

**VERGLEICHSUNTERSUCHUNG ZU KOGNITION UND
VERHALTEN IM MODIFIZIERTEN VERSUS
DOPPELTEN HOLE-BOARD-TEST
ANHAND VERSCHIEDENER
HABITUIERUNGSPROTOKOLLE BEI DER RATTE**

Heike Sibyl Hufen

Aus der Klinik für Anaesthesiologie der Technischen Universität München
(Direktor : Univ.-Prof. Dr. med., Dipl. Phys. E. Kochs)
und aus dem Institut für Experimentelle Onkologie und Therapieforschung der Technischen
Universität München
(Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. B. Gänsbacher)

angefertigt unter der Leitung von Herrn Univ.-Prof. Dr. med. M. Blobner

Vorgelegt über das
Institut für Tierschutz, Verhaltenskunde und Tierhygiene
Lehrstuhl für Tierschutz, Verhaltenskunde, Tierhygiene und Tierhaltung
der Ludwig-Maximilians-Universität München
(Vorstand: Univ. Prof. Dr. med. vet. M. Erhard)

**VERGLEICHSUNTERSUCHUNG ZU KOGNITION UND
VERHALTEN IM MODIFIZIERTEN VERSUS
DOPPELTEN HOLE-BOARD-TEST
ANHAND VERSCHIEDENER
HABITUIERUNGSPROTOKOLLE BEI DER RATTE**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Heike Sibyl Hufen
aus
München

München, 2006

Gedruckt mit der Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. vet. E. Märtlbauer

Referent: Univ.-Prof. Dr. med. vet. M. H. Erhard

Koreferent: Priv.-Doz. Dr. A. Fischer

Tag der Promotion: 10.02.2006

Meinen Eltern

1	Einleitung	1
2	Schrifttum	2
2.1	Gedächtnis	2
2.1.1	Langzeitgedächtnis	3
2.1.1.1	Deklaratives Gedächtnis	3
2.1.1.2	Nicht-deklaratives Gedächtnis	4
2.1.2	Kurzzeitgedächtnis und Arbeitsgedächtnis	5
2.2	Verhalten der Ratte	7
2.2.1	Ethogramm	7
2.2.2	Kontakt zum Menschen: Handling zur Habituation	13
2.3	Verhaltenstests	15
2.3.1	Definition	15
2.3.2	Versuchssysteme	15
2.3.2.1	Labyrinth-Systeme	15
2.3.2.2	Modifiziertes Hole-Board nach Ohl	19
3	Eigene Untersuchungen	21
3.1	Zielvorstellung	21
3.2	Tiere, Material und Methodik	21
3.2.1	Versuchstiere	21
3.2.2	Versuchsdesign	23
3.2.3	Modifizierter Hole-Board-Test	24
3.2.3.1	Versuchskäfig	24
3.2.3.2	Testprinzip	25
3.2.3.3	Hauptgruppe modifiziertes Hole-Board	27
3.2.3.4	Hauptgruppe doppeltes Hole-Board	29
3.2.3.5	Versuchsplan	32
3.2.3.6	Versuchsablauf	33
3.2.3.7	Aufzeichnung mit dem Analyseprogramm	38
3.2.4	Qualitäten des mHB-Tests	40
3.2.4.1	Gedächtnisparameter	40
3.2.4.2	Verhaltensparameter	40
3.2.4.3	Motorische Parameter	41
3.2.5	Kontrolle des Allgemeinbefindens: Physiologische Parameter	41
3.2.6	Statistische Bewertung der Befunde	42
3.3	Ergebnisse	43
3.3.1	Physiologische Parameter	43
3.3.2	Kognitive Parameter	45
3.3.3	Verhaltensparameter	58
3.3.4	Ergebnisübersicht	102
4	Diskussion	103
4.1	Diskussion der Methode	103
4.1.1	Verhaltenstests	103
4.1.1.1	Allgemein:	103
4.1.1.2	Der modifizierte Hole-Board-Test	106
4.1.1.3	Der modifizierte Hole-Board-Test mit doppeltem Board	110
4.1.1.4	Untergruppen-Protokolle	111
4.2	Diskussion der Ergebnisse	112
4.2.1	Physiologische Parameter	112
4.2.1.1	Allgemeinuntersuchung	113
4.2.1.2	Körpergewicht	113

4.2.1.3	Kognitive Parameter.....	114
4.2.1.4	Verhaltensparameter.....	120
4.2.1.5	Motorische Parameter.....	130
4.2.1.6	Gesamtbeurteilung der Ergebnisse.....	132
4.2.2	Abschließende Betrachtung und Ausblick.....	139
5	Zusammenfassung.....	140
6	Summary.....	142
7	Literaturverzeichnis.....	144
8	Tabellenverzeichnis.....	153
9	Abbildungsverzeichnis.....	155
10	Abkürzungsverzeichnis.....	158
11	Danksagung.....	159

1 Einleitung

Tiermodelle sind in der heutigen Wissenschaft immer noch auf vielen Gebieten unerlässlich. Während sich klinische Studien häufig aus ethischen Gründen verbieten oder wegen nicht kontrollierbarer Einflussfaktoren scheitern, können Tiermodelle unter standardisierten Bedingungen, mit einer einheitlichen Kohorte durchgeführt werden. Als eine der häufigsten Spezies, die in Tiermodellen verwendet wird, vereint die Ratte die Vorteile einer schnellen Aufzucht in großer Anzahl und der Haltung bei geringem Platzbedarf, die den tierschutzrechtlichen Vorgaben entspricht. Außerdem liegen fundierte Erkenntnisse sowohl über Anatomie und Histologie als auch über Kognition und Verhalten vor und es existiert eine große Anzahl etablierter Modelle. Erst kliniknahe Schädigungsmodelle *in vivo* gewähren jedoch, zum Beispiel bei kognitiven Defiziten, Einsicht in neurale Ursachen und längerfristige Auswirkungen. Um möglichst vollständig potentielle sensomotorische und kognitive Defizite sowie Verhaltensänderungen nach einer Gehirnschädigung zu erfassen, wurden verschiedene Paradigmen entwickelt. Häufig beziehen sich die verwendeten Verhaltenstests aber nur auf ein enges Spektrum von Verhaltensmustern, weshalb es mehrerer Tests bedarf, um Effekte im gesamten Verhaltensrepertoire zu erfassen. Daraus resultieren neben hohen Gesamtanzahlen aber auch ein immenser Zeit-, Personal- und Kostenaufwand. Der modifizierte Hole-Board-Test nach Ohl (mHB) überwindet diese Nachteile, indem er komplexe Verhaltensmuster in einem einzigen Test erfasst, der auf einer detaillierten ethologischen Analyse basiert. Als weiterer Vorteil sichert er den Tieren eine stressfreie Testsituation, da Futterentzug nicht nötig ist und Reize, die eine Aversion bedingen, vermieden werden. Dies ist nicht nur aus Tierschutzgründen anzustreben sondern auch, weil Stress kognitive Leistungsfähigkeit sowie auch andere Verhaltensparameter und damit das gesamte Versuchsergebnis beeinflussen kann. Bislang findet der mHB Anwendung bei verschiedenen Ischämie-Modellen und Modellen neurodegenerativer Erkrankungen, um durch Applikation von Pharmaka pathophysiologische Mechanismen zu erforschen und neuroprotektive Strategien zu entwickeln.

Um den Einfluss der Habituation besser einschätzen und den Test optimal spezifischen Fragestellungen anpassen zu können sowie das Testprinzip weiter zu verfeinern, untersucht die vorliegende Studie ein neues Testsystem auf seine Anwendbarkeit als Verhaltenstest und die Auswirkung verschiedener Habituationsprotokolle auf Kognition und Verhalten der Ratten.

2 Schrifttum

2.1 Gedächtnis

Das Gedächtnis wird allgemein modellhaft beschrieben, da kein einheitliches Verständnis dieses Systems besteht. Bis man davon ausgehen kann, dass Gehirn und Gedächtnis tatsächlich verstanden sind, herrscht noch ein großer Bedarf nach weiterer Erforschung dieser Strukturen.

So stellt das Gedächtnis ein System aus mehreren Untereinheiten dar, die in engem anatomischen und funktionalem Zusammenhang stehen. Den verschiedenen Gedächtnisanteilen werden unterschiedliche Fähigkeiten und Funktionen zugeordnet (CLARK et al., 2002).

Man kann Gedächtnis nach inhaltlichen oder chronologischen Gesichtspunkten ordnen und im Weiteren prozessspezifisch untergliedern. Der zeitlichen Einteilung entsprechend, lässt sich das Langzeit- vom Kurzzeitgedächtnis unterscheiden (CALABRESE und MARKOWITSCH, 2003).

2.1.1 Langzeitgedächtnis

Das Langzeitgedächtnis (siehe Abb. 1) besteht nach gegenwärtiger Ansicht aus zwei Subsystemen, dem deklarativen und dem nicht-deklarativen Gedächtnis. Diese werden auch als „bewusstes und unbewusstes Gedächtnis“ bezeichnet und lassen sich in verschiedene Funktionsbereiche einteilen (CLARK et al., 2002).

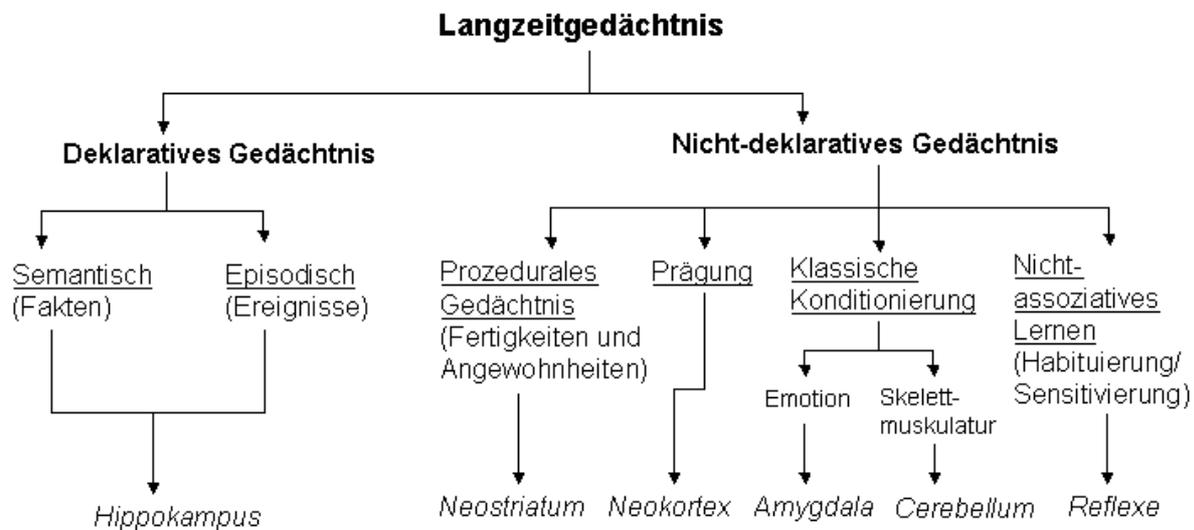


Abbildung 1: Subsysteme des Langzeitgedächtnisses mit entsprechenden neuronalen Funktionsarealen (modifiziert nach (SQUIRE, 1998)).

2.1.1.1 Deklaratives Gedächtnis

Das deklarative Gedächtnis umfasst das semantische und das episodische Gedächtnis. Während das semantische Gedächtnis Allgemeingültiges und Fakten (zum Beispiel: die Erde dreht sich um die Sonne) verwahrt, sind im episodischen Gedächtnis vergangene, persönlich erlebte Geschehnisse in ihrem Kontext (zum Beispiel: die Sonnenfinsternis ist mit Freunden im Park erlebt worden) abgespeichert (CALABRESE und MARKOWITSCH, 2003).

Das deklarative Gedächtnis beruht auf der Funktion des Hippokampus sowie seinen Nachbarstrukturen und ist für die flexible Anwendung von angeeignetem Wissen zuständig. Entscheidend ist, dass die Information, in Form von Fakten und Erfahrungen, bewusst wieder abgerufen wird (CLARK et al., 2002).

TULVING und MARKOWITSCH (1998) charakterisieren diese „bewusste“ Gedächtnisform, die eng mit anderen Gedächtnis- und Verhaltenssystemen zusammenarbeitet, als „groß und komplex, multimodal und durch ähnliche, schnelle Reizaufnahme („encoding“), gekennzeichnet. Das Wissen, das es umfasst, wird als beschreibbar, von Wahrheitswert, zugänglich und flexibel anwendbar angesehen. Die Operationen des deklarativen Gedächtnisses sind kontextsensitiv und kognitiv. Das Output der Erinnerungsprozesse dieses Systems kann in einem offenen Verhalten münden. Die Zusammenarbeit mit anderen Gehirn-, beziehungsweise Gedächtnisstrukturen ist eng (TULVING und MARKOWITSCH, 1998).

2.1.1.2 Nicht-deklaratives Gedächtnis

Das nicht-deklarative Gedächtnis vereint verschiedene Gedächtnisformen, die gemein haben, dass sie das Verhalten verändern, ohne dass erlernte Information bewusst abgerufen werden muss (CLARK et al., 2002).

Prozedurales Gedächtnis

Zu diesem „unbewussten“ Gedächtnis zählen „Fertigkeiten und Angewohnheiten“, die abhängig vom Neostriatum sind, welches als Ziel der „cortico-striatalen“ Bahnen funktioniert (SQUIRE, 1998).

Priming

Als „Prägung“ wird eine gesteigerte Fähigkeit bezeichnet, bereits zuvor präsentierte Reize schneller wiederzuerkennen. Dabei muss sich die Prägung nicht auf die Aktivierung von bereits vorhandenem Wissen beschränken, sondern kann auch eine Aneignung neuer Information beinhalten (SQUIRE, 1992).

Während die perzeptuelle Prägung auf Veränderungen der perzeptuellen Bahnen des Neocortex beruht, ist noch nicht ganz klar, wo zum Beispiel die konfigurale Prägung stattfindet (SQUIRE, 1998).

Klassische Konditionierung

Diese Lernform kann unterteilt werden in die Konditionierung willkürlicher Muskulatur, die eine starke Abhängigkeit vom Cerebellum zeigt und in das „emotionale Lernen“, wie etwa die Konditionierung von Angst, was funktional auf der Amygdala beruht (SQUIRE, 1998).

Als Beispiel für die klassische Konditionierung werden etwa der bedingte Lidschlussreflex und die Konditionierung der Herzschlagfrequenz genannt (SQUIRE, 1992).

Nicht-assoziatives Lernen

Die Form des nicht-assoziativen Lernens lässt sich als Veränderung innerhalb der Reflexbahnen beschreiben, die auch das veränderte Verhalten bedingen (SQUIRE, 1998).

Habituation bezeichnet nach KOLB (1984) eine quantitative Abnahme der Antwortintensität auf einen wiederholt präsentierten, standardisierten Reiz, und entspricht damit dem Gegenteil der Sensitivierung.

2.1.2 Kurzzeitgedächtnis und Arbeitsgedächtnis

Es existiert eine ganze Reihe von Modellen des Kurzzeitgedächtnisses, die alle von seiner begrenzten Speicherkapazität ausgehen, die sich proportional zur Gedächtnisspanne verhält. Darüber hinaus werden dem Arbeitsgedächtnis auch andere Funktionen zugesprochen, wie neue Information aufzunehmen, daraus ein Gesamtbild zu konstruieren und logische Schlüsse zu ziehen. Deshalb müsste sich die Überlastung des Kurzzeitgedächtnisses zum Beispiel bei einer Aufgabenstellung, die parallel die Gedächtnisspanne voll beansprucht und gleichzeitig einen der anderen Funktionsbereiche fordert, in verheerendem Maße auswirken. Da dies nicht der Fall ist, geht man heute von einem System aus, das aus mehreren Gedächtniskomponenten besteht (siehe Abb. 2).

Dieses Modell umfasst die sogenannte „zentrale Steuerung“, die der bewussten Kontrolle dient, und zwei ergänzende Systeme, die „phonologische Schleife“ und den „visuell-räumlichen Skizzenblock“ (BADDELEY, 1998).

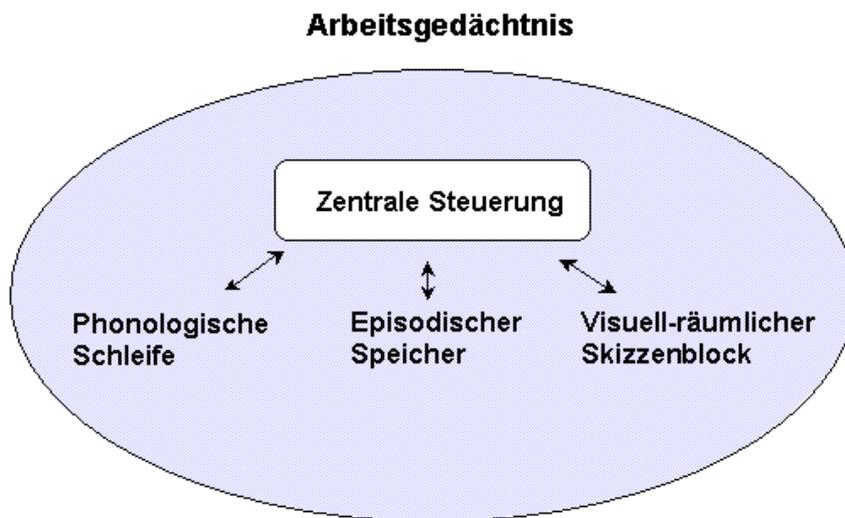


Abbildung 2: Modell des Arbeitsgedächtnisses, bestehend aus mehreren Komponenten (modifiziert nach (BADDELEY, 2003a).

Die zentrale Steuerung

Die Kontrollfunktion kann noch einmal unterteilt werden in die gewohnheitsmäßig ablaufenden „automatischen“ Kontrollschemen und in ein bewusstes Kontrollsystem, das sogenannte „aktivierende Überwachungssystem“. Letzteres greift aktiv ein, um die normale Kontrollfunktion zu durchbrechen. Dadurch gelingt es diesem bewussten Überwachungsapparat, die Aufmerksamkeit auf einen Punkt zu konzentrieren, sie aufzuteilen und den Fokus der Aufmerksamkeit bei Bedarf auf einen anderen Punkt umzulenken. Als weitere Aufgabe vernetzt sie das Arbeitsgedächtnis mit dem Langzeitgedächtnis. Dies übernimmt der „episodische Speicher“, der nur über eine begrenzte Kapazität verfügt und Informationen zusammenfasst, um daraus „integrierte Episoden“ zu bilden. Bildgebende Studien der Neurologie und der Neuropsychologie lassen vermuten, dass die zugehörigen neuralen Strukturen im Bereich der Lobi frontales liegen (BADDELEY, 2003a, 2003b).

Die phonologische Schleife

Nach (BADDELEY, 2003b, 2003a) besteht dieses System aus einem Speicher, dessen Kapazität sich auf wenige Sekunden beläuft, und aus einem Artikulationsprozess, welcher der Wiederholung dient. Die Speicherkapazität des Arbeitsgedächtnisses wird durch die artikulierbare Menge an Information begrenzt. Sie ist ein guter Indikator dafür, wie gut neue Fremdsprachen erlernt werden können. Die neuronale Grundlage dieses Speichersystems liegt

Studien zufolge in der linken temporoparietalen Region (BADDELEY, 2003b). Da die Anwendung von Sprache aber allein für den Menschen spezifisch ist, ist dieses Untersystem bei einem Vergleich der Spezies nicht auf das Tier anwendbar.

Der visuell-räumliche Skizzenblock

Diese Form des Arbeitsgedächtnisses ist bisher weniger intensiv erforscht als die phonologische Schleife, jedoch kann ein räumlicher deutlich von einem visuellen Bereich unterschieden werden. Der Skizzenblock weist ebenfalls eine begrenzte Speicherkapazität auf. Die aufzunehmende Information, setzt sich dabei aus visuellen Aspekten wie etwa Farbe und Form (BADDELEY, 1998) sowie aus räumlichen Komponenten zusammen. Ähnlich der phonologischen Schleife soll der „Skizzenblock“ einen Kurzzeitspeicher und ein weiteres System umfassen, das der Wiederholung von Information dient und hier „inner scribe“ genannt wird. Der „Skizzenblock“ soll auf der Funktion der rechten temporoparietalen Region basieren (BADDELEY, 2003b).

2.2 Verhalten der Ratte

2.2.1 Ethogramm

Ein Ethogramm fasst alle angeborenen und erlernten Verhaltensweisen einer Tierart zusammen (TSCHANZ, 1984). Diese Verhaltensweisen sind bei höher entwickelten Tieren zahlreich und von „hoher Formkonstanz“ (SAMBRAUS, 1997). Die Möglichkeit zur verhaltensgerechten Ausübung des Verhaltensrepertoires erlaubt dem Individuum ein bedarfsdeckendes Verhalten (TSCHANZ, 1984). Der „Bedarf“ setzt sich dabei aus verschiedenen „Bedürfnissen“, etwa nach Nahrung, inneren und äußeren Reizen sowie Sozialkontakt, zusammen (TIERÄRZTLICHE VEREINIGUNG FÜR TIERSCHUTZ, 2005). Dieser „Verhaltenskatalog“ wird in verschiedene Funktionskreise geordnet (SAMBRAUS, 1997).

Im Folgenden wird nur auf Punkte eingegangen, die männliche Ratten in Gruppenhaltung ab dem Alter von acht Wochen bis zum Eintritt der Alterssenilität betreffen.

Lokomotionsverhalten

Aktivität kann in gerichtete Aktivität mit einem erkennbaren Ziel und in die Spontanaktivität unterteilt werden. Bei letzterer fehlen Ziel oder auslösender Reiz. Die spontane Form liegt bei

Ratten als „Basisaktivität“ bis ins hohe Alter bei einem relativ gleichbleibenden Wert (HOFECKER et al., 1974).

Die Hyperaktivität nimmt mit etwa acht Wochen beim Pubertätseintritt ab und Spielbewegungen werden ab diesem Zeitpunkt in rasch zunehmendem Maße durch das gewöhnliche Gehen ersetzt (PELLIS und PELLIS, 1997).

Der Hauptanteil der lokomotorischen Aktivität entfällt auf die Dunkelphase. Das Aktivitätsmuster unterliegt dabei stammesspezifischen Unterschieden (BÜTTNER und WOLLNIK, 1984).

