11/2021-**Praktisches Jahr**, *Helios Klinikum Niederberg und Sana Klinikum Duisburg*, Velbert
10/2022 und Duisburg
Wahlfach Pädiatrie
- 2021-2023 **Studium der Humanmedizin**, *Universität Duisburg-Essen*, Essen
- 4/2021 **2. Abschnitt der ärztlichen Prüfung**, *Johannes-Gutenberg Universität*, Mainz
Note: Befriedigend
- 3/2018-**Doktorandin am Institut für Pathophysiologie**, *Johannes-Gutenberg Universität*,
6/2019 Mainz
Promotionsprojekt: Neuronale Mechanismen bei Entscheidungsprozessen
- 3/2017 **1. Abschnitt der ärztlichen Prüfung**, *Johannes-Gutenberg Universität*, Mainz
Note: Befriedigend
- 2014-2021 **Studium der Humanmedizin**, *Johannes-Gutenberg Universität*, Mainz
- 2011-2012 **Ausbildung zur Rettungsassistentin**, *Notfallpädagogisches Institut*, Essen
- 2001-2010 **Gymnasium**, *Gymnasium im Schulzentrum Hattingen-Holthausen*, Hattingen

Arbeitserfahrung

- seit 9/2023 **Ärztin in Weiterbildung**, *Bergmannsheil und Kinderklinik Buer*, Gelsenkirchen
Assistenzärztin in der Weiterbildung zur Pädiaterin.
- 5/2021-**Mitarbeiterin im Impfzentrum**, *Impfzentrum Ennepe-Ruhr-Kreis*, Ennepetal
9/2021 Applikation der Corona-Schutzimpfung sowie organisatorische Tätigkeiten.
- 9/2020 **Famulant in einer pädiatrischen Praxis**, *Kinderarztpraxis Dr. Schleuss*, Hagen
- 2/2020 **Famulant in einer gynäkologischen Praxis**, *Frauenarztpraxis Dr. med. Sonnwald*,
Bochum
- 8/2019 **Famulant in der Klinik für Psychosomatische Medizin und Psychotherapie**,
Universitätsmedizin Mainz, Mainz
- 9/2017 **Famulant in der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie**, *Dr. Horst Schmidt
Klinik*, Wiesbaden
- 2014-2018 **Rettungsassistentin in der Pflege**, *Katholisches Klinikum Mainz*, Mainz
Pflegerische Tätigkeit auf der Intensivstation und telefonische Erreichbarkeit bei hausinternen
medizinischen Notfällen.
- 2012-2013 **Rettungsassistentin im Praktikum**, *Feuerwehr Hattingen*, Hattingen
Rettungs- und Krankentransporte im Rahmen des Anerkennungsjahres.

Publikationen

- 2019 **A Free-Operant Reward-Tracking Paradigm to Study Neural Mechanisms and Neurochemical Modulation of Adaptive Behavior in Rats**, *International Journal of Molecular Sciences*

Weiterbildungen

- 4/2023 **Basiskurs - Abdomen, Retroperitoneum sowie Toraxorgane inkl. Schilddrüse - Kinder**, Ärztekammer Westfalen-Lippe, Borkum
- 1/2023 **Ultraschall Grundkurs: Abdomen (Erwachsene)**, Ärztekammer Westfalen-Lippe, Witten
- 1/2023 **Basis-Antibiotikaführerschein**, Charité Universitätsmedizin Berlin, Berlin
- 4/2019- **Excel A: Grundlagen der Tabellenkalkulation**, Johannes-Gutenberg Universität, Mainz
8/2019
- 4/2019- **Gimp: Einführung in die Bildbearbeitung**, Johannes-Gutenberg Universität, Mainz
8/2019
- 4/2017- **Sono for Klinik**, Universitätsmedizin Mainz, Mainz
7/2017 Einführungskurs in die Sonographie.

Sprachen

- Deutsch Muttersprache
Englisch Fließend in Wort und Schrift