Orientierungsverhalten

- **Auditiv:**

Diese Form der Orientierung erfolgt vorwiegend bei einer Frequenz von 12 bis 25 kHz, da hier die größte Empfindlichkeit des Gehörs besteht (SHARP et al., 1998). Ratten werden taub geboren, eine Wahrnehmung akustischer Reize konnte aber ab dem Alter von acht Tagen nachgewiesen werden (GEAL-DOR et al., 1993). Weiterhin wurde gezeigt, dass weder Stammes-, noch Geschlechtsunterschiede bezüglich des Hörvermögens bestehen (BORG, 1982). Bei albinotischen Tieren liegt trotz einer veränderten Zellverteilung das gleiche Hörpotential vor wie bei pigmentierten Tieren mit physiologischer Anordnung und Funktion der Melanozyten (CONLEE et al., 1994; HEFFNER et al., 1994).

- **Olfaktorisch:**

Der Geruchssinn ist bei Ratten von Geburt an vorhanden und ab einem Alter von 16 Tagen können die Tiere deutlich verschiedene Gerüche differenzieren: so bevorzugen sie beispielsweise ihr eigenes Nest mit dem typischen Geruch der Mutter und den Geschwistertieren gegenüber einem fremden (BROWN, 1982). Die olfaktorische Orientierung ist von großer Bedeutung für das Leben der Ratte, denn fehlt diese Fähigkeit, folgen Mängel im Fürsorge- und Verteidigungsverhalten (FERREIRA und HANSEN, 1986). Tote oder gestresste Artgenossen werden über den Körper- und Uringeruch identifiziert und gemieden (CARR et al., 1981; MACKAY-SIM und LAING, 1981). Weiterhin können Nagetiere von den verschiedenen Geruchskomponenten, den Pheromonen, auf das Geschlecht, den Sexual- und den Dominanzstatus eines anderen Tieres schließen (GHEUSI et al., 1997). Um in einem sozialen Umfeld situationsgerecht zu handeln ist es also von großer Bedeutung, olfaktorische Information wahrnehmen zu können.

Außerdem ist bekannt, dass bereits Rattensäuglinge über die Fähigkeit verfügen, einen spezifischen Geruch mit Krankheitssymptomen in Verbindung zu bringen und diesen zu meiden (RUDY und CHEATLE, 1977).

- Gustatorisch:

HARADA et al. (2000) zeigten histologisch, dass bereits im Alter von einer Woche die Basis für den Geschmackssinn angelegt ist und in den folgenden Wochen noch weiter entwickelt wird. Die gustatorische Orientierung erlaubt es schließlich schon Jungtieren, Präferenzen für Futter zu zeigen, das von der mütterlichen Aufzucht oder durch soziales Lernen eines sogenannten „Observer“-Tiers von einem „Demonstrator“-Tier bekannt ist (GALEF et al., 1997; HARADA et al., 2000).

- Optisch:

Die Ratte wird blind geboren und verfügt auch später nur über ein gering ausgeprägtes Sehvermögen. Dieses ist im Alter von etwa zwei Wochen vollkommen entwickelt (SHARP et al., 1998).

Die charakteristische Fähigkeit der Ratte, in der Dämmerung sehen zu können, ist durch die qualitative Zusammensetzung ihrer Retina vorgegeben, denn ihre Photorezeptoren bestehen dem Typus nach nahezu ausschließlich aus Stäbchen. Ihr Vermögen, farbig zu sehen, ist in Folge dessen allerdings wenig gut entwickelt (SCHLINGMANN et al., 1993; SHARP et al., 1998; WEISS et al., 2003).

Die Harderschen Drüse der Ratte funktioniert anscheinend als Photorezeptor. Wie auch die Retina der Ratte degeneriert sie unter permanenter oder wiederholter Exposition von Licht gewisser Intensität (WETTERBERG et al., 1970; ANDERSON et al., 1972; STÖTZER et al., 1979; KURISU et al., 1996).

Bei albinotischen Ratten können schon geringere Lichtintensitäten als bei pigmentierten wegen des reduzierten Pigmentgehalts der Iris zum Phänomen der phototoxischen Retinopathie führen (SCHLINGMANN et al., 1993; WEISS et al., 2003).

Deshalb wird empfohlen Albinos bei einer Lichtintensität von unter 60 lx in den Käfigen zu halten (PEREZ und PERENTES, 1994; STÖTZER et al., 1979; WEISS et al., 2003).

- Taktil:

Durch Vibrissen, die sich hauptsächlich im Kopfbereich, als Leithaare aber auch über die gesamte Körperlänge verteilt finden lassen, kann die Ratte taktile Reize aufnehmen. Die Tasthaare sind bereits von Geburt an vorhanden und können nicht nur über eine direkte Berüh-

rung, sondern auch über entfernte Hindernisse Auskunft geben, die Unterschiede im Luftstrom bewirken (RAUTH-WIDMANN, 1999). Typischerweise erfolgt die Orientierung in neuen Umgebungen unmittelbar entlang der Wände als sogenannte „Thigmotaxis“, wobei wieder die Vibrissen zur Kontaktaufnahme von Nutzen sind (WEISS et al., 2003).

Verhaltensindikator Vokalisation

Die Bedeutung der Vokalisationen der Ratte, die auch im Ultraschallbereich stattfinden, wird darin gesehen, das Fürsorge- und Pflegeverhalten von Elterntieren wachzurufen und Aggressionen zu vermeiden (HOFER et al., 1998).

Im Bereich des Aggressionsverhaltens werden vom dominanten und submissiven Tier unterschiedliche Frequenzbereiche genutzt, welche die Dominanzstruktur deutlich werden lassen. Das Fehlen der Wahrnehmung oder der Äußerung dieser Laute verursacht jedoch keine Veränderung im Aggressionsverhalten selbst (THOMAS et al., 1983).

Es konnte auch gezeigt werden, dass zyklus- und geschlechtsspezifische Unterschiede im Bereich der Frequenzen existieren, die beim Sexualverhalten benutzt werden (THOMAS und BARFIELD, 1985).

Nach JUHR (1990) können Verhaltensbereiche wie Aggression, Sexualleben, Aufzucht, Spiel, Erregung und Angst durch den Nachweis von Vokalisationen im Ultraschallbereich analysiert werden. Bei der sogenannten „Verhaltensinhibition“, die sich als Erstarren („freezing“) äußert, können zum Beispiel Ultraschalllaute einer Frequenz von 22 kHz zugeordnet werden. Die Untersuchung dieser Vokalisationen scheint aussagekräftiger bei der Beurteilung von Angstverhalten zu sein als vielfach angeführte ethologische Parameter, wie Kot- und Urinabsatz (JUHR, 1990).

Metabolisch gesteuertes Verhalten

Im Alter von etwa zwei Wochen nehmen Ratten zum ersten Mal selbständig feste Nahrung auf (SHARP et al., 1998), erst danach erfolgt eine selbständige Flüssigkeitsaufnahme. Das absetzfähige Alter wird mit fünf Wochen erreicht (THIELS et al., 1990).

Wie die Wanderratte zeigt auch die Zuchtratte eine starke Neophobie. Indem die Ratte Artgenossen, sogenannte „Demonstratoren“, beobachtet, lernt sie („Observer“) neues Futter kennen und bevorzugt dieses künftig gegenüber fremdem Futter (GALEF und WHITE, 1997).

Die Plätze, an denen Futter gefunden wird, und die Wege vom Bau dorthin werden von den Nagetieren markiert (GALEF und BUCKLEY, 1996).

Die Eliminationsprodukte finden sich bei Laborratten anders als bei ihren wilden Artgenossen auch an den Ruhe- und Schlafplätzen (HOLLMANN, 1997).

Nach MOLTZ und LEE (1981) setzen Ratten zwei Arten von Kot ab: eine weiche und eine feste Form. Obwohl die physiologische Aufnahme von etwa 50 % ihrer Fäzes häufig als Cäcotrophie bezeichnet wird, handelt es sich nur um eine Wiederaufnahme der gewöhnlichen Ausscheidungen, um die Nährstoffe voll auszuschöpfen (WEISS et al., 2003). Die Aufnahme von mütterlichem Kot bewirkt bei den Säuglingen sogar eine Immunisierung gegen die nekrotisierende Enterocolitis (MOLTZ und LEE, 1981).

Pflegeverhalten

Das Putzen dient nicht allein der Säuberung von Haut, Hautanhangsorganen und Fell sowie der Temperaturregulation, sondern kommt auch vor, wenn das Tier sich in einer Konfliktsituation befindet: es stellt hier also eine Übersprungs- oder Ersatzhandlung dar (SAIBABA et al., 1996).

Ruheverhalten

Mit steigendem Alter sinkt die Zeitdauer, die schlafend verbracht wird. Dabei werden zahlreiche Schlafphasen mit einer Länge von nur wenigen Minuten beobachtet. Der Hauptanteil dieser Schlafperioden liegt in der Hellphase des Tages. Vor Beginn der Dämmerung steigt die Aktivität (BÜTTNER und WOLLNIK, 1984).

Explorationsverhalten

Für den Laborbetrieb gezüchtete Ratten weisen einen stärkeren Drang zur Erkundung auf als ihre wilden Artgenossen. Neben der zielgerichteten Exploration, wie den Hunger, den Durst oder das Bedürfnis nach lokomotorischer Aktivität zu stillen, existiert eine vor allem durch neue Reize bedingte Erkundung aus einem inneren Antrieb heraus, aus Motivation. Dadurch gelingt es dem Individuum, Änderungen in seiner Umwelt zu erkennen, in ihrem Umfang zu erfassen und sein Verhalten dementsprechend zu gestalten (PERSCH, 1994).

Durch chronische Reizarmut der Umwelt kann ein atypisches Muster des Explorationsverhaltens indiziert werden (PERSCH, 1994).

In einer unbekanntem Umgebung ist das Erkundungsverhalten sowohl durch die Thigmotaxis (WEISS et al., 2003) geprägt als auch durch die Wahl eines Ortes, der als „Ausgangslager“

aller weiteren explorativen Unternehmungen dient, die Basislager-Strategie (GOLANI et al., 1993).

Die Ratte markiert bestimmte Orte oder den Weg zu bestimmten Plätzen, um Fressfeinde zu vermeiden oder zur Kommunikation innerhalb der Gruppe: die Orte, an denen Nahrung gefunden wird, werden gekennzeichnet (GALEF und BUCKLEY, 1996; ROCHE und TIMBERLAKE, 1998).

Weil diese Spezies keine speziellen Duftdrüsen besitzt, markiert sie mit Kot und Urin. Neben der Tatsache, dass sozialer und sexueller Status anhand der Markierung ausgemacht werden können, ist auch bekannt, dass ein gruppen- und ein individualspezifischer Geruch eine Identifikation des „Besitzers“ zulassen. Das Territorium fremder männlicher Artgenossen, das durch die Marken quasi abgesteckt ist, wird von Rattenböcken gemieden (GARCIA-BRULL et al., 1993).

Angstverhalten

Angst äußert sich bei Nagetieren in verschiedenen Verhaltensweisen. Einerseits kann Angst in einem offensiven Angriff oder einer Fluchtreaktion münden, andererseits kann sie aber auch ein speziesspezifisches defensives Verhalten hervorrufen. Letzteres wird bei der Ratte als sogenanntes „freezing“-Verhalten bezeichnet, unter dem man eine Blockade des normalen Verhaltens durch Angst versteht (OTTO et al., 1997). Die Tiere „erstarren“ und sondern bestimmte Ultraschallfrequenzlaute ab (JUHR, 1990). Außerdem setzen ängstliche Tiere vermehrt Kot (SAIBABA et al., 1996) und Urin ab (HIRSJÄRVI et al., 1990). Diese beiden Parameter für Angstverhalten werden jedoch kontrovers diskutiert (BERTON et al., 1997). Das Putzverhalten stellt nicht selten ein Übersprungsverhalten in Konfliktsituationen dar (SAIBABA et al., 1996), wird jedoch ebenfalls nicht als eindeutiges Anzeichen von Angst anerkannt (IVINSKIS, 1970).

Nach JUHR (1990) ist bei der korrekten Deutung von Angstverhalten den Ergebnissen, die auf der Abgabefrequenz von Urin und Kot beruhen, die Analyse von Lautäußerungen im Ultraschallbereich überlegen.

Sozialverhalten

Hinsichtlich des Sozialverhaltens der Ratte wird nur auf wichtige Punkte, die bei der Gruppenhaltung subadulter und adulter männlicher Ratten vorliegen, eingegangen.

- **Agonistisches Verhalten:**

Bei Ratten kommt es in Kolonien mit Dominanzhierarchien, die schon länger bestehen, nur sehr sporadisch zu einem wirklich offensiv aggressivem Verhalten. Die meisten Auseinandersetzungen werden als „stille“ Demonstration des hierarchischen Status beigelegt (BLANCHARD et al., 1995).

- **Sexualverhalten:**

Nach SHARP et al. (1998) beginnt die Pubertät der Ratte im Alter von knapp sieben bis etwa neun Wochen. Als typisches Verhalten im Bereich des Sexualverhaltens wird das Markieren angesehen (siehe 2.2.1 Explorationsverhalten).

- **Spielverhalten:**

Dieses Verhalten nimmt ab dem 16. Lebenstag der Ratte an Intensität zu und wird bis zum Eintritt der Pubertät in relativ gleichbleibender Form durchgeführt. Ab diesem Zeitpunkt nehmen die spielerischen Aktivitäten, meist in Form des kämpferischen Spiels, stark in ihrem Anteil am gesamten Verhaltensrepertoire der Tiere ab (PELLIS und PELLIS, 1997).

2.2.2 Kontakt zum Menschen: Handling zur Habituation

Für die korrekte, standardisierte Durchführung eines Tierversuchs ist der Kontakt zwischen Mensch und Tier sehr wichtig. Wie alle zusätzlichen Einflussfaktoren ist auch diese Kontaktsituation sorgfältig zu planen, da sie die Testergebnisse beeinflussen kann (LAWLOR, 2002). Dies scheint unter anderem auch ein Grund für differierende Versuchsergebnisse zwischen unterschiedlichen Labors mit unterschiedlichem Personal und einer somit eventuell unterschiedlichen „Behandlung“ der Ratten zu sein (DEWSBURY, 1992).

Der Umgang mit den Tieren muss reflektiert geschehen und soll möglichst konstant beibehalten werden, um eine größtmögliche Standardisierung der für den Versuch einflussreichen Variablen zu erreichen (SCOTT, 1992).

Schon einfache Manipulationen der Tiere, wie sie manuell zu fixieren oder auch nur hochzuheben, reichen aus, um die Blutparameter zu verändern, die als Indikatoren für Stress gelten, wie etwa die Plasmakonzentration von Epinephrin (KVETNANSKY et al., 1978). In einer Versuchssituation soll unnötiger Stress durch den Kontakt mit dem Menschen wenn möglich vermieden werden. Deshalb wird gefordert, Tiere an den Mensch und seine Eingriffe zu gewöhnen (GEBHARDT, 1990). Durch gezielte „Handling“-Programme kann die Angst der Versuchstiere gesenkt und ihr Wohlbefinden gesteigert werden (PODBERSCEK et al., 1991).

Darüber hinaus besteht von offizieller Seite in Form des BERICHTS ÜBER DIE MULTILATERALE KONSULTATION DER VERTRAGSPARTEIEN ZUM EUROPÄISCHEN ÜBEREINKOMMEN (1997) des Europarats im Anhang IV (1997) die Forderung nach „regelmäßigem direktem Umgang („handling“) oder sozialem Kontakt“ der Versuchstiere mit Menschen.

Mit dem englischen Begriff „Handling“ werden eigentlich alle Manipulationen der Versuchstiere bezeichnet, die durch Menschen während des Versuchs vorgenommen werden (WIESNER und RIBBECK, 2000).

Eine ganze Anzahl von Studien beschäftigt sich mit dem Einfluss des Handlings auf die Tiere. Dabei unterscheiden sich diese Studien bezüglich des Alters der „gehandelten“ Tiere, der verwendeten Tierarten, des Verständnisses von „Handling“ und der Parameter, die als Indikatoren für eine erfolgreiche Gewöhnung angesehen werden (LEVINE, 1957; PODBERSCEK et al., 1991; NUNEZ et al., 1996).

Die kritische Phase in der Ontogenese der Ratte für den Einfluss des Kontaktes mit dem Menschen scheint kurz nach dem Absetzen, früh vor dem Eintritt ins Erwachsenenalter zu liegen. Dabei geht man davon aus, dass eine Habituation nach dem Alter von zehn Wochen keinen dauerhaften Erfolg verspricht (DÖRING, 1999; HOL et al., 1999; LAWLOR 2002). Zudem waren in ihrer frühen Entwicklung gehandelte Tiere später generell stressresistenter (WEININGER et al., 1954; LEVINE, 1957; TAYLORSPENCE und MAHER, 1962).

Ein vergleichsweise intensivierter Kontakt mit dem Menschen zieht nach MAURER (2005) auch einen größeren Erfolg der Habituation an den Mensch nach sich (MAURER, 2005). Der Mensch wird von den Tieren schließlich nicht mehr als „Schlüsselreiz“ für Stress und Angst (HUGHES, 1978) erkannt, wenn eine ständige und gleichförmige Wiederholung der Kontaktaufnahme vorliegt. Der Versuch kann idealerweise ohne störende Beeinflussung der Ergebnisse durch die „Versuchsvariable Mensch“ durchgeführt werden, wenn der Untersucher sich seines möglichen Einflusses bewusst ist und sein Verhalten gegenüber dem Tier reflektiert (DEWSBURY, 1992).

Während SCOTT (1992) einen standardisierten Umgang mit dem Versuchstier fordert, betrachten ESTEP und HETTS (1992) die Aufgabe der Personen mit Tierkontakt je nach Versuch als unterschiedlich. Diese Sichtweise erfordert es, bereits vor Versuchsbeginn die gewünschte Natur der Experimentator-Tier-Beziehung zu überdenken und dann einen standardisierten Umgang mit den Labortieren zu pflegen (ESTEP und HETTS, 1992).

2.3 Verhaltenstests

2.3.1 Definition

Die Kognition ist der Kern allen menschlichen Verhaltens (DECKER, 1995). Unser Alltag wird erst durch die Fähigkeit möglich, Reize aus der Umwelt wahrzunehmen und zu interpretieren, sowie sich zu erinnern und sein Verhalten, durch Erfahrungen beeinflusst, anzupassen. Durch das Wissen um Vergangenes können Pläne für zukünftiges Geschehen abgeleitet und Unternehmungen gezielt ausgerichtet werden. Eine Problem bei Versuchsmodellen an Tieren besteht darin, Verhaltensweisen bei Tieren zu identifizieren, die denjenigen entsprechen, die beim Menschen als kognitiv gelten (DECKER, 1995).

D'MELLO und STECKLER (1996) bemessen den Charakter „kognitiver Prozesse“ daran, dass ein Organismus lernt, indem er externe Reize empfängt, Verbindungen zwischen diesen herstellt und die wichtigen Informationen dann abspeichert. Dafür müssen sowohl die neuronalen Speicherstrukturen existieren als auch die Fähigkeit einzelne Reize voneinander zu unterscheiden. Die Effizienz dieses Lernens hängt dabei etwa von Motivation, Aufmerksamkeit, Gelegenheit zur Wiederholung und früherer Erfahrung ab.

Verhaltenstests können so als Abbildungen kognitiver Prozesse bei Tieren, die denen des Menschen ähneln, gesehen werden. Sie sollen zum Beispiel dazu dienen, neue chemische Bestandteile von therapeutischem Wert zu erkennen oder die Auswirkung eines lokalisierten Hirnschadens zu beurteilen (D'MELLO und STECKLER, 1996).

2.3.2 Versuchssysteme

2.3.2.1 *Labyrinth-Systeme*

2.3.2.1.1 **Open-Field**

Der „Open-Field-Test“ wurde 1934 als Test für das Angstverhalten von Ratten erstmals beschrieben (HALL, 1934). Dieses Testsystem besteht aus einem einfachen, runden, hell er-

leuchteten Raum. Gegenwärtig existieren davon viele Variationen bezüglich Größe, geometrischer Form des Raums (viereckig und kreisförmig), Beleuchtungsstärke und anderen Faktoren, die das Verhalten der Nager beeinflussen können. Die Tiere werden zentral oder peripher in die Versuchsarena eingesetzt und dort für eine Dauer, die gewöhnlich fünf Minuten (Varianz zwischen zwei bis zwanzig Minuten) beträgt, belassen und hinsichtlich ihres Verhaltens observiert. Wie lange sich die Ratte im Zentralbereich des Testsystems aufhält und wie schnell nach Testbeginn sie diesen aufsucht, wie stark ausgeprägt also die Thigmotaxis ist, sind Maßstäbe dafür, wie groß die Angst in der neuen Umwelt ist, in der sich die Ratte ausgesetzt findet. Zusätzlich kann auch die motorische Aktivität der Tiere bewertet werden (PRUT und BELZUNG, 2003).

Eine weitere Form des „Offenen Feldes“ ist der sogenannte „Free Exploration Test“ (KOPP et al., 1999) bei dem die Tiere den Testbereich von ihrem Käfig aus betreten können. Dabei wird untersucht, wie sich die Ratten bezüglich ihrer Angst verhalten, wenn ihnen freier Zugang zu der neuen Testsituation gewährt wird (PRUT und BELZUNG, 2003).

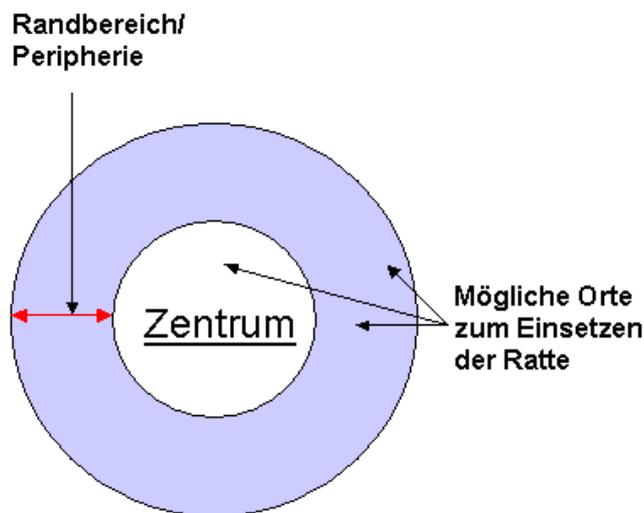


Abbildung 3: Schema des Open-Field-Tests: Aufteilung der kreisförmigen Freifläche in peripheren und zentralen Bereich, sowie mögliche Einsetzorte für die Ratte (modifiziert nach Prut und Belzung, 2003)

2.3.2.1.2 Elevated-Plus-Maze

1985 wurde das „Elevated-Plus-Maze“ (EPM) als neues Testsystem für das Angstverhalten von Ratten eingeführt (PELLOW et al., 1985). Dabei wird der Nager in das Zentrum eines „plusförmigen“ Versuchsaufbaus eingesetzt, das aus zwei offenen und zwei geschlossenen „Armen“ besteht, wobei die Ratte den Test einem geschlossenen Arm zugewandt beginnt. Als

Parameter für die Angst werden die Zeit, die das Tier in den offenen Armen verbringt und die Häufigkeit, mit der die Ratte diese betritt, angesehen. Diesem Versuchsmodell liegt die Tatsache zu Grunde, dass Ratten freie Flächen und erhöhte Orte meiden. Zusätzlich kann die lokomotorische Aktivität bewertet werden (OHL, 2003).

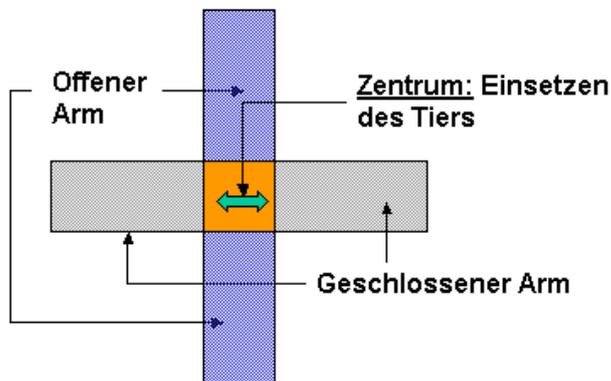


Abbildung 4: *Schema des Elevated-Plus-Maze: plusförmige Anordnung von zwei offenen und geschlossenen Armen, die das Tier vom Zentrum aus betreten kann. Ansicht von oben (modifiziert nach Ohl, 2003).*

2.3.2.1.3 Radial-Arm-Maze

Der „Radial-Arm-Maze“ (RAM) ist ein Testmodell, bei dem acht geschlossene Arme von einer zentralen, runden Fläche aus zugänglich sind. Die Arme können unterschiedlich gestaltet sein. An ihrem Ende wird Futter ausgelegt, das, einmal gefressen, nicht mehr ersetzt wird. Die Tiere sollen so lernen, alle Arme hintereinander zu besuchen und keinen wiederholt zu betreten. Die Nagetiere müssen sich also erinnern, welche Arme sie zuvor betreten haben, was der Überprüfung des Arbeitsgedächtnisses dient (DECKER, 1995).

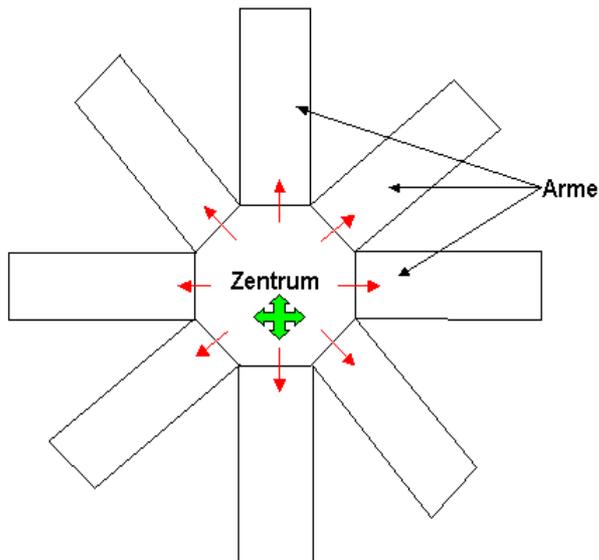


Abbildung 5: *Schema des Radial-Arm-Maze: Zentrum und acht Arme. Vom Ort des Einsetzens (Blockpfeil) aus, kann die Ratte jeden Arm betreten (kleine Pfeile) (modifiziert nach Decker, 1995).*

2.3.2.1.4 Morris-Water-Maze

Mit dem „Morris-Water-Maze“ (MWM) können kognitive Fähigkeiten von Nagetieren untersucht werden. Das Testsystem besteht aus einem Becken, das mit Wasser gefüllt ist und in dem sich knapp unterhalb der Wasseroberfläche eine für die Tiere unsichtbare Plattform aus Plexiglas befindet. Diese Plattform bleibt immer an derselben Stelle des Beckens. Außerhalb des Beckens dienen im Raum angebrachte Markierungen als Orientierungshilfen. Das Becken wird in Zonen unterteilt, um das Angstverhalten zu analysieren. Der Randbereich spricht für ein Meideverhalten gegenüber freien Flächen und damit für Angst. Die Aufgabe des Tieres besteht darin, nach dem Einsetzen möglichst schnell die verborgene Plattform zu finden, wobei es sich im Raum orientieren und an vergangene Testdurchläufe erinnern soll. Damit wird das visuell-räumliche Gedächtnis überprüft. Beurteilt werden unter anderem die Schwimmstrecke, die bis zum Auffinden der Plattform benötigte Zeit, die Thigmotaxis und die Schwimmgeschwindigkeit. Der MWM nutzt damit das Fluchtverhalten der Tiere aus dem Wasser auf die „rettende“ Plattform. Es werden jedoch Faktoren diskutiert, welche negativen Einfluss auf die dargebotene Leistung der Tiere haben könnten. Zum einen ist nicht ganz klar, inwiefern das Alter oder zum Beispiel auch die Sehfähigkeit die „kognitive Leistung“ ver-

ändern, da auch alte, blinde Ratten erstaunlich gute Ergebnisse in diesem visuell-räumlichen Test erzielten. Zum anderen soll der Stress, der in dieser Fluchtsituation besteht, Tiergruppen unterschiedlich stark in ihrer Leistung beeinflussen (HODGES, 1996; LINDNER, 1997).

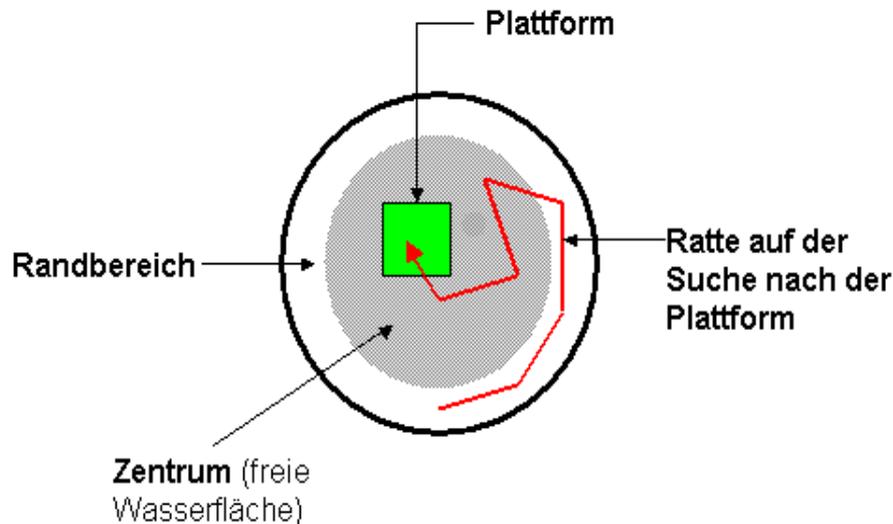


Abbildung 6: Schema des Morris-Water-Maze: Ratte (hier beliebig eingesetzt) auf der Suche nach der Plattform, die sich in der freien Wasserfläche befindet. Zuerst Aufenthalt im Randbereich (modifiziert nach Lindner, 1997).

2.3.2.2 Modifiziertes Hole-Board nach Ohl

Der modifizierte Hole-Board-Test nach Ohl vereint die Merkmale des Open-Field-Tests (siehe 2.3.2.1) und des klassischen Hole-Boards (LISTER, 1990) in sich. Im Zentrum einer Freifläche liegt ein Board mit Löchern, die mit drehbaren Deckeln versehen sind und in die Futterbelohnung gefüllt werden kann. Die Tiere werden im Randbereich eingesetzt und sollen bestimmte Lernaufgaben bewältigen, indem sie Futter gezielt suchen. Dabei können Kognitions- und Verhaltensparameter analysiert werden. Gleichzeitig ist es möglich, eine Vielzahl von Verhaltensbereichen, wie das Angstverhalten, das Explorationsverhalten, das Verhalten, das mit Erregung einhergeht und das Lokomotionsverhalten, in die Untersuchung mit einzubeziehen. Außerdem kann den Tieren während des Tests im modifizierten Hole-Board (mHBT) Gruppenkontakt gewährt werden, was eine Bewertung der sozialen Affinität ermöglicht (OHL, 2003).

3 Eigene Untersuchungen

3.1 Zielvorstellung

Für diese Studie wurde ein etabliertes Testsystem verändert und Bestandteile des alten Testsystems durch neu konzipierte ersetzt. Die vorliegende Untersuchung soll klären, wie sich die Änderungen am Bauprinzip des modifizierten Hole-Boards und unterschiedliche Lernprotokolle bei dem modifizierten Hole-Board-Test nach Ohl auf die Lernphase von Ratten auswirken. Es ist die Aufgabe dieser Studie, das optimale Versuchsprotokoll zu bestimmen und erstmals den selbst entwickelten „doppelten Hole-Board“-Test auf seine Einsatzfähigkeit als Verhaltenstest in der Praxis zu prüfen. Die Modifizierung des bestehenden Testmodells soll im Idealfall eine Verfeinerung der Untersuchung, beziehungsweise eine noch genauere Erfassung subtiler Veränderungen von Kognition und Verhalten ermöglichen.

3.2 Tiere, Material und Methodik

3.2.1 Versuchstiere

36 männliche Sprague-Dawley Ratten (Charles River GmbH, Deutschland, Sulzfeld) werden 20 Tage vor Testbeginn mit Gewichten zwischen 240 und 250 g eingestallt. Bei Versuchsbeginn sind sie dann etwa zwölf Wochen alt und wiegen durchschnittlich 330 bis 350 g. In den ersten neun Tagen findet eine standardisierte Akklimatisation an die veränderten Haltungsbedingungen statt. Diese Phase verbringen die Tiere jeweils zu dritt in einem Käfig (Makrolon Typ IV). Elf Tage vor Versuchsbeginn werden die Ratten zur Gewöhnung an ihre Test- und Haltungsumwelt sowie ihre Gruppe von Artgenossen in Gruppen zu je sechs Tieren in einen eigens für den Verhaltenstest konzipierten und selbstgebauten Versuchskäfig umgesetzt. Dieser besteht aus dunkelgrauen PVC-Platten (Firma Josef Weiss Plastik GmbH, München) und wird auch als „Homepage“ bezeichnet. Die Maße dieses Käfigs betragen 60×80×50 cm (Materialstärke 1 cm).

Leitungswasser, das täglich gewechselt wird, und Futter (Altromin-Haltung 1324, Altromin GmbH, Lage) stehen den Nagern über Futterraufen und Nippeltränken ad libitum zur Verfügung.

Als Einstreu dient entstaubtes, entkeimtes Weichholzgranulat (Altromin GmbH, Lage), das zweimal wöchentlich gewechselt wird. Zusätzlich wird die Haltungsumwelt jedes Käfigs durch eine Lage Zellstoff und eine Handvoll sterilisierten Heus angereichert.

Die Tiere sind in einem speziell klimatisierten Raum bei Temperaturen zwischen 21 und 24°C, einer Luftfeuchtigkeit von 60 % \pm 15 % und einem Lichtrhythmus (hell/dunkel) von 12 : 12 Stunden untergebracht. Von 0.00 Uhr bis 12.00 Uhr ist der Raum mit der Lichtintensität von 60 Lux im Käfig beleuchtet. Gleichzeitig macht ein zeitautomatisch gesteuertes Radio die Tiere in der Hellphase mit einer gewissen Geräuschkulisse vertraut.

Die Untersucher übernehmen neben einer neutralen Verhaltensanalyse auch die tägliche Pflege, eventuell nötige medizinische Versorgung und die anfallenden Arbeiten im Stall. Damit entspricht die Versuchssituation quasi der Haltungsumwelt.

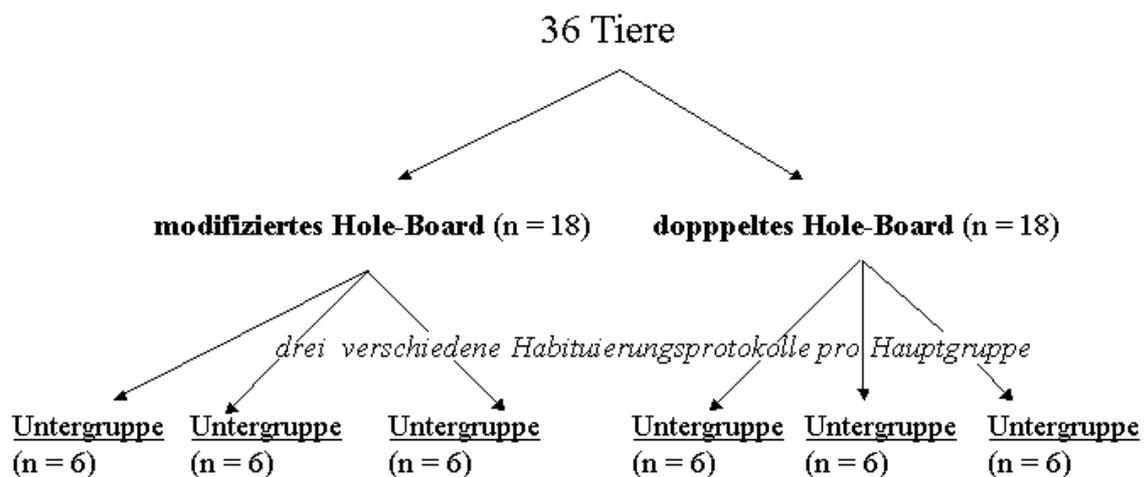


Abbildung 8: *Versuchskäfig von innen mit Nippeltränken und Futterraufen an der Vorderseite (Aufnahme: Arbeitsgruppe „Experimentelle Anaesthesiologie“, Klinikum rechts der Isar, München)*

3.2.2 Versuchsdesign

Um das Versuchsziel zu erreichen, werden 36 gesunde Ratten nach dem Zufallsprinzip zwei verschiedenen Hauptgruppen zu je 18 Tieren zugeteilt. Eine der beiden Hauptgruppen durchläuft das bereits etablierte Protokoll des modifizierten Hole-Board-Test nach Ohl (kurz mHBT). Ihre Bezeichnung richtet sich nach dem Board und lautet so „mHB“. Die anderen 18 Tiere werden in einem speziell für diese Studie entwickelten Versuchsmodell, dem „doppelten Hole-Board-Test“ untersucht. Diese Hauptgruppe heißt „dHB“.

Innerhalb dieser beiden Gruppen existieren wiederum je drei Untergruppen von je sechs Ratten, die sich im Versuchsprotokoll hinsichtlich der Habituerungsphase unterscheiden. Dabei sind die verwendeten Protokolle für die Gruppe mHB und dHB gleich.



2 Hauptgruppen: je 3 Untergruppen mit jeweils 6 männlichen Sprague-Dawley Ratten (die Gruppeneinteilung ist randomisiert)

Abbildung 9: Grafik der randomisierten Gruppeneinteilung der 36 Sprague-Dawley Ratten in zwei Hauptgruppen (modifiziertes Hole-Board, doppeltes Hole-Board mit je 18 Tieren) mit jeweils 3 Untergruppen (je 6 Tiere), die sich im angewandten Habituerungsprotokoll unterscheiden.

Ein Vergleich von Gruppen- und Protokollergebnissen dient zum einen der Evaluierung der neuen Testsituation, dem „doppelten-Hole-Board-Test“. Zum anderen wird der Einfluss der unterschiedlichen Lernprotokolle bewertet.

3.2.3 Modifizierter Hole-Board-Test

3.2.3.1 Versuchskäfig

Der Test erfordert, die Tiere stressfrei zu beobachten. Nur bei unbeeinträchtigtem Allgemeinbefinden können sie in der Testsituation ihr natürliches Verhalten entwickeln. Deshalb wurde ein besonderer Käfig konzipiert, der es erlaubt, die Tiere in ihrer gewohnten Umgebung mit Kontakt zu ihrem Gruppenverband zu untersuchen. In der elftägigen Eingewöhnungsphase können die Tiere diesen Käfig in vollem Ausmaß als „Wohnraum“ nutzen.

Die Versuchskäfige für die beiden Hauptgruppen sind identisch.

An der Vorderseite des Wohnabteils sind für die Nippeltränken drei Durchlasslöcher gebohrt. Daneben existieren drei mit Fressgittern versehene Aufhängungen für die Futterraufen.

Ein abnehmbarer Metalldeckel (61×81 cm, Lochung Ø10 mm, Stegbreite 2 mm) liegt auf dem Käfig, um die Tiere am Herausklettern zu hindern, aber gleichzeitig das einfallende Licht durchzulassen.

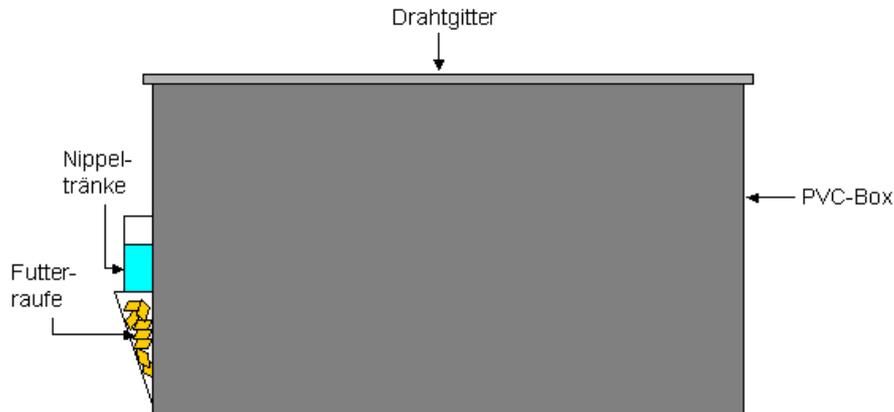


Abbildung 10: Schema der Seitenansicht des Versuchskäfigs: PVC-Box mit Nippeltränke und Futterraufe. Als Deckel dient ein Drahtgitter.

Dieser Raum wird vor dem Testbeginn in Wohn- und Versuchsabteil halbiert. Dafür wird eine durchsichtige PVC-Trennwand (59×50 cm) in vorgesehene PVC-Profilschienen (13×15×1,5 mm; Karmann und Droll GmbH, Karlsfeld) eingesetzt. Die Abtrennung ist im Abstand von je 5 cm gleichmäßig von Löchern (Ø2 cm) durchbrochen, was den Tieren ermöglicht, während

des Testdurchlaufs sowohl Sicht- als auch Riech- und Schnauzenkontakt mit den vertrauten Artgenossen aufzunehmen.

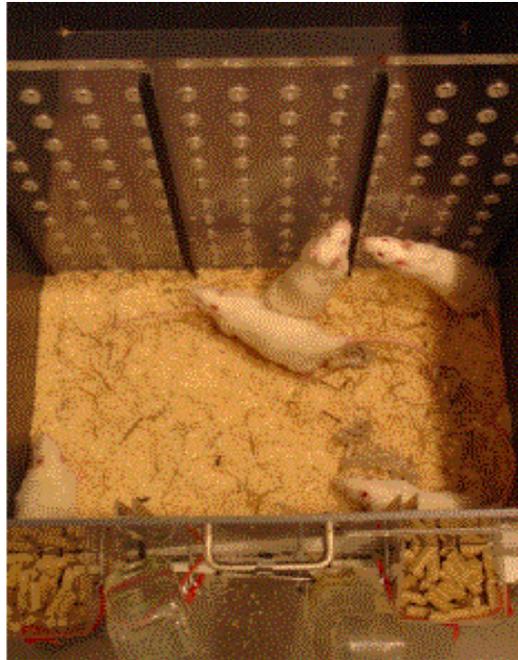


Abbildung 11: Abgetrennter Versuchskäfig: Unterteilung in Wohnabteil und Testarena (Aufnahme: Arbeitsgruppe „Experimentelle Anaesthesiologie“, Klinikum rechts der Isar, München)

3.2.3.2 Testprinzip

Das Testprinzip ist visuell-räumlich und erlaubt die parallele Untersuchung von kognitiven, motivationalen, emotionalen und motorischen Parametern. Die Analyse der kognitiven Parameter erlaubt einen Einblick in die Funktion der verschiedenen Gedächtnissysteme. Daneben sind Rückschlüsse auf die verschiedenen Verhaltensbereiche mit Angst- und Explorationsverhalten, den Erregungsgrad und die soziale Affinität möglich. Zusätzlich wird die motorische Geschicklichkeit der Tiere überprüft. Durch Wiederholungstests wird das Gedächtnis über mehrere Tage geprüft. Das Testprinzip des mHBT beruht auf einer stressfreien Versuchssituation. Deshalb wird der Verhaltenstest unter standardisierten Bedingungen durchgeführt, wobei alle potentiellen Störfaktoren vermieden werden. Durch die Verwendung einer Futterbelohnung ist kein Futterentzug nötig, um den mHBT durchzuführen.

Die Ratten lernen, drei farbmarkierte Löcher, die eine Futterbelohnung enthalten, von 15 möglichen als gefüllt zu erkennen. Gleichzeitig merken sich die Tiere, welches Loch sie in dem Durchlauf schon geleert haben und besuchen es im selben Durchlauf nicht mehr. Um die Futterbelohnung zu erreichen, müssen die Deckel der markierten Löcher geöffnet und während der Entnahme auch gegen einen Widerstand offen gehalten werden, was mit Schnauze oder Pfote möglich ist. Das Verhalten der Tiere im Testbereich wird dokumentiert und beurteilt, nachdem es den verschiedenen Verhaltensdimensionen zugeordnet ist. Die Markierungen wechseln täglich randomisiert ihre Platzierung. Jeder der Nager absolviert an einem Testtag drei Durchläufe. Die Ergebnisse eines Versuchstages werden gemittelt.



Abbildung 12: Ratte, die ein markiertes Loch öffnet (Aufnahme: Arbeitsgruppe „Experimentelle Anaesthesiologie“, Klinikum rechts der Isar, München)

3.2.3.3 *Hauptgruppe modifiziertes Hole-Board*

Das Board

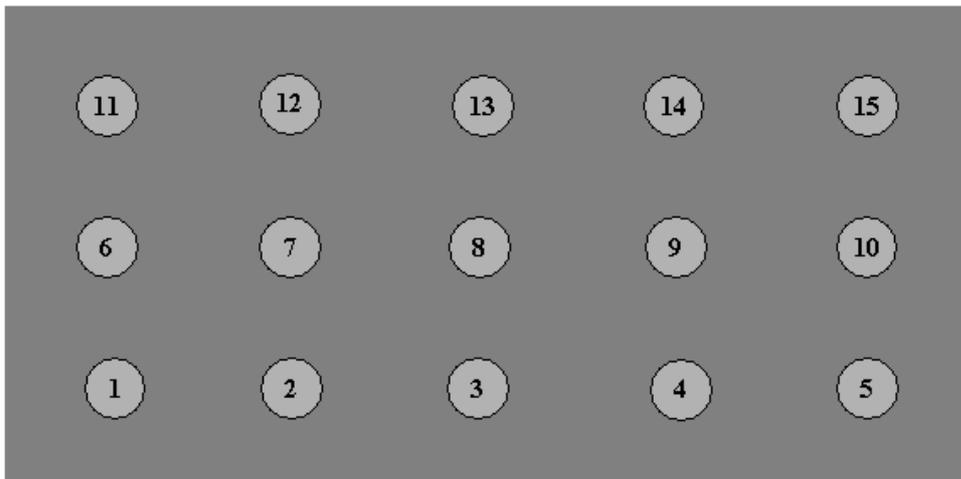


Abbildung 13: Schema des modifizierten Hole-Boards (mHB) mit standardisierter Lochnummerierung

Das mHB besteht aus einem dunkelgrauen PVC-Brett (25×40×1 cm) mit 15 kreisförmigen Vertiefungen (\varnothing 2 cm, Tiefe 0,7 mm). Diese Löcher sind gleichmäßig zu je fünf Stück in drei Reihen parallel angeordnet, wobei sie in aufsteigender Reihenfolge von eins bis fünfzehn nummeriert werden. Ein rundes 2 mm dickes PVC-Plättchen (\varnothing 2,5 cm), das oberhalb des Lochs exzentrisch mit einer Schraube fixiert ist, verschließt das Loch lose. Um ein geöffnetes Loch automatisch wieder zu verschließen, bedarf es eines Rückstellmechanismus in Form einer kleinen Sprungfeder (\varnothing 4,5 mm außen, \varnothing 4,0 mm innen, Drahtstärke 0,3 mm, 11 Windungen; Münchner Federnzentrale, München). Die Feder wird zwischen zwei PVC-Blöcken (1×1×1 cm) eingespannt, von denen sich einer an der Drehpunktseite des Deckels und der andere mittig auf dem Deckel befindet. Beide sind an den aufeinander zugewandten Seiten 0,3 cm tief eingebohrt (\varnothing 0,5 mm), um die Federn aufzunehmen. Wird der Deckel nun aus seiner Ausgangslage mittig auf dem Loch bewegt, so sorgt der Rückstellmechanismus dafür, dass der Verschluss, durch Federkraft angetrieben, wieder in die vorgesehene Position zurück-

schnellt, sobald keine hemmenden Kräfte mehr an ihm wirken. Die Lochtiefe erlaubt es, eine Futterbelohnung einzulegen, ohne dass diese den Deckel berührt.

Vorbereitung des modifizierten Hole-Boards

Alle Löcher des Boards werden mit einem mit Johannisbeeraromalösung (Micro-Plus, Konzentrate GmbH, Stadtoldendorf; Rezeptur: 0,1 g Johannisbeeraroma wird in 50 ml Leitungswasser gelöst) benetzten kugelförmigen Mulltupfer (1×1 cm², Karl Beese GmbH und Co., Barsbüttel) ausgewischt. Dann wird das Board mit der Futterbelohnung, den Puffreiskörner (Knusperpuffreis, Frigeo, Remshalden), versehen.

Beim mHBT werden die einzelnen Puffreiskügelchen kurz in Johannisbeeraromalösung getaucht, bevor sie schließlich als Futterbelohnung in die vorgesehenen Löcher gelegt werden. Damit die Stücke knusprig bleiben, tropfen sie noch vor Befüllung auf einer Lage Zellstoff ab.

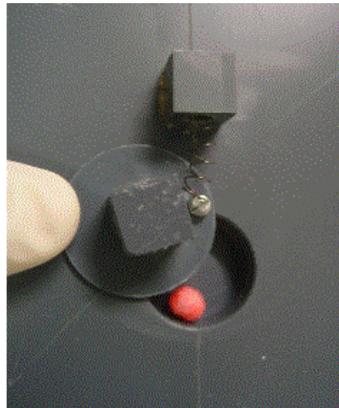


Abbildung 14: Futterbelohnung im Loch (Aufnahme: Arbeitsgruppe „Experimentelle Anaesthesiologie“, Klinikum rechts der Isar, München)

3.2.3.4 Hauptgruppe doppeltes Hole-Board

Das Board

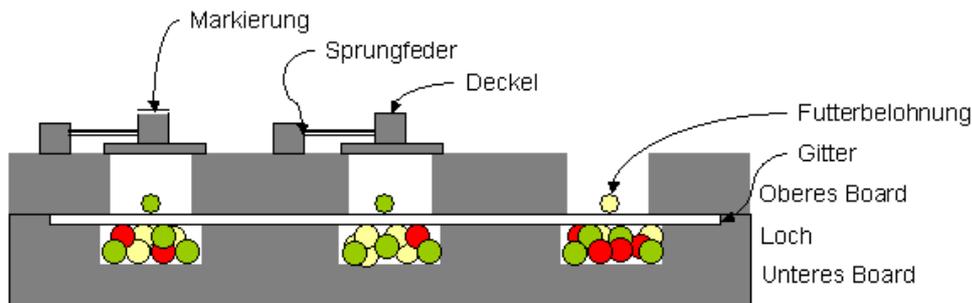


Abbildung 15: Schema des doppelten Hole-Boards (dHB) im Querschnitt, bestehend aus oberem und unterem Board, Gitter, Deckel und Sprungfeder. Es werden die Markierung und mit Futterbelohnung gefüllte Löcher gezeigt.

Das Oberteil des dHB ist dem mHB fast baugleich. Es verfügt allerdings über einige Änderungen, wie etwa die Existenz eines Unterteils, weshalb die Gesamtkonstruktion als doppeltes Board bezeichnet wird. Länge und Breite der beiden PVC-Platten betragen 25×40 cm. Die obere Platte ist mit 0,7 cm etwas weniger hoch als die untere mit 1 cm Stärke. Vier Metallstifte, die vertikal am unteren Brett befestigt sind, und die dazu passenden Bohrungen im oberen Brett verbinden die beiden Brettanteile miteinander. Diese Konstruktion erlaubt, dass die Brettanteile zusammengesteckt werden können und nicht gegeneinander verrutschen. Die fünfzehn Löcher im Oberteil des Bretts sind ganz durchgebohrt (\varnothing 2 cm, Tiefe 0,7 cm). Ein Drahtgitter, das zwischen die beiden Brettanteile geklemmt wird, trennt die Lochvertiefungen im unteren Brett (\varnothing 3 cm, Tiefe 0,7 cm) von den exakt darüber liegenden kleineren Löchern des oberen.

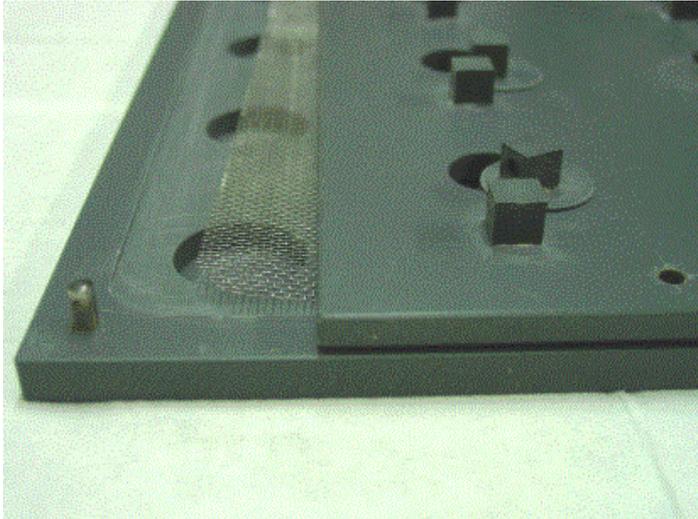


Abbildung 16: Bestandteile des doppelten Hole-Boards (Aufnahme: Arbeitsgruppe „Experimentelle Anaesthesiologie“, Klinikum rechts der Isar, München)

Es bedarf eines Rahmens (39,5×49,5 cm außen, 25,5×40,5 cm innen, Stärke 1 cm), der in die Arena eingelegt wird und millimetergenau die Unterkante des oberen Bretts mit den Seitenwänden der Box verbindet, damit die resultierende Bretthöhe der des mHB (Höhe 1 cm) entspricht. Später wird auf der Oberseite des Rahmens mit Klebestreifen die Arenaunterteilung vorgenommen.

Vorbereitung des doppelten Hole-Boards

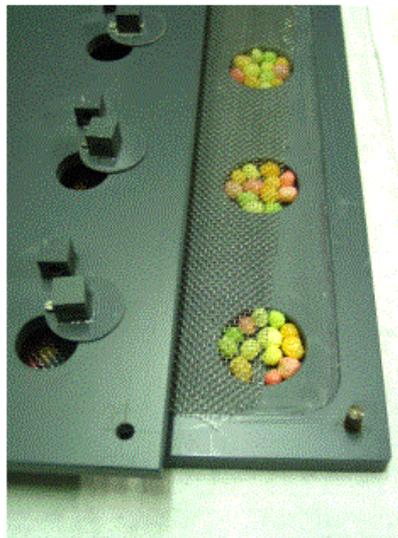


Abbildung 17: dHB, Boardunterteil befüllt (Aufnahme: Arbeitsgruppe „Experimentelle Anaesthesiologie“, Klinikum rechts der Isar, München)

Die fünfzehn Löcher im Unterteil des Boards werden mit frischem, trockenem Puffreis gefüllt, der am Ende jeden Tages entfernt wird. Das Gitter wird auf das Boardunterteil gelegt

und das Oberteil über die Metallstifte aufgesteckt. Die Puffreiskörner bleiben so für die Tiere aufgrund des Gitters unerreichbar. Die Seitenwände aller Löcher im oberen Teil werden zur Geruchsneutralisation beziehungsweise zur Appetenzhöhung mit einem in Johannisbeeraromalösung getauchten und abgetropften Tupfer leicht angefeuchtet, wobei Bodengitter und Puffreis ausgespart werden.

Die Form der Futterbelohnung ist Puffreis, doch dieser wird nicht wie beim mHB in Johannisbeeraroma getaucht. Pro markiertes Loch wird je ein Korn davon auf das entsprechende Gitter gelegt. Die drei Futterbelohnungen können nach Öffnen des richtigen Lochs entnommen werden.



Abbildung 18: Befüllen des dHB mit der Futterbelohnung (Aufnahme: Arbeitsgruppe „Experimentelle Anaesthesiologie“, Klinikum rechts der Isar, München)

3.2.3.5 *Versuchsplan*

Nach dem Versuchsplan besteht der Test aus drei Phasen. Die erste ist eine viertägige Habituation (Tag -2, Tag -1, Tag H1 und H2), die zweite entspricht einer Lernphase (Tag 1 und folgende). Die dritte Phase ist zweigeteilt: es finden zwei Retests (Tage R1 und R2) statt, die durch eine jeweils fünftägige Testpause vom vorigen Test getrennt sind.

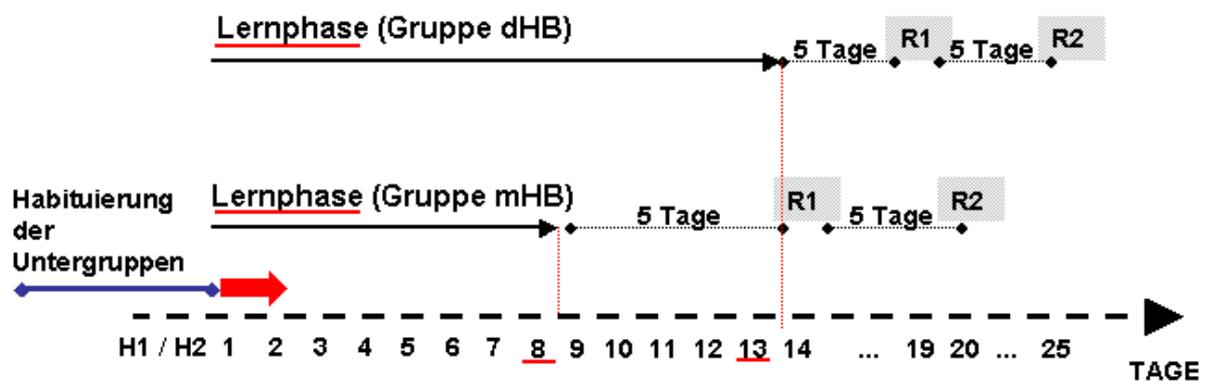


Abbildung 19: Grafik des Versuchsplans mit einer Einteilung in Habituation der Untergruppen (Tag H1 und H2), Lernphase der beiden Hauptgruppen (Tag 1 bis 8 für Gruppe mHB und Tag 1 bis 13 für Gruppe dHB) und Wiederholungstests (Retest 1 (R1) = Tag 14 für Gruppe mHB, Tag 19 für Gruppe dHB) und Retest 2 (R2) = Tag 20 für Gruppe mHB, Tag 25 für Gruppe dHB)

3.2.3.6 *Versuchsablauf*

Zu Beginn des Versuchs werden die Tiere randomisiert in die verschiedenen Untergruppen der jeweiligen Hauptgruppe mHB beziehungsweise dHB eingeteilt. Die Gruppen bleiben daraufhin in dieser Zusammensetzung erhalten, um eine natürliche Umwelt mit homogenem Sozialgefüge zu simulieren.

Die ersten beiden Habituationstage –2 und –1 unterscheiden sich für die Untergruppen nicht, der Versuch wird vorbereitet.

Versuchsvorbereitung

An den zwei Habituationstagen –2 und –1 wird den Ratten vom Untersucher je eine Handvoll trockenen Puffreises angeboten. Die Tiere lernen den Puffreis als Futterbelohnung kennen. Zusätzlich werden alle Tiere ab Tag -2 täglich gewogen (Digitalwaage mit $d = 0,1$ (Fa. Kern 440-47, Balingen-Frommern)) und auf ihr Allgemeinbefinden hin untersucht. Einen Tag vor Testbeginn (Tag –1), wird die Box abgetrennt, die Arena in vier gleichgroße Rechtecke unterteilt (Leukoplast®hospital, 1 cm breit, Beiersdorf s.A., Argenton, Spanien) und das Board ohne Markierungen und ohne Federn mittig in die Arena gelegt. Es wirkt damit als Zentrum eines „Open Field“.

Untergruppen

Die Untergruppen unterscheiden sich hinsichtlich ihrer Habituationphase im Testsystem an den Habituationstagen H1 und H2: je sechs Tiere werden nach dem sogenannten „Etablierten Habituation-Protokoll“ (EHP), weitere sechs nach dem „Langen Habituation-Protokoll“ (LHP) und sechs Ratten nach dem „Kurzen Habituation-Protokoll“ (KHP) getestet. Die drei Protokolle unterscheiden sich in Länge, Gestaltung und Ablauf der Habituationphase. Die Tiere werden somit unterschiedlich an die Lernanforderung herangeführt

und auf verschiedene Weise an das Board gewöhnt – dies dient dazu, die Auswirkung der Habituation auf die weitere Testleistung zu untersuchen.

Tabelle 1: Protokolle der Untergruppen (EHP, KHP, LHP) des modifizierte (mHB) und doppelten Hole-Boards (dHB) mit Unterschieden an Tag H1, H2 und an Tag 1 der Lernphase

Gruppe: m/dHB	Habituation:	Habituation:	1.Tag der Lernphase:
Protokoll:	Tag H1	Tag H2	Tag 1
EHP (Etabliertes Habituationsprotokoll)	1. Kontakt mit dem Board (3 Durchläufe)	Markierung: 2,5,8 4 Durchläufe; im 3./4.: Federn	Markierungen: 2,5,8 (3 Durchläufe)
KHP (Kurzes Habituationsprotokoll)	entfällt	1. Kontakt mit dem Board; keine Markierung; 2 Durchläufe; im 2. Federn	
LHP (Langes Habituationsprotokoll)	1. Kontakt mit dem Board (3 Durchläufe)	Markierung: 5,9,10 4 Durchläufe; im 3./4.: Federn	

⇒ Habituationstag H1:

Die Habituation am Tag H1 besteht aus drei Durchgängen und läuft für die beiden Untergruppen EHP und LHP identisch ab. Am H1 werden keine Markierungen angebracht und die Sprungfedern sind nicht eingesetzt, die Deckel liegen lose verschiebbar auf den Vertiefungen. Die Tiere lernen Brett und Deckel kennen, bevor sie den Deckelmechanismus bedienen müssen. Ein Durchlauf ist, wie auch an allen folgenden Testtagen, dann beendet, wenn zehn Minuten vergangen sind oder die Ratte drei Puffreisstücke gefressen hat. Anders als in der späteren Trainingsphase werden jedoch mehr als drei Stück Puffreis ausgelegt: Beim ersten Durchlauf sind alle Löcher mit angefeuchtetem Puffreis befüllt und stehen halb offen. Die Deckel zeigen abwechselnd nach links und rechts. Im zweiten Durchlauf sind nur noch zehn der Löcher befüllt, fünf davon sind halb offen, die andere Hälfte geschlossen. Die leeren Löcher stehen weit offen. Beim dritten Durchlauf bleiben alle zehn gefüllten Löcher geschlossen, die leeren Löcher sind offen. Welche Löcher befüllt sind, ist randomisiert. Wenn der letzte Durchlauf beendet ist, wird das Board grob gereinigt und anschließend zum ersten Mal für den nächsten Tag mit dem weißen Klebeband markiert.

⇒ Habituationstag H2 der Untergruppen EHP und LHP:

Der Tag H2 beinhaltet für die Gruppen LHP und EHP vier Durchgänge. Der Ablauf ist für diese beiden Untergruppen bis auf die verwendete Lochkombination gleich. In allen Durchläufen wird je ein Puffreiskorn in die drei markierten Löcher gelegt. Alle Löcher sind geschlossen. Vom dritten Durchlauf an werden die Sprungfedern verwendet. Von diesem Zeitpunkt an ist der automatische Lochverschluss gewährleistet.

Ab diesem Tag finden die Untergruppen EHP und LHP die Futterbelohnung nur noch in Verbindung mit einer Markierung. Für die Untergruppe LHP wird die Lochkombination als Loch Nummer fünf, neun und zehn festgelegt - diese Anordnung wird nie wieder verwendet. Für die Gruppe EHP sind die Nummern zwei, fünf und acht gekennzeichnet – diese Kombination ist dieselbe, die für alle Tiere der drei Protokollgruppen am ersten Tag der Lernphase angebracht wird.

⇒ Habituationstag der Untergruppe KHP:

Die Habituation der Untergruppe KHP ist eintägig. Dieser Habituationstag findet am Tag H2 der beiden anderen Untergruppen statt. Die Tiere aller Protokolle kommen am selben Tag in die Lernphase.

Am Habituationstag der Untergruppe KHP finden 2 Durchläufe statt. Die Löcher, die Futterbelohnung enthalten, werden in der Habituationsphase nach dem Protokoll KHP nicht markiert. Im zweiten Durchlauf werden die Federn verwendet. Die Untergruppe KHP lernt im ersten Durchlauf das Board mit Futterbelohnung und im zweiten zusätzlich den Schließmechanismus der Löcher kennen. Im ersten Durchlauf enthalten zehn der Löcher je ein Korn Puffreis. Die eine Hälfte ist halb offen, die andere geschlossen. Alle ungefüllten Löcher stehen weit offen. Für den zweiten Durchlauf werden fünf der Löcher gefüllt. Durch die Federn sind alle Löcher verschlossen.

Täglicher Versuchsablauf

Der Test findet, abhängig von der Aktivitätsphase der Tiere und der Lichtphase im Stall, in der späten Hellphase zwischen 8.00 und 12.00 Uhr vormittags statt. Der Stall wird nur mit sauberer Schutzkleidung betreten. Zugang haben nur die untersuchenden Doktoranden und die Versuchsleiter. Der Untersuchende geht stets gleich wie an den anderen Testtagen riechend in den Test, beziehungsweise benutzt zum Beispiel immer die gleichen Kosmetika, die möglichst wenig riechen und nimmt etwa auch keine geruchsintensiven Nahrungsmittel vor dem Test zu sich. Die Tiere werden während des Tests keinen neuen Sinneseindrücken ausgesetzt.

Man nimmt den Käfigdeckel vorsichtig ab und beobachtet die Reaktion der Tiere. Gesunde Ratten zeigen reges Interesse, schnuppern und machen Männchen. Ein Absondern von der Gruppe zusammen mit einer Unachtsamkeit gegenüber äußeren Reizen oder ein struppiges Fell weisen auf Krankheiten hin. Das Board wird aus der Arena genommen und mit feuchtem Zellstoff von Staub befreit. Die Arena wird von Einstreuresten gereinigt. Im Testareal liegt während der Testdurchläufe kein Fremdmaterial wie Einstreu, Tierhaare und Ähnliches. Urin oder sonstige Verunreinigungen werden nach jedem Durchlauf mit feuchtem Zellstoff abgeputzt. Während der ersten Durchläufe markieren die Ratten gewöhnlich verstärkt Board und Umgebung. Um die spezifischen Duftmarkierungen nicht ständig wieder zu entfernen, wird während der gesamten Studie keine Reinigung mit Seife, fließendem Wasser oder Desinfektionsmitteln vorgenommen. Alle Löcher des Boards werden mit Johannisbeeraromalösung benetzt. Drei der Lochdeckel werden mit dem weißen Klebeband nach der Lochkombination markiert, die für den entsprechenden Testtag vorgesehen ist. Dabei ist vorgesehen, dass der Untersucher am Ende eines Testtages alle fünfzehn Deckel mit einer Markierung versieht und erst unmittelbar vor dem nächsten Test die Beklebung der zwölf „falschen“ Löcher entfernt. So riechen alle Deckel gleich intensiv nach Leukoplast. Das markierte Brett wird in die Arena gelegt. Tiernummer, Testtag und Durchlaufnummer des Tages werden in das spezielle Computerprogramm (The Observer® (Noldus Information Technology bv, Wageningen, The Netherlands, ©2002)) eingegeben und auf Videoband (Mini DV-Kassetten, TDK 60) festgehalten. Der Untersucher sitzt an der Käfigseite und bedient den PC (Vectra). Die Kamera (Digital-Camcorder-Videocamera, Model Nr: GR-DV 1800, Sony Cooperation, Japan) befindet sich an der Kopfseite. Die markierten Löcher werden mit der Futterbelohnung bestückt, wobei man eine Pinzette (Modell: Standard, AESCULAP AG & CO. KG, Tuttlingen) benutzt. Die Futterbelohnung und das Board werden so nicht durch den Untersucher geruchsmarkiert. Der Puffreis wird in jedem Loch an die gleiche Stelle gelegt. Die Ratte wird aus dem Käfigabteil entnommen und in den rechten unteren Quadranten der Arena dem Board zugewandt eingesetzt. Zeitgleich wird das Computerprogramm gestartet. Die Ratte wird zu ihrer Gruppe zurück gesetzt, sobald der Durchlauf beendet ist.

Das Vorgehen bei der nächsten Ratte ist identisch. Ein Versuchstag beinhaltet pro Tier drei Durchläufe, wobei erst alle einen Durchlauf bewältigen, bevor der zweite Durchlauf beginnt. Alle Tiere eines Protokolls beginnen am selben Tag mit dem mHBT, beziehungsweise dHBT. Die Reihenfolge, in der die Tiere getestet werden, wechselt nach jedem Durchlauf randomisiert.

Lernphase und Wiederholungstests

⇒ Lern- und Trainingsphase:

Ab Tag 1, dem dritten Tag nach dem ersten Kontakt mit dem Board, sind die Protokolle der drei Untergruppen gleich. Der alltägliche Testablauf mit der Aufzeichnung der Lernphase setzt ein. Die Löcher sind entsprechend der Randomisierungsliste (siehe Tab. 1) markiert. In allen drei Durchläufen eines Tages sind dabei dieselben Löcher gekennzeichnet, egal welcher Gruppe das Tier angehört. Die Trainingsphase ist beendet, wenn das Lernziel erreicht ist: die kognitive Leistung und die Zahl der begangenen Auffindungsfehler erweisen sich über mehrere Tage als stabil.

Tabelle 2: Liste der Lochkombinationen für die Markierung der drei befüllten Löcher am zweiten Tag der Habituation (Tag H2), an den Tagen der Lernphase und an den Tagen der Wiederholungstests

Tag	Markierung
H2	5,9,10 / 2,5,8
01	2,5,8
02	4,12,13
03	3,10,12
04	1,2,15
05	4,6,9
06	9,12,13
07	2,11,14
08	3,4,10
09	3,7,14
10	5,6,8
11	1,10,13
12	6,13,15
13	2,10,12
14	3,9,4
15	1,5,12

⇒ Retestphase:

Die folgenden fünf Tage werden die Tiere täglich auf ihr Allgemeinbefinden hin untersucht. Am sechsten Tag nach Ende der Lernphase erfolgt der Retest: ein ganz normaler Testtag mit den drei Durchläufen. Auch die Lochkombinationen für die Wiederholungstests werden der Randomisierungsliste entnommen. An den ersten Retest schließt sich wieder eine Testpause von fünf Tagen an, der ein zweiter Retest mit dem gleichen Ablauf folgt. Die Durchführung des zweiten Retests entspricht gleichzeitig dem Ende dieser Studie.

3.2.3.7 *Aufzeichnung mit dem Analyseprogramm*

Um das beobachtete Verhalten der Versuchstiere synchron zu dokumentieren und später zu analysieren, bedient man sich des speziellen Observationsprogramms für den PC.

Der Protokollant hat die Tiere genau im Blick, wendet den Kopf nicht ab und bewegt sich nicht. Die Tiere werden durch den Untersucher nicht abgelenkt. Das Programm wird manuell gestartet. Ab diesem Zeitpunkt ist jede Eingabe zeitlich mit der von 600 auf 0 Sekunden rückwärtslaufenden Stoppuhr korreliert. Die Aufzeichnung kann vor Ablauf der zehn Minuten manuell beendet werden. Der Untersucher drückt parallel der entsprechenden Aktion des Tieres in der Arena Tasten (spezielle lautlose Tastatur (Foldable Keyboard; 5,0 VDC-30 mA; Modellnr: Fold-2000, made in Taiwan)), die mit bestimmten Befehlen belegt sind. Das Verhalten wird in kodierter Form an den Computer vermittelt und auf dem Bildschirm (Samsung, syncMaster 151 BM) unverschlüsselt angezeigt. Die Daten der erstellten Textdatei werden später in eine Exceldatei übertragen.

Die erste Aufzeichnung erfolgt beim ersten Brettkontakt in der Habituerungsphase (Tag H1) und geht nicht in die erstellte Lernkurve mit ein. Diese wird ab dem ersten Tag der Lernphase (Tag 1) erstellt.

Tabelle 3: Verhaltenskodierung für das Erstellen des Analyseprotokolls am PC

Aktion	Tastenbelegung	Definition
Beginn	Mausklick auf „GO“/Enter	Loslassen des Tieres von der Hand
Schnuppern Trennwand Beginn = Group Contact (= GC)	z	Durchstecken der Nase durch ein Trennwandloch
Schnuppern Trennwand Ende (= Off)	j (beendet vorherige Phase)	Ende bei Abwenden oder anderer Aktion; Schnuppern vom Board aus = Verlässt Board
Betritt Board (= Board)	r	Zielgerichtetes Betreten des Boards: 2 Pfoten oder 1 Pfote und Schnauze
Verlässt Board (= Box)	v	Zielgerichtetes Verlassen des Boards mit 2 Vorderpfoten
Loch 1/2/3 (CHV 1/2/3)	f, g, h	Aktives Aufsuchen eines markierten Lochs, d.h. Deckel wird zielgerichtet bewegt
Beginn Motor skill	d	Sobald Ratte den Deckel bewegt
Ende Motor skill (= Off)	j (beendet vorherige Phase)	Tier wendet sich ohne zu fressen vom Loch ab
Fressen Beginn = Food Intake on (FI ON (BOARD))/(FI ON (BOX))	x c	Tier beginnt auf dem Board bzw. in der Box zu fressen
Fressen Ende (= Off)	j (beendet vorherige Phase)	Kauvorgang beendet
Wiederholer = Repeated Choice (= RC)	l	Aktives Aufsuchen eines Lochs nach vorherigem Besuch mit Futteraufnahme
Falsches Loch = Wrong Choice (= WC)	k	Unmarkiertes Loch wird besucht
Männchen machen (= Rearing)	t	Erheben auf die Hinterbeine, auch innerhalb einer Schnupper- oder Fressphase
Groom (Box) Beginn Groom (Board) Beginn	u 5	Putzen, Kratzen in der Box oder auf dem Board
Groom (Box/Board) Ende	j (beendet vorherige Phase)	Putzphase ist beendet
Inaktivität Imb (Box) Beginn Imb (Board) Beginn	i 6	Keine Aktivität ab 3 Sekunden stillen Sitzens in Box oder auf Board
Inaktivität Ende (= Off)	j (beendet vorherige Phase)	Bewegung , Aktion
Line Crossing (Lc)	e	Zielgerichtetes Übertreten der Linie mit beiden Vorderpfoten
Absatz von Urin	n	Urinabsatz
Absatz von Boli	b	Kotabsatz

3.2.4 Qualitäten des mHB-Tests

Das erstellte Verhaltensprotokoll wird nach verschiedenen Parametern aufgeschlüsselt. Dadurch werden Informationen über die entsprechenden Gedächtnissysteme (kognitive Parameter), verschiedene Verhaltensdimensionen (Verhaltensparameter) und die Motorik (motorische Parameter) gewonnen.

3.2.4.1 Gedächtnisparameter

Die kognitiven Parameter im mHBT geben Auskunft über die Lernleistung und die Funktionalität des deklarativen Gedächtnisses und des Arbeitsgedächtnisses. Als Indikator für die Gesamtlernleistung im mHBT wird die Gesamtzeit des Durchlaufs (Time Complete, TC) angesehen. Dem deklarativen Gedächtnis werden zwei kognitive Parameter zugerechnet: zum einen die Anzahl unmarkierter, besuchter Löcher, also der Fehler (Wrong Choice, WC). Zum anderen die Anzahl nicht besuchter, markierter Löcher, der sogenannten Auffindungsfehler (Omission Error, OE). Diese beiden Parameter werden auch als Gesamtfehler eines Durchlaufs (WCt) zusammengefasst. Als Indikator für die Funktion des Arbeitsgedächtnisses im mHBT gilt die Anzahl markierter, wiederholt besuchter Löcher (Repeated Choice, RC).

3.2.4.2 Verhaltensparameter

Durch die Analyse von Verhaltensparametern kann man im mHBT verschiedene Verhaltensdimensionen differenzieren: Angstverhalten, gerichtetes und ungerichtetes Explorationsverhalten, soziale Affinität und Erregung. Das Angstverhalten wird durch Untersuchung der folgenden Parameter beurteilt: Gesamtzeit, die auf dem mHB verbracht wird (Time on Board, TOB), Latenz bis zum ersten Boardbesuch (Latency first Entry on Board, LfEB) und Anteil der Immobilität an der Gesamtzeit (Immobility). Als Maß der gerichteten Exploration dienen die Parameter der Latenz zum ersten Lochbesuch (Latency first Hole Visit, LfHV) und die Anzahl aller besuchten Löcher (Number of Hole Visits). Das ungerichtete Explorationsverhalten wird dagegen mit Hilfe der Anzahl des Aufrichtens der Ratte auf die Hinterfüße analysiert, der „Männchen“ (Rearings). Die soziale Affinität wird durch die Intensität der Kontaktaufnahme mit der Gruppe (Group Contact, GC) bestimmt. Als Indikator für die Erregung gilt

die Gesamtzeit der Putzphasen (Grooming) als Prozentsatz der Dauer des betreffenden Durchlaufs.

3.2.4.3 *Motorische Parameter*

Die Motorik wird im mHBT in dieser Studie durch die Untersuchung von lokomotorischer Aktivität und motorischer Geschicklichkeit beurteilt. Als Maß für die lokomotorische Aktivität dient im mHBT die Anzahl der Linienüberquerungen (Line Crossing). Die motorische Geschicklichkeit wird daran bemessen, wie viel Zeit ein Tier für die Aufnahme der Futterbelohnung benötigt - die Fresszeit (time per food intake) wird ab dem Zeitpunkt berechnet, da die Futterbelohnung zum Maul geführt wird.

3.2.5 Kontrolle des Allgemeinbefindens: Physiologische Parameter

Die Bewertung des Allgemeinbefindens erfolgt durch Adspektion und Gewichtskontrolle.

Die tägliche Dokumentation des Körpergewichts erfolgt immer nach dem Test um die gleiche Uhrzeit. Die Angabe erfolgt in Gramm. Beim Wiegen wird gleichzeitig auch das Allgemeinbefinden beurteilt. Zuerst erfolgt eine Adspektion aller Ratten im Versuchskäfig. Dann wird nacheinander jedes Tier auf Anzeichen einer Erkrankung oder Verletzung und den Status der Körperpflege untersucht. Ratten mit reduziertem Allgemeinbefinden putzen sich nicht mit der üblichen Gründlichkeit. Anzeichen einer Krankheit oder Verletzung sind unsymmetrische oder veränderte Körperproportionen, Veränderungen an den Augen, zu lange Schneidezähne oder ein unsauberer Genital- und Analbereich. Zu lange Incisivi weisen auf ein gestörte Futteraufnahme hin. Die Schneidezähne der Ratte wachsen lebenslang nach, durch den natürlichen Abrieb beim Kauen behalten sie aber ihre Länge stets bei. Eine ungenügende Körperpflege wird an einer mangelnden Fellpflege erkannt. Wenn das Fell in Kopf- und Brustbereich rotbraun verfärbt ist, putzt der Nager das rotgefärbte Sekret, das von der Harderschen Drüse im Augenwinkel gebildet wird, nicht mehr ab. Überlange Zehennägel sind ein Indikator für ein gestörtes Putzverhalten. Gewöhnlich werden sie täglich gekürzt. Bei der Durchführung der genannten Untersuchung wird darauf geachtet, ob das Tier seine Körperspannung und -haltung den Handbewegungen des Untersuchers anpasst. Dies ist unter anderem als zu- oder abnehmender Muskeltonus spürbar, wenn das Tier in der Hand gesenkt oder angehoben wird. Ein reduzierter Muskeltonus, das heißt eine „schlaffe“ Körperhaltung, zeigt ein beeinträchtigtes Allgemeinbefinden an (WISHAW et al., 1999).

3.2.6 Statistische Bewertung der Befunde

Die Verhaltensparameter der Habitierungsphase werden mit einer univariaten Varianzanalyse analysiert, wobei der Faktor Hauptgruppe (Zugehörigkeit zu Gruppe mHB oder dHB), Untergruppe (Einteilung nach Protokoll EHP, KHP und LHP) und deren Interaktion untersucht wird. Die Parameter für Kognition, Verhalten und Motorik der Lern- und der Wiederholungsphase werden während der Lern- und der Retestphase mit hierarchisch gegliederten, allgemeinen, linearen Modellen untersucht. Man betrachtet innerhalb der Gruppen den Faktor Zeit und zwischen den Gruppen die Faktoren Hauptgruppe (Zugehörigkeit zu Gruppe mHB oder dHB) und Untergruppe (Einteilung nach Protokoll EHP, KHP und LHP) sowie sämtliche Wechselwirkungsbeziehungen. Für die Retestphase wird das erreichte Ergebnis am Ende der Lernphase als Kovariable getestet. Der physiologische Parameter der prozentualen Gewichtsveränderungen (im Vergleich zum Ausgangswert) wird vom zweiten Habitierungstag bis zum letzten Lerntag beziehungsweise dem achten Lerntag beider Hauptgruppen mit einer univariaten Varianzanalyse untersucht. Dabei werden die Faktoren Hauptgruppe (Zugehörigkeit zu Gruppe mHB oder dHB) und Untergruppe (Einteilung nach Protokoll EHP, KHP und LHP) zwischen den Gruppen und innerhalb der Gruppen der Faktor Zeit, sowie sämtliche Wechselwirkungsbeziehungen mit einem allgemeinen linearen Modell analysiert. Signifikanzen bestehen bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit $p < 0,05$. Die Untersuchung der Veränderungen im Zeitverlauf erfolgen für fast alle Parameter linear (Faktor Zeit), bei dem kognitiven Parameter „Gesamtfehler“ quadratisch (Faktor Zeit²).

Zur Berechnung der statistischen Ergebnisse dient das PC-Programm SPSS® (12.0G for Windows, Version 12.0.1 (11. November 2003); Copyright© SPSS Inc., 1989 – 2003; SPSS Inc. Headquarters, Chicago, Illinois 60606).

3.3 Ergebnisse

Die Ergebnisse der Habituerungs-, der Lern- und der Retestphase werden im Folgenden grafisch und tabellarisch dargestellt.

Die Mittelwerte (MW) und Standardfehler (\pm SEM) des jeweiligen Parameters sind für die beiden Hauptgruppen mHB und dHB in eigenen Tabellen dargestellt und nach den jeweiligen Untergruppen EHP, KHP und LHP unterteilt. Die Dauer der Lernphase bei den verschiedenen Hauptgruppen unterscheidet sich: bei der Hauptgruppe mHB ist die Lernphase acht Tage lang, bei der Hauptgruppe dHB 13 Tage lang. Die Mittelwerte (MW) und Standardfehler der Habituerungs- (H1) und der Retestphase (R1, R2) sind ebenfalls den Tabellen zu entnehmen. Zwischen der graphischen Darstellung der kognitiven Parameter und der Verhaltensparameter liegen Unterschiede vor, die physiologischen Parameter werden rein tabellarisch dargestellt.

3.3.1 Physiologische Parameter

Die messbaren physiologischen Parameter der Habituerungs-, Lern- und Wiederholungsphase in Form des täglichen prozentualen Gewichtsverhaltens sind als Mittelwerte (MW) und Standardfehler (\pm SEM) aller Gruppen den Tabellen 4 und 5 zu entnehmen.

Alle Tiere verzeichnen innerhalb ihres Untersuchungszeitraumes eine stetige Gewichtszunahme (Zeit: $p < 0,001$), die an den Habituerungstagen (H1 und H2) weniger ausgeprägt ist als in der darauffolgenden Lernphase. Zwischen den Hauptgruppen kommt es im Verlauf der ersten acht Lerntage der dHB-Tiere beziehungsweise des gesamten Lernphasenverlaufs der mHB-Gruppe zu einem signifikanten Unterschied (Zeit x Hauptgruppe: $p = 0,005$): an den ersten Lerntagen ist die Gewichtsveränderung zwischen den beiden nahezu identisch, aber schließlich nimmt die Hauptgruppe dHB an den Lerntagen sieben und acht mehr Gewicht zu als die Hauptgruppe mHB. Innerhalb der beiden Hauptgruppen liegt jeweils eine nahezu identische Gewichtszunahme bei den Untergruppen EHP, KHP und LHP vor (siehe Tab. 4 und 5).

Tabelle 4: Physiologische Parameter: Gewichtsveränderungen der Gruppe mHB in % zum Ausgangswert

mHB (n = 18)	Tag	mEHP (n = 6)		mKHP (n = 6)		mLHP (n = 6)	
Zunahme [%]	H1	0,77	± 0,31	1,53	± 0,40	1,51	± 0,52
	01	1,64	± 0,29	2,10	± 0,40	1,91	± 0,44
	02	2,25	± 0,40	3,05	± 0,36	2,78	± 0,42
	03	3,00	± 0,55	3,89	± 0,46	3,29	± 0,63
	04	3,89	± 0,64	4,83	± 0,32	4,07	± 0,57
	05	4,70	± 0,64	5,46	± 0,32	4,72	± 0,57
	06	5,26	± 0,89	6,14	± 0,38	5,52	± 0,55
	07	6,09	± 0,97	7,02	± 0,46	6,34	± 0,67
	08	6,73	± 0,93	7,22	± 0,52	7,14	± 0,85
	R1	11,36	± 1,25	11,95	± 0,72	11,49	± 1,14
	R2	15,51	± 1,90	16,38	± 1,19	17,44	± 1,49

Tabelle 5: Physiologische Parameter: Gewichtsveränderungen der Gruppe dHB in % zum Ausgangswert

dHB (n = 18)	Tag	dEHP (n = 6)		dKHP (n = 6)		dLHP (n = 6)	
Zunahme [%]	H1	1,26	± 0,33	1,45	± 0,49	1,46	± 1,03
	01	1,85	± 0,43	3,24	± 0,53	1,76	± 1,10
	02	2,45	± 0,53	3,63	± 0,48	2,40	± 0,97
	03	3,69	± 0,83	4,91	± 0,42	3,74	± 0,72
	04	5,14	± 0,71	5,83	± 0,61	4,61	± 0,94
	05	6,00	± 0,66	6,60	± 0,52	5,53	± 0,87
	06	7,11	± 0,66	7,26	± 0,73	6,58	± 0,95
	07	8,35	± 0,64	8,81	± 0,71	7,74	± 1,27
	08	9,73	± 0,65	9,49	± 0,79	9,00	± 1,16
	09	10,54	± 0,59	9,47	± 0,82	9,94	± 1,19
	10	11,87	± 0,61	11,12	± 0,91	10,66	± 1,26
	11	12,96	± 0,63	11,66	± 0,91	11,87	± 1,28
	12	14,21	± 0,66	12,62	± 0,90	12,93	± 1,54
	13	14,85	± 0,71	13,39	± 1,05	13,68	± 1,49
	R1	23,43	± 0,57	16,58	± 0,58	21,60	± 1,66
	R2	29,07	± 0,85	22,47	± 0,39	25,79	± 2,39

3.3.2 Kognitive Parameter

Aus den Tabellen 6 bis 13 sind die Mittelwerte (MW) und Standardfehler (\pm SEM) zu ersehen, die von kognitiven Parametern, der Gesamtzeit (Time Complete), den Gesamtfehlern (Wrong Choice total), den Auffindungsfehlern (Omission Error) und wiederholt besuchten Löchern (Repeated Choice) in der Lern-, Trainings- und Wiederholungsphase stammen. Die kognitiven Parameter werden ab dem ersten Lerntag analysiert. Die folgenden Abbildungen stellen die Mittelwerte (MW) und Standardfehler (\pm SEM) der Lernphase (Lerntag 1 bis letzter Lerntag) sowie der Retests (R1 und R2) grafisch dar.

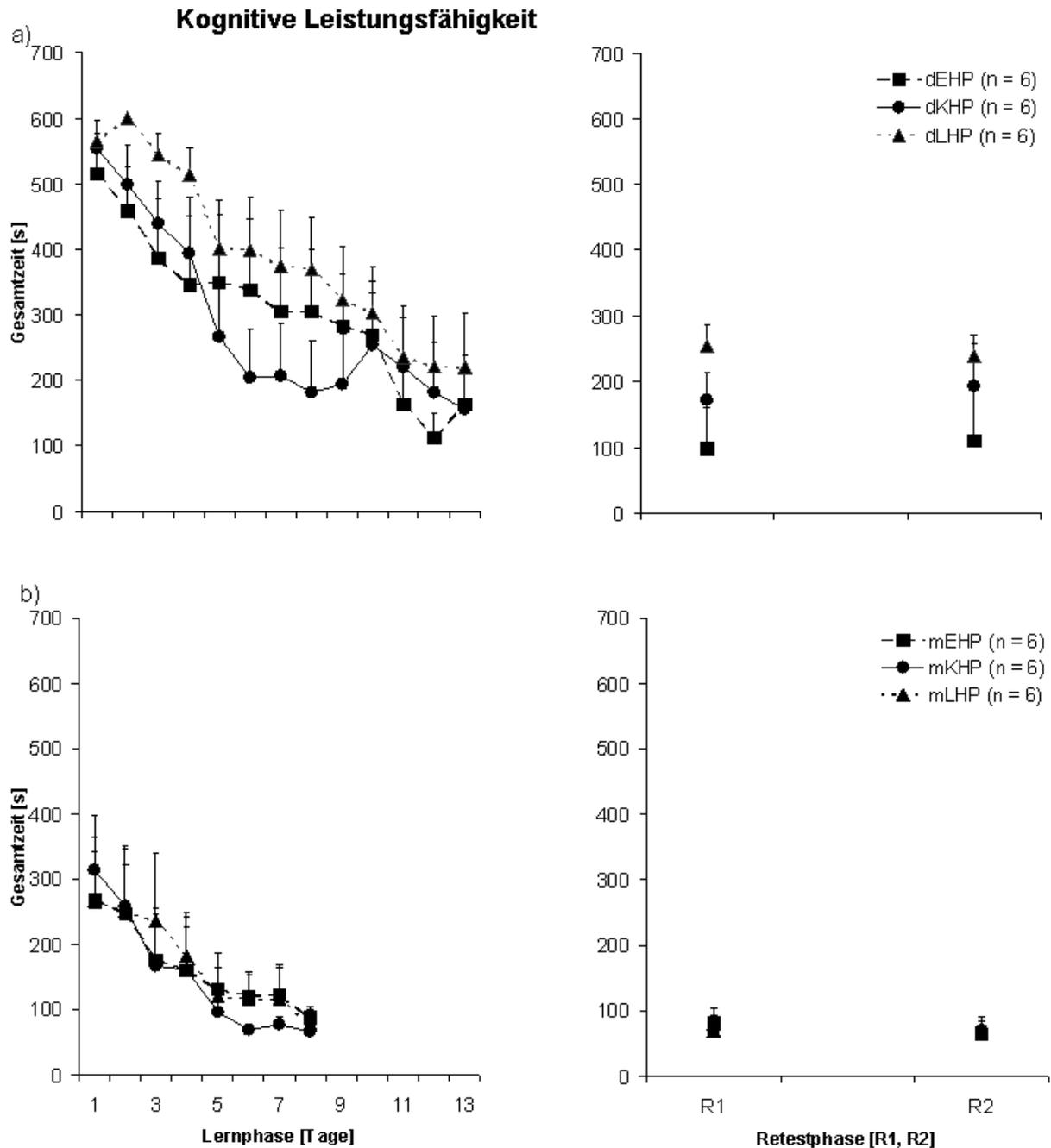


Abbildung 20: Gesamtzeit eines Durchlaufs (Time Complete [s]) der beiden Hauptgruppen doppeltes Hole-Board (a) und modifiziertes Hole-Board (b): jeweils mit vergleichender grafischer Darstellung ($MW \pm SEM$) der drei Untergruppen EHP, KHP und LHP zu definierten Tagen der jeweiligen Lernphase und der Retests (R1, R2).

MW = Mittelwert, SEM = Standardfehler, d bzw. mE (bzw. L, K) HP = doppeltes bzw. modifiziertes Etabliertes (bzw. Langes, Kurzes) Habituerungs-Protokoll

Die Hauptgruppe dHB hat eine Lernphase mit der Dauer von 13 Tagen, die Hauptgruppe mHB eine mit der Dauer von 8 Tagen. Im zeitlichen Verlauf reduziert sich die Durchlaufzeit bei allen sechs Untergruppen (Zeit: $p < 0,001$). Zeitunabhängig tritt ein Unterschied zwischen den Hauptgruppen dHB und mHB auf: die Gruppe dHB weist eine signifikant längere Durchlaufdauer auf (Hauptgruppe: $p < 0,001$). Zwischen den Untergruppen der gleichen Hauptgruppe treten keine Differenzen auf. Die Ergebnisse der Retests (R1, R2) zeigen eine Abhängigkeit von dem Ergebnis am letzten Tag der jeweiligen Lernphase (letzter Lerntag: $p < 0,001$), die Durchlaufdauer an diesen Wiederholungstagen ist ungefähr so lang wie jene am Ende der Lernphase (siehe Abb. 20).

Tabelle 6: Kognitive Parameter (Kognitive Leistungsfähigkeit): Gesamtzeit (Time Complete) der Gruppe mHB in Sekunden

mHB (n = 18)	Tag	mEHP (n = 6)	mKHP (n = 6)	mLHP (n = 6)
Gesamtzeit [s] (Time Complete)	01	270,17 ± 71,10	314,68 ± 83,85	266,60 ± 97,04
	02	246,43 ± 74,97	259,26 ± 88,29	250,18 ± 101,54
	03	175,96 ± 78,74	167,05 ± 79,46	235,79 ± 103,75
	04	161,12 ± 65,44	160,67 ± 80,92	182,11 ± 66,63
	05	130,49 ± 55,90	96,39 ± 25,96	119,66 ± 44,57
	06	120,91 ± 37,90	69,02 ± 8,92	115,56 ± 38,41
	07	123,30 ± 40,52	76,84 ± 11,98	115,69 ± 53,01
	08	87,69 ± 15,09	65,76 ± 11,22	78,69 ± 22,22
	R1	81,05 ± 22,86	70,85 ± 8,78	69,64 ± 22,37
	R2	64,26 ± 11,70	70,24 ± 14,00	72,53 ± 18,14

Tabelle 7: Kognitive Parameter (Kognitive Leistungsfähigkeit): Gesamtzeit (Time Complete) der Gruppe dHB in Sekunden

dHB (n = 18)	Tag	dEHP (n = 6)	dKHP (n = 6)	dLHP (n = 6)
Gesamtzeit [s] (Time Complete)	01	515,75 ± 62,35	554,04 ± 42,26	565,84 ± 31,37
	02	458,91 ± 67,91	499,17 ± 59,56	600,22 ± 0,10
	03	387,43 ± 89,47	439,65 ± 64,55	543,68 ± 33,07
	04	346,37 ± 103,92	393,75 ± 85,33	514,18 ± 39,96
	05	350,57 ± 101,98	266,81 ± 91,11	400,45 ± 74,21
	06	338,86 ± 106,91	204,13 ± 73,81	399,50 ± 81,11
	07	305,25 ± 95,20	206,43 ± 79,37	374,18 ± 86,60
	08	305,34 ± 94,57	181,30 ± 77,39	370,41 ± 79,07
	09	283,48 ± 79,38	194,06 ± 77,15	323,03 ± 81,37
	10	269,75 ± 81,41	253,17 ± 80,40	303,09 ± 71,31
	11	162,72 ± 57,32	220,25 ± 76,08	234,67 ± 80,45
	12	112,19 ± 36,64	181,35 ± 76,88	220,44 ± 77,16
	13	163,47 ± 61,91	155,80 ± 81,59	219,33 ± 83,79
	R1	97,78 ± 27,79	172,24 ± 78,19	254,71 ± 80,35
R2	109,58 ± 45,19	193,52 ± 80,40	238,51 ± 77,28	

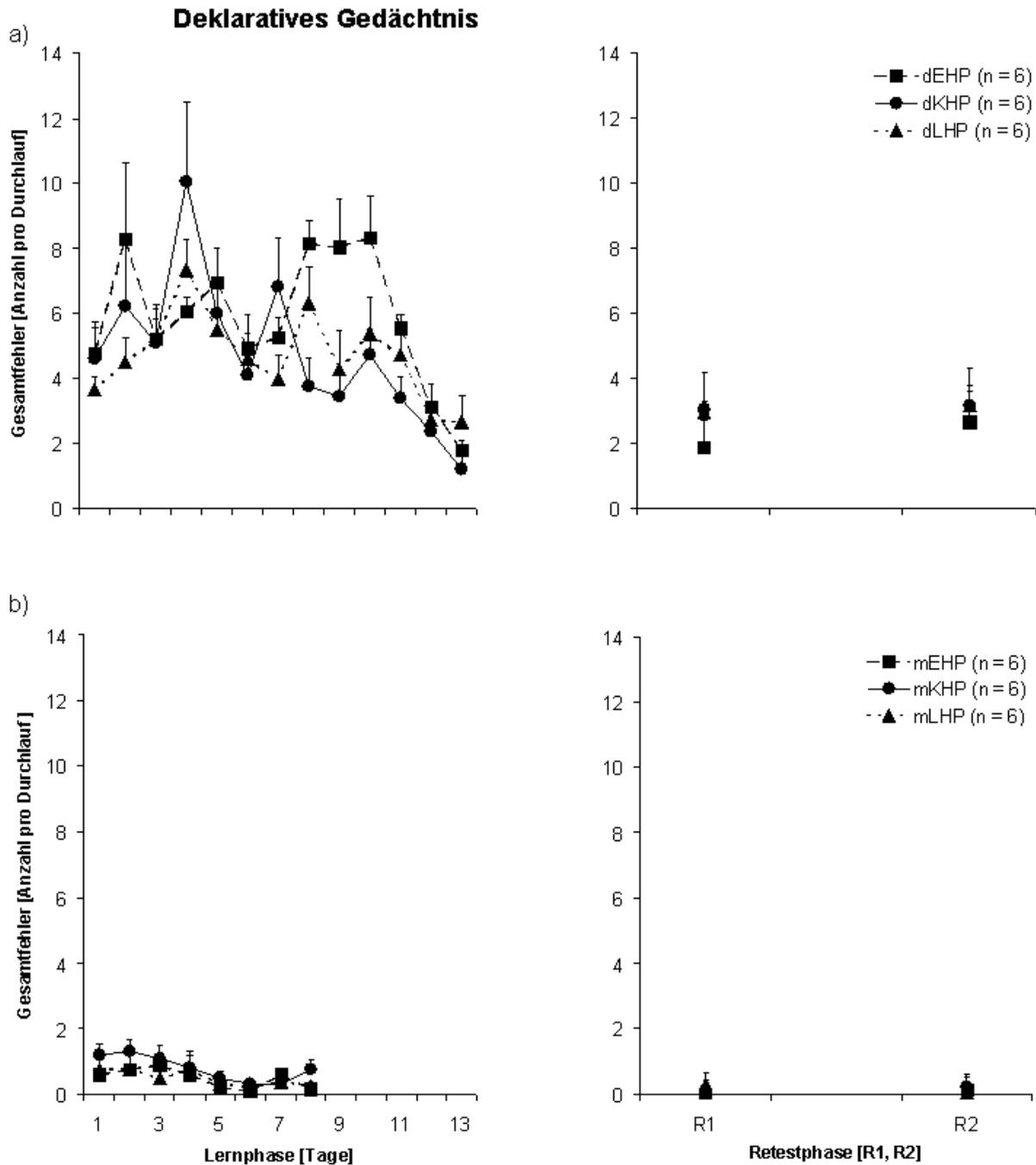


Abbildung 21: Anzahl der Gesamtfehler pro Durchlauf (Wrong Choice total) der beiden Hauptgruppen doppeltes Hole-Board (a) und modifiziertes Hole-Board (b): jeweils mit vergleichender grafischer Darstellung ($MW \pm SEM$) der drei Untergruppen EHP, KHP und LHP zu definierten Tagen der jeweiligen Lernphase und der Retests (R1, R2).

MW = Mittelwert, SEM = Standardfehler, d bzw. mE (bzw. L, K) HP = doppeltes bzw. modifiziertes Etabliertes (bzw. Langes, Kurzes) Habituerungs-Protokoll

Die Hauptgruppe dHB steigert die Anzahl ihrer Gesamtfehler im ersten Teil der Lernphase (Tag 1 bis 6) und senkt diese danach ab, die Gesamtfehler der mHB-Tier fallen schon ab dem dritten Testtag tendenziell ab (Zeit² x Hauptgruppe: $p = 0,033$). Die Gesamtfehlerzahl der Hauptgruppe dHB ist durchgängig höher als jene der Hauptgruppe mHB (Hauptgruppe: $p < 0,001$). Zwischen den Untergruppen eines Boards treten keine signifikanten Unterschiede auf. Die Ergebnisse der Wiederholungstests (R1, R2) entsprechen etwa denen des letzten Lerntages, sie sind von dem Ergebnis des Lernphasenendes (letzter Lerntag: $p < 0,001$) abhängig (siehe Abb. 21).

Tabelle 8: Kognitive Parameter (deklaratives Gedächtnis): Gesamtfehler (Wrong Choice total) der Gruppe mHB

mHB (n = 18)	Tag	mEHP (n = 6)		mKHP (n = 6)		mLHP (n = 6)	
Gesamtfehler [Anzahl pro Durchlauf] (Wrong Choice total)	01	0,61	± 0,45	1,22	± 0,32	0,78	± 0,37
	02	0,78	± 0,42	1,33	± 0,34	0,78	± 0,42
	03	0,89	± 0,41	1,11	± 0,37	0,50	± 0,25
	04	0,61	± 0,31	0,83	± 0,36	0,78	± 0,54
	05	0,22	± 0,15	0,50	± 0,19	0,33	± 0,16
	06	0,11	± 0,06	0,33	± 0,14	0,22	± 0,10
	07	0,61	± 0,17	0,330,	± 0,08	0,39	± 0,20
	08	0,17	± 0,07	0,78	± 0,26	0,28	± 0,09
	R1	0,00	± 0,00	0,11	± 0,06	0,28	± 0,15
	R2	0,11	± 0,06	0,22	± 0,13	0,06	± 0,05

Tabelle 9: Kognitive Parameter (deklaratives Gedächtnis): Gesamtfehler (Wrong Choice total) der Gruppe dHB

dHB (n = 18)	Tag	dEHP (n = 6)		dKHP (n = 6)		dLHP (n = 6)	
Gesamtfehler [Anzahl pro Durchlauf] (Wrong Choice total)	01	4,78	± 0,82	4,61	± 1,11	3,67	± 0,38
	02	8,28	± 2,38	6,22	± 1,91	4,50	± 0,74
	03	5,22	± 0,93	5,11	± 1,15	5,22	± 0,62
	04	6,06	± 0,45	10,06	± 2,47	7,33	± 0,95
	05	6,94	± 1,08	6,00	± 0,89	5,50	± 0,59
	06	4,94	± 1,03	4,11	± 0,62	4,61	± 0,78
	07	5,28	± 0,60	6,83	± 1,51	4,00	± 0,72
	08	8,17	± 0,67	3,78	± 0,84	6,33	± 1,11
	09	8,06	± 1,47	3,44	± 0,79	4,28	± 1,19
	10	8,33	± 1,29	4,72	± 0,79	5,39	± 1,11
	11	5,56	± 0,38	3,39	± 0,67	4,72	± 0,79
	12	3,11	± 0,71	2,39	± 0,21	2,72	± 0,25
	13	1,78	± 0,33	1,22	± 0,48	2,67	± 0,78
	R1	1,89	± 0,32	3,06	± 0,44	2,94	± 0,91
R2	2,67	± 0,61	3,17	± 0,36	3,17	± 0,64	

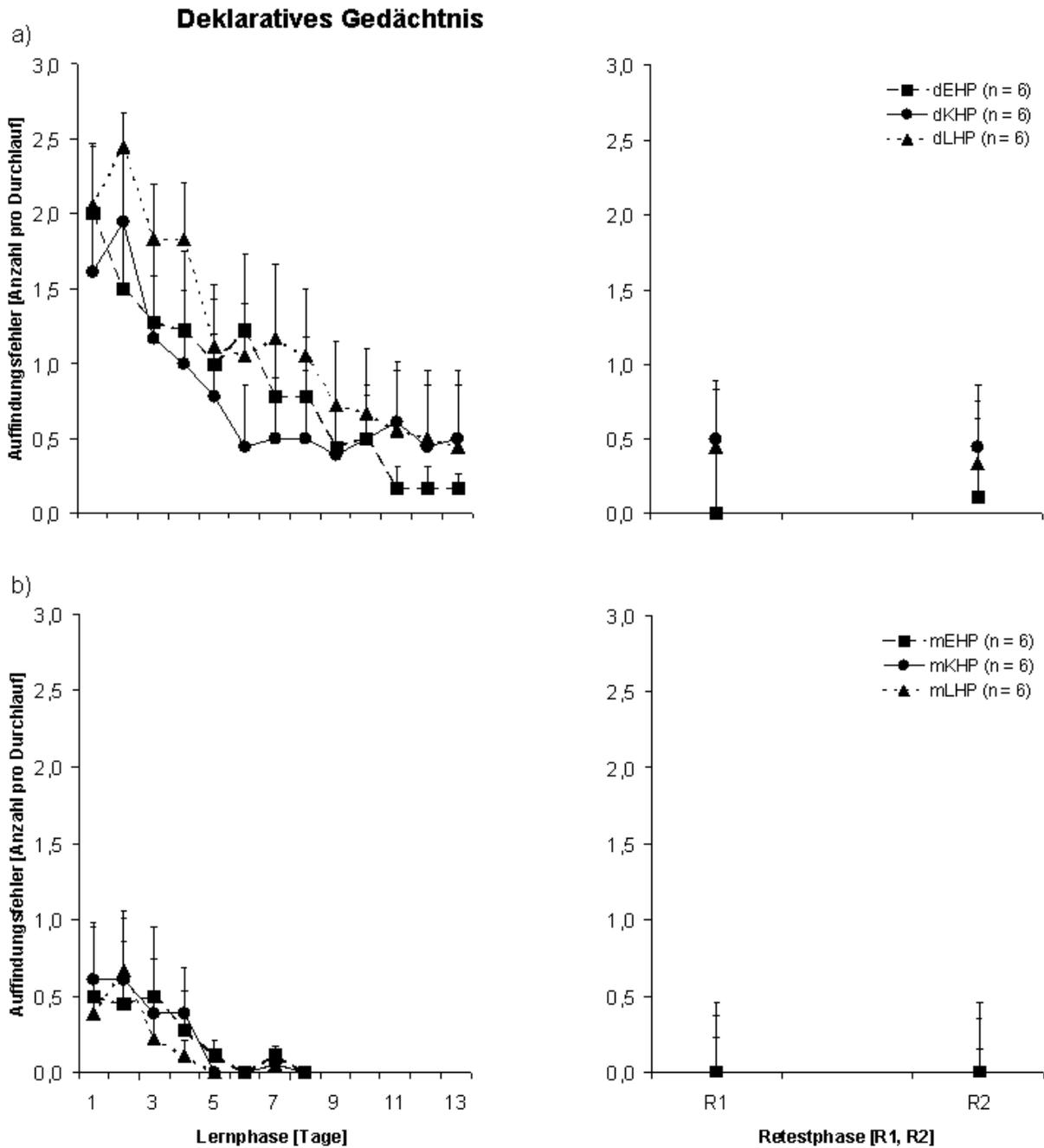


Abbildung 22: Anzahl der Auffindungsfehler pro Durchlauf (Omission Error) der beiden Hauptgruppen doppeltes Hole-Board (a) und modifiziertes Hole-Board (b): jeweils mit vergleichender grafischer Darstellung ($MW \pm SEM$) der drei Untergruppen EHP, KHP und LHP zu definierten Tagen der jeweiligen Lernphase und der Retests (R1, R2).

MW = Mittelwert, SEM = Standardfehler, d bzw. mE (bzw. L, K) HP = doppeltes bzw. modifiziertes Etabliertes (bzw. Langes, Kurzes) Habituerungs-Protokoll

Alle sechs Gruppen reduzieren die Anzahl der Auffindungsfehler von Beginn der Lernphase an bis drei Tage vor ihrem Ende (Zeit: $p < 0,001$). Die Hauptgruppe dHB begeht während dieser Zeit insgesamt mehr Auffindungsfehler als die mHB-Gruppe (Hauptgruppe: $p < 0,001$). Jede der Untergruppen dEHP, dKHP und dLHP macht bis zu dem Ende der Lernphase derartige Fehler, ab Tag 11 liegt die Menge an „Omission Errors“ etwa auf der gleichen Höhe. Die Untergruppen mEHP, mKHP und mLHP sind bereits an den Lerntagen 6 bis 8 fast frei von Auffindungsfehlern. Die Unterschiede zwischen den Untergruppen des Boards mHB beziehungsweise dHB sind nicht signifikant. Die Ergebnisse der Wiederholungstest (R1, R2) gleichen nahezu den Werten des letzten Lerntags, von denen sie sich auch abhängig zeigen (letzter Lerntag: $p < 0,001$) (siehe Abb. 22).

Tabelle 10: Kognitive Parameter (deklaratives Gedächtnis): Auffindungsfehler (Omission Error) der Gruppe mHB

mHB (n = 18)	Tag	mEHP (n = 6)		mKHP (n = 6)		mLHP (n = 6)	
Auffindungsfehler [Anzahl pro Durchlauf] (Omission Error)	01	0,50	± 0,46	0,61	± 0,37	0,39	± 0,23
	02	0,44	± 0,41	0,61	± 0,40	0,67	± 0,39
	03	0,50	± 0,46	0,39	± 0,36	0,22	± 0,15
	04	0,28	± 0,25	0,00	± 0,30	0,11	± 0,10
	05	0,11	± 0,10	0,00	± 0,00	0,00	± 0,00
	06	0,00	± 0,00	0,06	± 0,00	0,00	± 0,00
	07	0,11	± 0,06	0,00	± 0,05	0,06	± 0,05
	08	0,00	± 0,00	0,00	± 0,00	0,00	± 0,00
	R1	0,00	± 0,00	0,00	± 0,00	0,00	± 0,00
	R2	0,00	± 0,00	0,00	± 0,00	0,00	± 0,00

Tabelle 11: Kognitive Parameter (deklaratives Gedächtnis): Auffindungsfehler (Omission Error) der Gruppe dHB

dHB (n = 18)	Tag	dEHP (n = 6)		dKHP (n = 6)		dLHP (n = 6)	
Auffindungsfehler [Anzahl pro Durchlauf] (Omission Error)	01	2,00	± 0,47	1,61	± 0,39	2,06	± 0,39
	02	1,50	± 0,46	1,94	± 0,52	2,44	± 0,23
	03	1,28	± 0,52	1,17	± 0,42	1,83	± 0,37
	04	1,22	± 0,53	1,00	± 0,49	1,83	± 0,37
	05	1,00	± 0,43	0,78	± 0,42	1,11	± 0,41
	06	1,22	± 0,51	0,44	± 0,41	1,06	± 0,35
	07	0,78	± 0,41	0,50	± 0,40	1,17	± 0,50
	08	0,78	± 0,41	0,50	± 0,46	1,06	± 0,44
	09	0,44	± 0,30	0,39	± 0,36	0,72	± 0,43
	10	0,50	± 0,29	0,50	± 0,35	0,67	± 0,44
	11	0,17	± 0,15	0,61	± 0,40	0,56	± 0,40
	12	0,17	± 0,15	0,44	± 0,41	0,50	± 0,46
	13	0,17	± 0,10	0,50	± 0,46	0,44	± 0,41
	R1	0,00	± 0,00	0,50	± 0,46	0,44	± 0,30
R2	0,11	± 0,10	0,44	± 0,35	0,33	± 0,21	

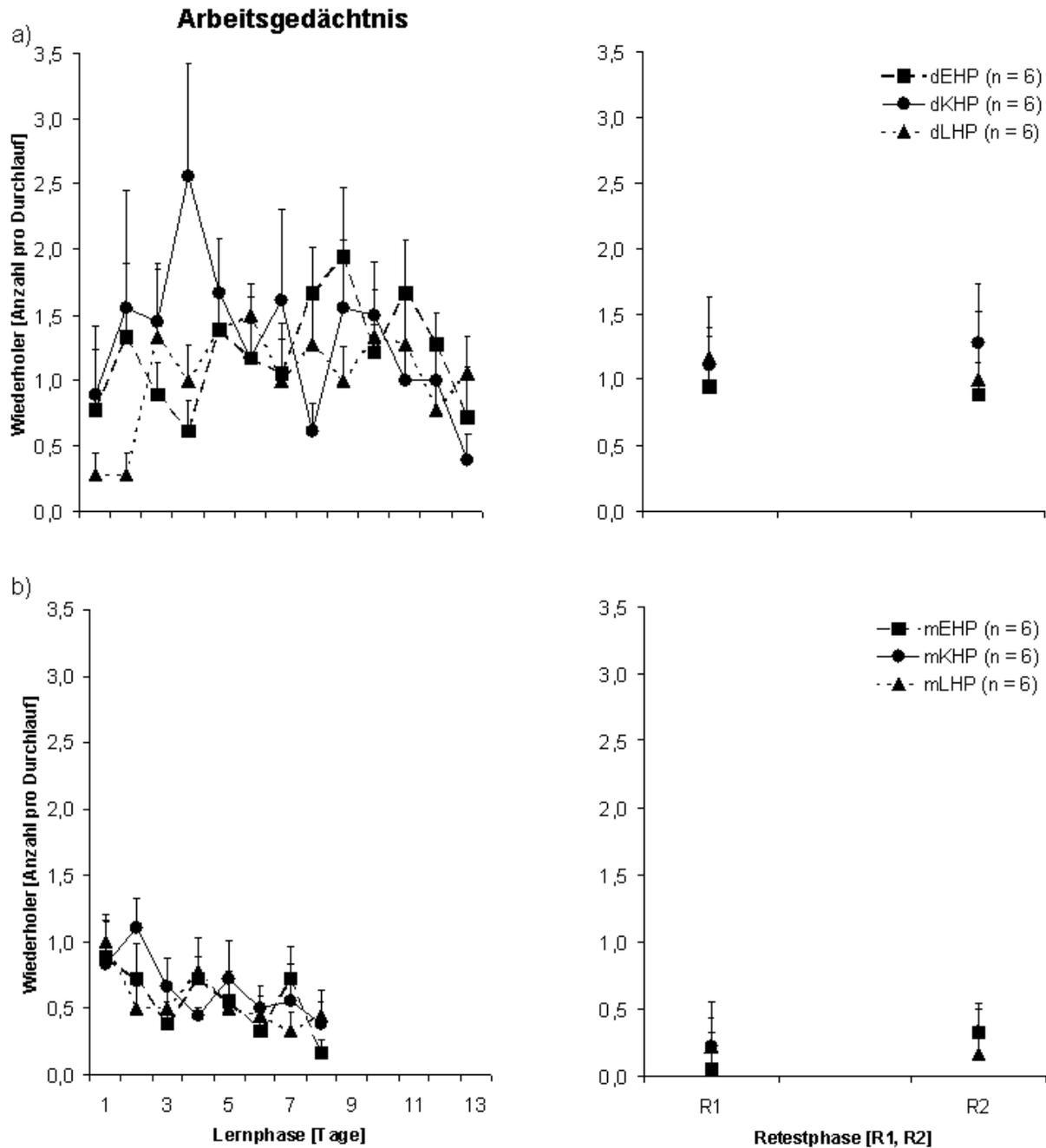


Abbildung 23: Anzahl der wiederholt besuchten Löcher pro Durchlauf (Repeated Choice) der beiden Hauptgruppen doppeltes Hole-Board (a) und modifiziertes Hole-Board (b): jeweils mit vergleichender grafischer Darstellung ($MW \pm SEM$) der drei Untergruppen EHP, KHP und LHP zu definierten Tagen der jeweiligen Lernphase und der Retests (R1, R2).

MW = Mittelwert, SEM = Standardfehler, d bzw. mE (bzw. L, K) HP = doppeltes bzw. modifiziertes Etabliertes (bzw. Langes, Kurzes) Habituerungs-Protokoll

Die Häufigkeit, mit der am Tag 1 wiederholt Lochbesuche vorgenommen werden, ist bei den Hauptgruppen annähernd gleich. Die dHB-Tiere steigern dann zunächst die Menge der Wiederholer etwa bis Tag 5 der Lernphase, bevor sie am Ende der Lernphase etwa das Ausgangsniveau erreichen, wohingegen die mHB-Hauptgruppe im zeitlichen Verlauf stetig abnehmende Werte aufweist (Zeit x Hauptgruppe: $p = 0,048$). Auch werden von der Hauptgruppe dHB ab Tag 2 durchwegs mehr Löcher wiederholt besucht als von der Hauptgruppe mHB (Hauptgruppe: $p < 0,001$). Zwischen den drei Untergruppen einer Hauptgruppe zeigen sich keine Unterschiede. Bei den Wiederholungstests werden von allen Gruppen in etwa so viele Wiederholer wie am letzten Lerntag begangen. Der Einfluss des „Lernergebnisses“ auf das Wiederholungsergebnis ist deutlich (letzter Lerntag: $p = 0,018$) (siehe Abb. 23).

Tabelle 12: Kognitive Parameter (Arbeitsgedächtnis): Wiederholungsfehler (Repeated Choice) der Gruppe mHB

mHB (n = 18)	Tag	mEHP (n = 6)		mKHP (n = 6)		mLHP (n = 6)	
Wiederholungsfehler [Anzahl pro Durchlauf] (Repeated Choice)	01	0,89	± 0,27	0,83	± 0,33	1,00	± 0,21
	02	0,72	± 0,27	1,11	± 0,22	0,50	± 0,17
	03	0,39	± 0,17	0,67	± 0,21	0,50	± 0,13
	04	0,72	± 0,17	0,44	± 0,06	0,78	± 0,26
	05	0,56	± 0,23	0,72	± 0,29	0,50	± 0,19
	06	0,33	± 0,11	0,50	± 0,17	0,44	± 0,15
	07	0,72	± 0,24	0,56	± 0,28	0,33	± 0,14
	08	0,17	± 0,10	0,39	± 0,17	0,44	± 0,19
	R1	0,06	± 0,05	0,12	± 0,10	0,22	± 0,20
	R2	0,33	± 0,11	0,27	± 0,11	0,17	± 0,10

Tabelle 13: Kognitive Parameter (Arbeitsgedächtnis): Wiederholungsfehler (Repeated Choice) der Gruppe dHB

dHB (n = 18)	Tag	dEHP (n = 6)		dKHP (n = 6)		dLHP (n = 6)	
Wiederholungsfehler [Anzahl pro Durchlauf] (Repeated Choice)	01	0,78	± 0,46	0,89	± 0,52	0,28	± 0,17
	02	1,33	± 0,56	1,56	± 0,90	0,28	± 0,17
	03	0,89	± 0,24	1,44	± 0,45	1,33	± 0,52
	04	0,61	± 0,23	2,56	± 0,86	1,00	± 0,27
	05	1,39	± 0,29	1,67	± 0,42	1,39	± 0,31
	06	1,17	± 0,46	1,17	± 0,27	1,50	± 0,23
	07	1,06	± 0,27	1,61	± 0,69	1,00	± 0,44
	08	1,67	± 0,34	0,61	± 0,21	1,28	± 0,38
	09	1,94	± 0,53	1,56	± 0,51	1,00	± 0,26
	10	1,22	± 0,20	1,50	± 0,41	1,33	± 0,36
	11	1,67	± 0,40	1,00	± 0,28	1,28	± 0,37
	12	1,28	± 0,24	1,00	± 0,26	0,78	± 0,24
	13	0,72	± 0,38	0,39	± 0,20	1,06	± 0,29
	R1	0,94	± 0,25	1,11	± 0,29	1,17	± 0,29
R2	0,89	± 0,26	1,28	± 0,45	1,00	± 0,26	

3.3.3 Verhaltensparameter

Angstverhalten

In den Tabellen 14 bis 19 sind die für den jeweiligen Parameter errechneten Mittelwerte (MW) und Standardfehler (\pm SEM) dargestellt. Die folgenden Abbildungen ergeben sich aus Mittelwerten (MW) und Standardfehlern (SEM). Die Darstellung der Ergebnisse des ersten Boardkontakts in der Phase der Habituation und der Lernphase erfolgt getrennt: einer Abbildung des Gruppenmittelwertes im ersten Durchlauf des ersten Habituationstags (erster Boardkontakt) in Form eines Balkendiagramms folgt die Darstellung der gesamten Lernphase (der Mittelwerte des entsprechenden Lerntages wird aus den drei Durchläufen jedes Gruppenmitglieds errechnet) als Kurvendiagramm, in dem die Habituationsphase nicht dargestellt ist.

Im modifizierten Hole-Board-Test (mHBT) wird das Angstverhalten durch folgende Verhaltensparameter angezeigt: die Gesamtzeit, die in einem Durchlauf auf dem mHB verbracht wird (Time on Board) und die Latenz bis zum ersten Besuch des mHB (Latency first entry on Board). Die Zeit, die sich aus der Summe der einzelnen Immobilitätsphasen (Immobility) ergibt, stellt die Gesamtzeit der Immobilität dar. Im mHBT ist diese ein Indikator für die Verhaltensparameter Angst und Allgemeinbefinden.

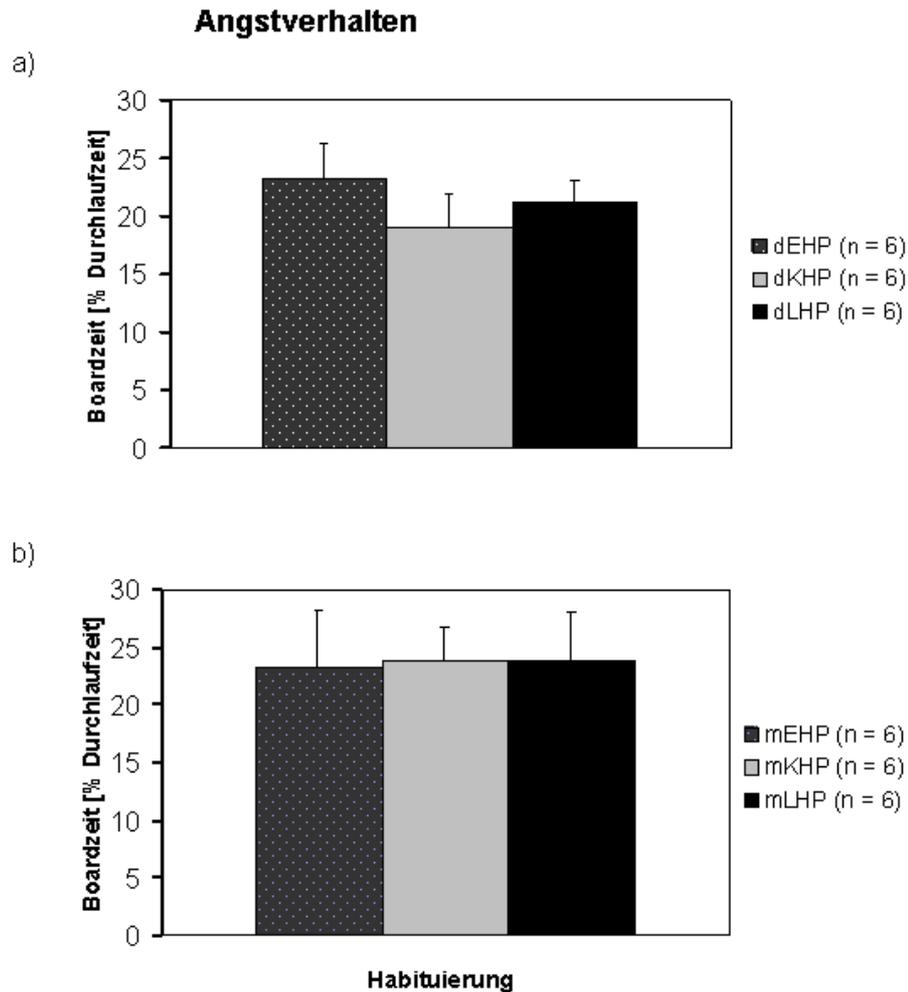


Abbildung 24: Boardzeit (Time on Board [%]) in der Habituation der beiden Hauptgruppen doppeltes Hole-Board (a) und modifiziertes Hole-Board (b): jeweils mit vergleichender grafischer Darstellung ($MW \pm SEM$) der drei Untergruppen EHP, KHP und LHP.

MW = Mittelwert, SEM = Standardfehler, d bzw. mE (bzw. L, K) HP = doppeltes bzw. modifiziertes Etabliertes (bzw. Langes, Kurzes) Habituations-Protokoll

In der Habituationsphase zeigt sich, dass die Gruppe mHB prozentual geringfügig mehr Durchlaufzeit auf dem Board verbringt als die Gruppe dHB. Die Unterschiede sind jedoch nicht signifikant. Zwischen den Untergruppen mHB und dHB treten jeweils keine signifikanten Unterschiede auf (siehe Abb. 24).

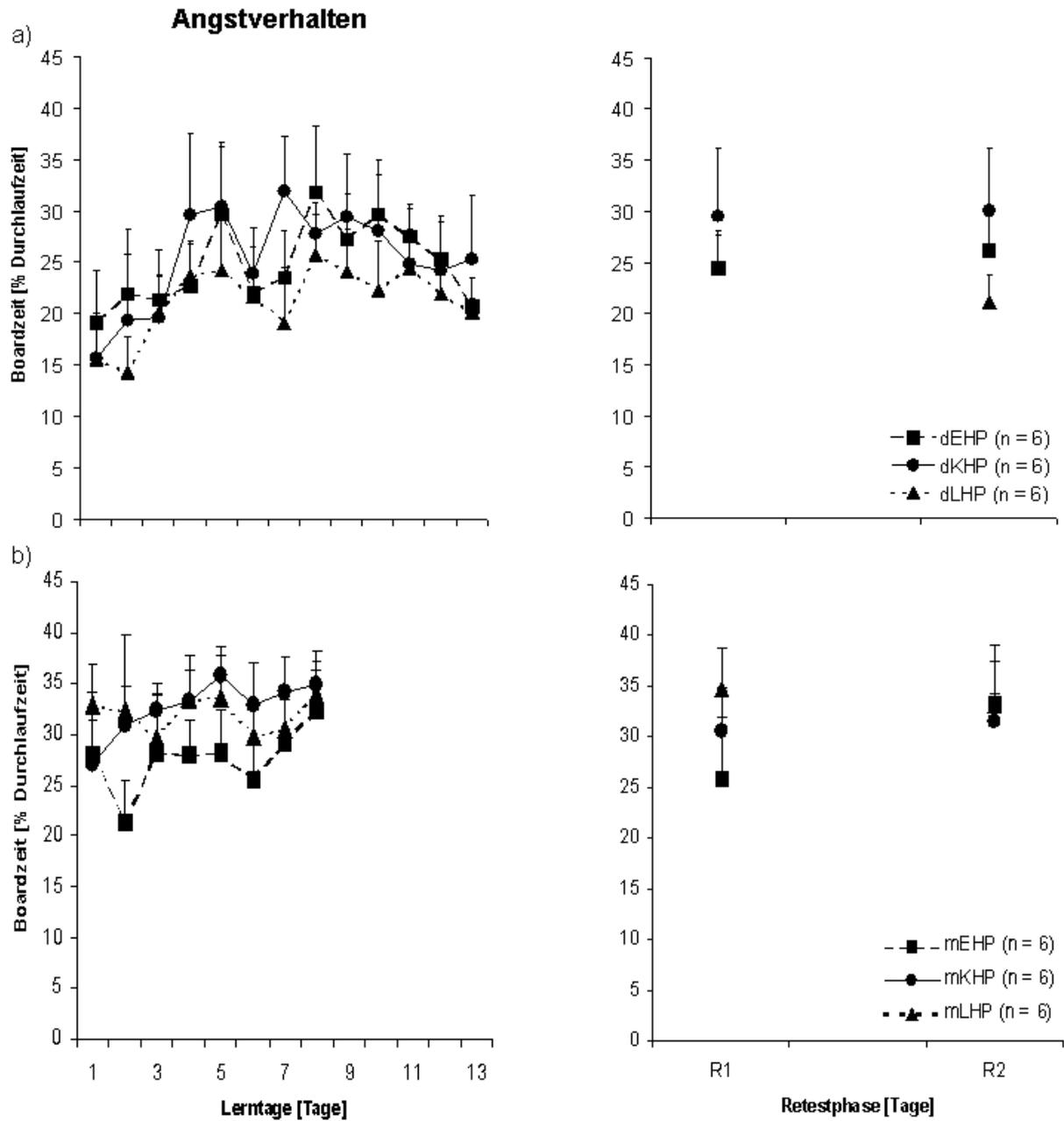


Abbildung 25: Boardzeit (Time on Board [%]) der beiden Hauptgruppen doppeltes Hole-Board (a) und modifiziertes Hole-Board (b): jeweils mit vergleichender grafischer Darstellung (MW±SEM) der drei Untergruppen EHP, KHP und LHP zu definierten Tagen der jeweiligen Lernphase und der Retests (R1, R2).

MW = Mittelwert, SEM = Standardfehler, d bzw. mE (bzw. L, K) HP = doppeltes bzw. modifiziertes Etabliertes (bzw. Langes, Kurzes) Habituerungs-Protokoll

Die Hauptgruppe dHB verbringt die gesamte Lernphase über tendenziell einen geringeren Durchlaufanteil auf dem Board als die Hauptgruppe mHB (Hauptgruppe: $p = 0,058$). Bei beiden Hauptgruppen nimmt die Boardzeit aber im Verlauf der Lernphase mit unregelmäßigem Verhalten zu (Zeit: $p = 0,006$). Zwischen den Untergruppen der gleichen Hauptgruppe bestehen keine signifikanten Unterschiede. Die Boardzeit in der Wiederholungsphase zeigt sich abhängig von dem Ergebnis des letzten Lerntags (letzter Lerntag: $p < 0,001$) (siehe Abb. 25).

Tabelle 14: Verhaltensparameter (Angst): Boardzeit (Time on Board) der Gruppe mHB

mHB (n = 18)	Tag	mEHP (n = 6)		mKHP (n = 6)		mLHP (n = 6)	
Boardzeit [%] (Time on Board)	H1	19,87	± 4,60	23,84	± 2,91	23,89	± 4,12
	01	27,99	± 6,18	27,07	± 4,29	32,84	± 4,11
	02	21,31	± 4,17	30,82	± 3,82	32,35	± 7,33
	03	28,16	± 5,69	32,39	± 2,76	29,70	± 4,28
	04	27,99	± 3,43	33,30	± 3,11	33,49	± 4,35
	05	28,13	± 4,21	35,84	± 2,75	33,59	± 4,23
	06	25,51	± 3,85	32,97	± 4,01	29,80	± 3,29
	07	29,06	± 4,39	34,21	± 3,38	30,52	± 3,67
	08	32,26	± 4,95	34,87	± 3,29	33,97	± 2,32
	R1	25,74	± 4,21	30,51	± 1,54	34,67	± 1,35
	R2	33,26	± 5,15	31,48	± 3,34	33,10	± 2,26

Tabelle 15: Verhaltensparameter (Angst): Boardzeit (Time on Board) der Gruppe dHB

dHB (n = 18)	Tag	dEHP (n = 6)		dKHP (n = 6)		dLHP (n = 6)	
Boardzeit [%] (Time on Board)	H1	23,28	± 3,04	19,01	± 2,96	21,35	± 1,72
	01	19,19	± 5,00	15,71	± 4,36	15,54	± 3,29
	02	21,88	± 6,26	19,38	± 6,36	14,31	± 3,49
	03	21,37	± 4,85	19,62	± 4,16	20,15	± 3,42
	04	22,69	± 4,09	29,62	± 7,97	23,75	± 3,40
	05	29,74	± 6,42	30,43	± 6,24	24,19	± 4,85
	06	22,02	± 6,39	23,93	± 4,35	21,75	± 4,72
	07	23,56	± 4,52	31,93	± 5,39	19,02	± 5,47
	08	31,77	± 6,49	27,74	± 1,82	25,72	± 5,11
	09	27,18	± 4,53	29,45	± 6,11	24,10	± 4,00
	10	29,74	± 5,29	28,05	± 5,40	22,26	± 4,74
	11	27,47	± 3,21	24,84	± 5,30	24,49	± 3,67
	12	25,27	± 4,22	24,23	± 4,68	21,86	± 2,52
	13	20,68	± 2,81	25,34	± 6,17	20,17	± 1,30
	R1	24,47	± 3,22	29,50	± 6,61	24,36	± 3,67
R2	26,13	± 3,37	30,02	± 6,16	21,07	± 2,70	

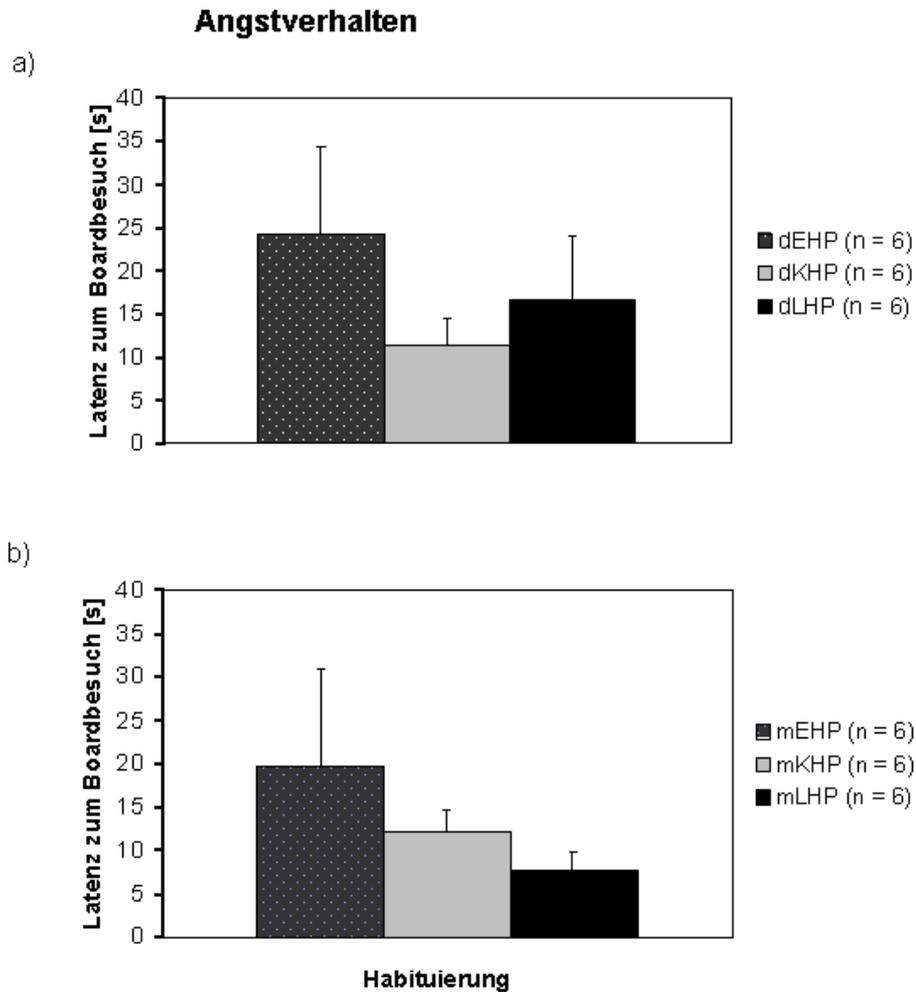


Abbildung 26: Latenz zum Boardbesuch (Latency first Board Entry [s]) in der Habituation der beiden Hauptgruppen doppeltes Hole-Board (a) und modifiziertes Hole-Board (b): jeweils mit vergleichender grafischer Darstellung ($MW \pm SEM$) der drei Untergruppen EHP, KHP und LHP

MW = Mittelwert, SEM = Standardfehler, d bzw. mE (bzw. L, K) HP = doppeltes bzw. modifiziertes Etabliertes (bzw. Langes, Kurzes) Habituerungs-Protokoll

Zwischen den Untergruppen eines Boards und auch zwischen den beiden Hauptgruppen zeigen sich keine signifikanten Unterschiede. Es scheint, dass die Dauer bis zum ersten Boardbesuch in der Habituationsphase bei der Gruppe dHB durchschnittlich etwas länger ist als bei der Gruppe mHB (siehe Abb. 26).

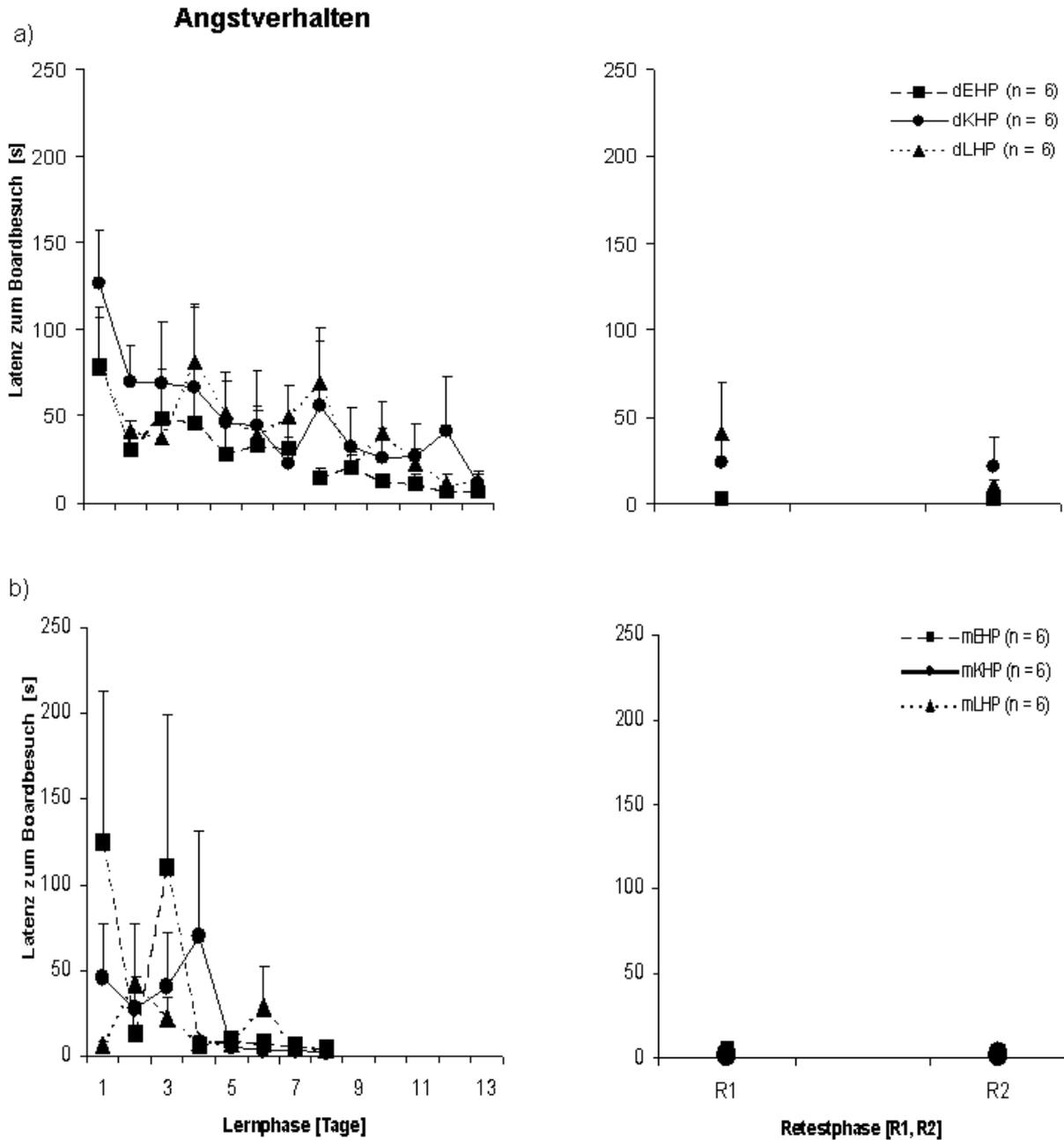


Abbildung 27: Latenz zum Boardbesuch (Latency first Board Entry [s]) der beiden Hauptgruppen doppeltes Hole-Board (a) und modifiziertes Hole-Board (b): jeweils mit vergleichender grafischer Darstellung (MW±SEM) der drei Untergruppen EHP, KHP und LHP zu definierten Tagen der jeweiligen Lernphase und der Retests (R1, R2).

MW = Mittelwert, SEM = Standardfehler, d bzw. mE (bzw. L, K) HP = doppeltes bzw. modifiziertes Etabliertes (bzw. Langes, Kurzes) Habituerungs-Protokoll

Die Zeit, die vergeht, bis die Tiere in einem Durchlauf das erste Mal das Board betreten (Latency first Board Entry), verringert sich im Verlauf der Lernphase bei allen Gruppen (Zeit: $p = 0,008$). Eine Tendenz besteht darin, dass die Hauptgruppe mHB das Board bis zum Ende der Lernphase und auch bei den Wiederholungstests schneller betritt als die Hauptgruppe dHB. Die größte Abnahme der Latenz findet von Tag 1 auf Tag 2 statt, danach sinkt der Zeitbedarf der Gruppe dHB fast kontinuierlich bis zum Ende der Lernphase an Tag 13, während die mHB-Tiere bei der am Tag 5 erreichten, scheinbar niedrigeren Latenz bleiben. Unter den Untergruppen eines Boards treten keine Unterschiede auf. Die Latenzen in den Wiederholungstests entsprechen in etwa denen des letzten Lerntags. Es besteht eine Abhängigkeit von dem Wert, der am Ende der Lernphase erreicht ist (letzter Lerntag: $p = 0,002$) (siehe Abb. 27).

Tabelle 16: Verhaltensparameter (Angst): Latenz zum Boardbesuch (Latency first Board Entry) der Gruppe mHB

mHB (n = 18)	Tag	mEHP (n = 6)		mKHP (n = 6)		mLHP (n = 6)	
Latenz zum Boardbesuch [s] (Latency first Board Entry)	H1	19,74	± 11,14	12,13	± 2,52	7,67	± 2,20
	01	125,48	± 87,33	45,72	± 31,26	6,40	± 1,95
	02	12,60	± 3,70	27,41	± 19,32	42,87	± 34,82
	03	109,98	± 89,56	40,14	± 31,67	22,58	± 11,81
	04	6,53	± 1,33	70,38	± 61,06	7,95	± 3,75
	05	9,99	± 3,01	4,91	± 1,29	7,41	± 3,87
	06	7,82	± 2,52	3,54	± 0,56	28,23	± 23,19
	07	6,35	± 1,97	3,62	± 0,59	4,80	± 1,65
	08	4,06	± 0,66	2,27	± 0,43	4,12	± 1,91
	R1	5,62	± 1,99	2,65	± 0,42	2,88	± 0,47
	R2	3,43	± 0,68	2,30	± 0,43	3,46	± 1,19

Tabelle 17: Verhaltensparameter (Angst): Latenz zum Boardbesuch (Latency first Board Entry) der Gruppe dHB

dHB (n = 18)	Tag	dEHP (n = 6)		dKHP (n = 6)		dLHP (n = 6)	
Latenz zum Boardbesuch [s] (Latency first Board Entry)	H1	24,25	± 10,00	11,37	± 3,06	16,64	± 7,44
	01	79,83	± 32,85	126,99	± 30,23	77,59	± 29,27
	02	31,22	± 11,32	69,46	± 21,13	41,32	± 6,07
	03	48,79	± 27,98	68,71	± 36,33	37,40	± 14,75
	04	46,01	± 21,86	66,70	± 46,27	81,05	± 33,16
	05	28,54	± 17,82	46,66	± 29,13	51,62	± 19,41
	06	33,27	± 19,95	44,52	± 31,60	39,07	± 17,01
	07	31,27	± 17,30	22,47	± 15,75	49,88	± 17,55
	08	14,34	± 5,65	56,04	± 44,55	69,34	± 23,73
	09	21,22	± 8,04	32,07	± 23,05	20,94	± 6,50
	10	13,23	± 3,92	25,71	± 17,04	40,86	± 17,26
	11	11,40	± 6,05	26,62	± 18,70	22,90	± 8,31
	12	6,45	± 1,98	41,34	± 31,35	11,61	± 4,96
	13	6,35	± 1,99	11,73	± 6,70	12,55	± 4,02
	R1	3,22	± 0,62	23,82	± 16,24	40,60	± 28,87
R2	3,30	± 0,55	21,87	± 16,34	10,39	± 3,05	

In der Habituerungsphase ist keine der sechs Gruppen immobil, die Abbildungen werden deshalb nicht gezeigt (siehe Tab. 18 und 19).

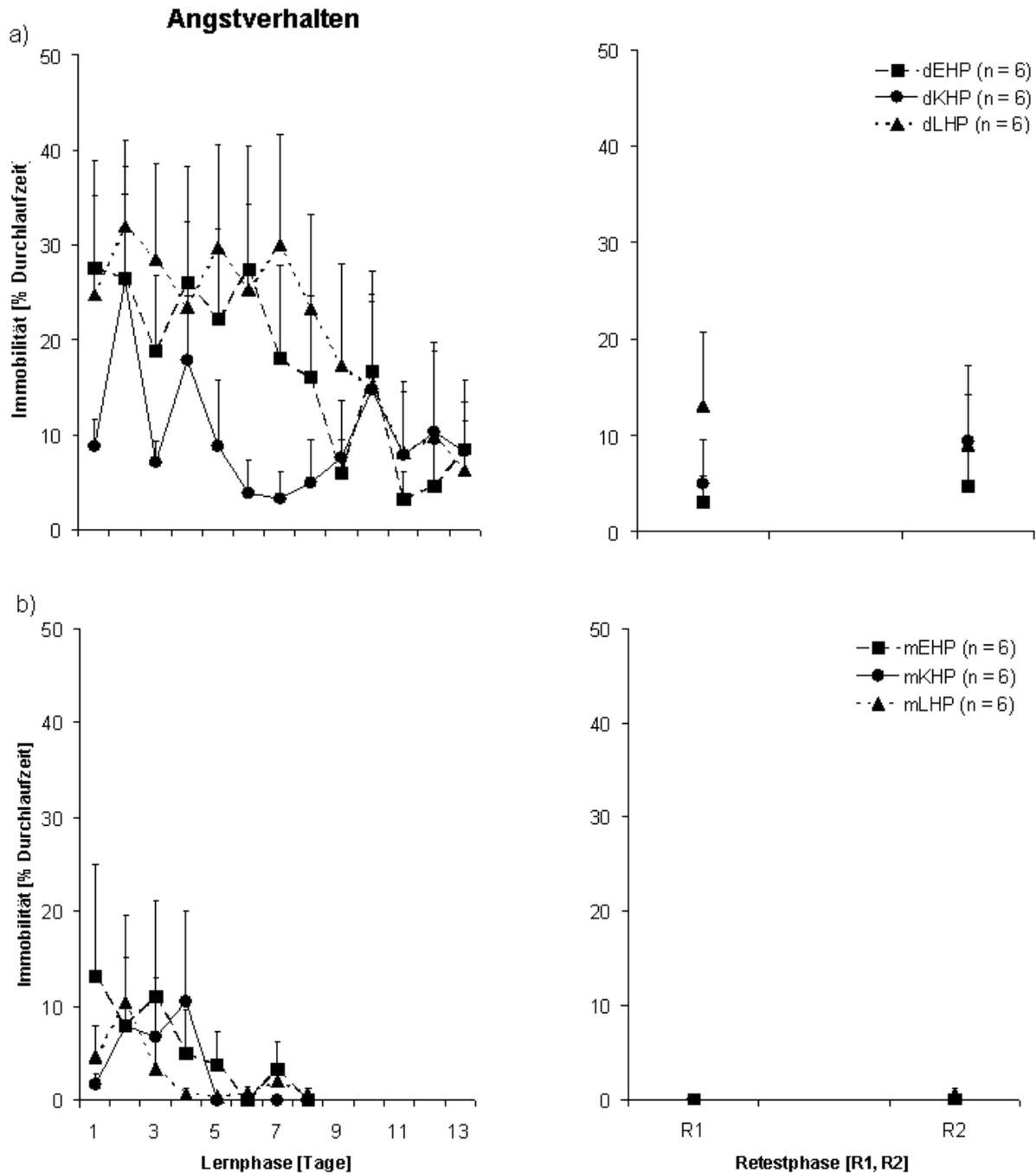


Abbildung 28: Immobilität (Immobility [%]) der beiden Hauptgruppen doppeltes Hole-Board (a) und modifiziertes Hole-Board (b): jeweils mit vergleichender grafischer Darstellung ($MW \pm SEM$) der drei Untergruppen EHP, KHP und LHP zu definierten Tagen der jeweiligen Lernphase und der Retests (R1, R2).

MW = Mittelwert, SEM = Standardfehler, d bzw. mE (bzw. L, K) HP = doppeltes bzw. modifiziertes Etabliertes (bzw. Langes, Kurzes) Habituerungs-Protokoll

Im zeitlichen Verlauf nimmt die Immobilität bei allen Gruppen ab (Zeit: $p < 0,022$). Die Hauptgruppe dHB ist über einen größeren Durchlaufanteil hin immobil als die Gruppe mHB (Hauptgruppe: $p = 0,007$). Sie reduziert ihre Immobilität erst nach einigen Tagen (Tag 6 bis 11) auf Werte, welche die Hauptgruppe mHB seit Beginn der Lernphase aufweist, zuvor schwankt sie um den Wert vom ersten Lerntag. Am letzten Lerntag ist keine der drei Untergruppen mHB immobil. Zwischen den drei Untergruppen jeder Hauptgruppe zeigen sich jeweils keine signifikanten Unterschiede. An den Wiederholungstagen liegt bei allen Gruppen nahezu der gleiche Grad an Immobilität vor wie am Ende der Lernphase. Die Ergebnisse der Wiederholungstests sind abhängig von den Werten des letzten Lerntages (letzter Lerntag: $p < 0,001$) (siehe Abb. 28).

Tabelle 18: Verhaltensparameter (Angst): Immobilität (Immobility) der Gruppe mHB

mHB (n = 18)	Tag	mEHP (n = 6)		mKHP (n = 6)		mLHP (n = 6)	
Immobilität [%] (Immobility)	H1	0,00	± 0,00	0,00	± 0,00	0,00	± 0,00
	01	13,11	± 11,97	1,64	± 1,22	4,60	± 3,25
	02	7,88	± 7,19	7,89	± 7,20	10,39	± 9,12
	03	11,03	± 10,07	6,73	± 6,14	3,39	± 2,77
	04	5,00	± 4,57	10,48	± 9,57	0,65	± 0,49
	05	3,75	± 3,42	0,00	± 0,00	0,37	± 0,34
	06	0,00	± 0,00	0,00	± 0,00	0,80	± 0,73
	07	3,21	± 2,93	0,00	± 0,00	2,02	± 1,85
	08	0,00	± 0,00	0,00	± 0,00	0,64	± 0,58
	R1	0,00	± 0,00	0,00	± 0,00	0,00	± 0,00
	R2	0,00	± 0,00	0,00	± 0,00	0,00	± 0,00

Tabelle 19: Verhaltensparameter (Angst): Immobilität (Immobility) der Gruppe dHB

dHB (n = 18)	Tag	dEHP (n = 6)		dKHP (n = 6)		dLHP (n = 6)	
Immobilität [%] (Immobility)	H1	0,00	± 0,00	0,00	± 0,00	0,00	± 0,00
	01	27,59	± 11,22	8,82	± 2,86	24,77	± 10,84
	02	26,56	± 11,65	26,27	± 9,01	31,98	± 8,92
	03	18,90	± 7,90	7,09	± 2,26	28,47	± 10,00
	04	26,07	± 12,20	17,82	± 6,78	23,50	± 8,91
	05	22,24	± 9,46	8,75	± 7,08	29,68	± 10,92
	06	27,49	± 12,86	3,87	± 3,53	25,32	± 8,95
	07	18,03	± 9,79	3,23	± 2,95	29,97	± 11,64
	08	16,08	± 8,48	4,92	± 4,50	23,24	± 9,95
	09	6,01	± 3,47	7,58	± 5,94	17,29	± 10,73
	10	16,60	± 10,63	14,78	± 9,22	15,06	± 9,67
	11	3,16	± 2,88	7,87	± 6,74	8,16	± 7,45
	12	4,69	± 4,28	10,32	± 9,42	9,83	± 8,97
	13	8,55	± 4,95	8,20	± 7,48	6,31	± 5,06
	R1	3,04	± 2,77	4,98	± 4,54	13,12	± 7,65
R2	4,71	± 4,30	9,44	± 7,80	9,02	± 5,25	

Soziale Affinität

Die Darstellung für die Ergebnisse des Parameters in der Habituation (Balkendiagramm) und der Lernphase (Kurvendiagramm) erfolgt getrennt: einer Abbildung des Gruppenmittelwertes im ersten Durchlauf des ersten Habituationstags im Testsystem folgt die Darstellung der Lernphase (erster bis letzter Lerntag sowie Retests R1 und R2). Die auftretenden Mittelwerte (MW) und Standardfehler (SEM) sind in den Tabellen 20 und 21 zu sehen. Eine bildliche Dokumentation der errechneten Mittelwerte und Standardfehler ($MW \pm SEM$) folgt in den Abbildungen.

Anhand der Zeitintensität, mit welcher ein Kontakt zur Gruppe gesucht wird (Group Contact), wird die soziale Affinität im mHBT beurteilt.

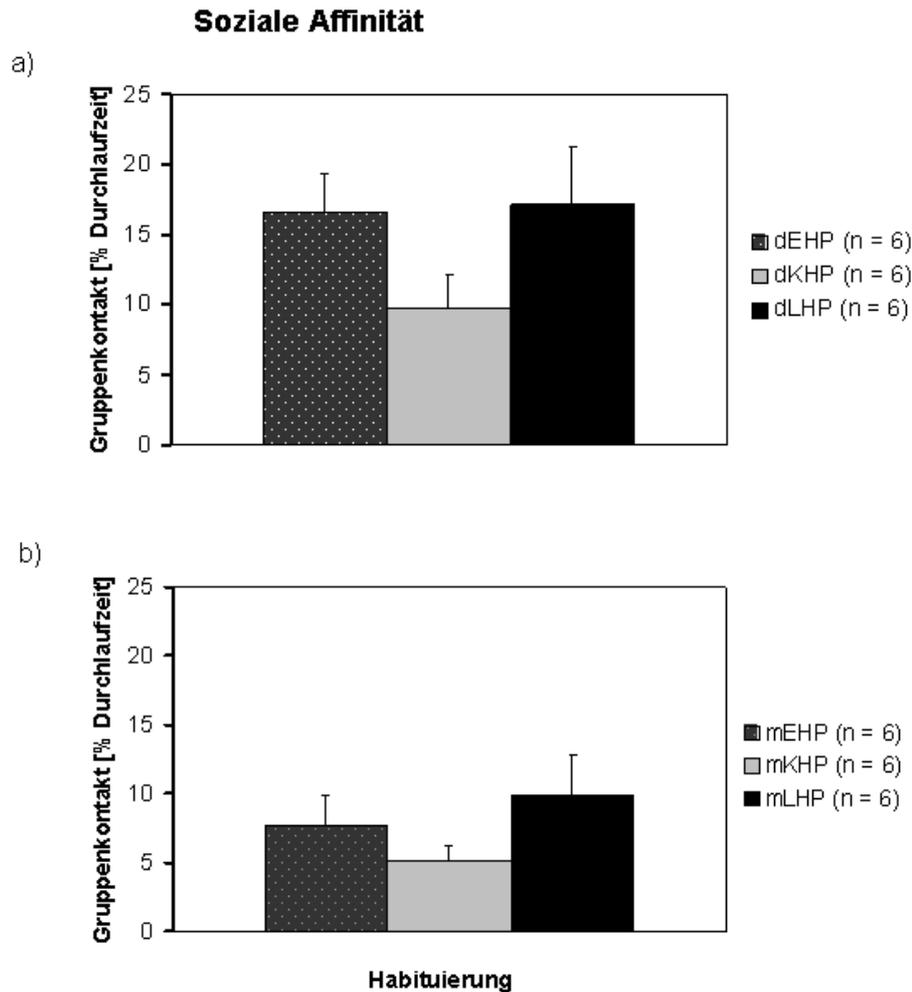


Abbildung 29: Gruppenkontakt (Group Contact [%]) in der Habituierung der beiden Hauptgruppen doppeltes Hole-Board (a) und modifiziertes Hole-Board (b): jeweils mit vergleichender grafischer Darstellung (MW±SEM) der drei Untergruppen EHP, KHP und LHP.

MW = Mittelwert, SEM = Standardfehler, d bzw. mE (bzw. L, K) HP = doppeltes bzw. modifiziertes Etabliertes (bzw. Langes, Kurzes) Habituierungs-Protokoll

Bei der Gruppe dHB ist der prozentuale Anteil der Kontaktaufnahme in der Habituierungsphase nahezu doppelt so groß wie bei der Gruppe mHB (Hauptgruppe: $p = 0,008$). Innerhalb der Hauptgruppen kommt es nicht zu signifikanten Unterschieden zwischen den Untergruppen (siehe Abb. 29).

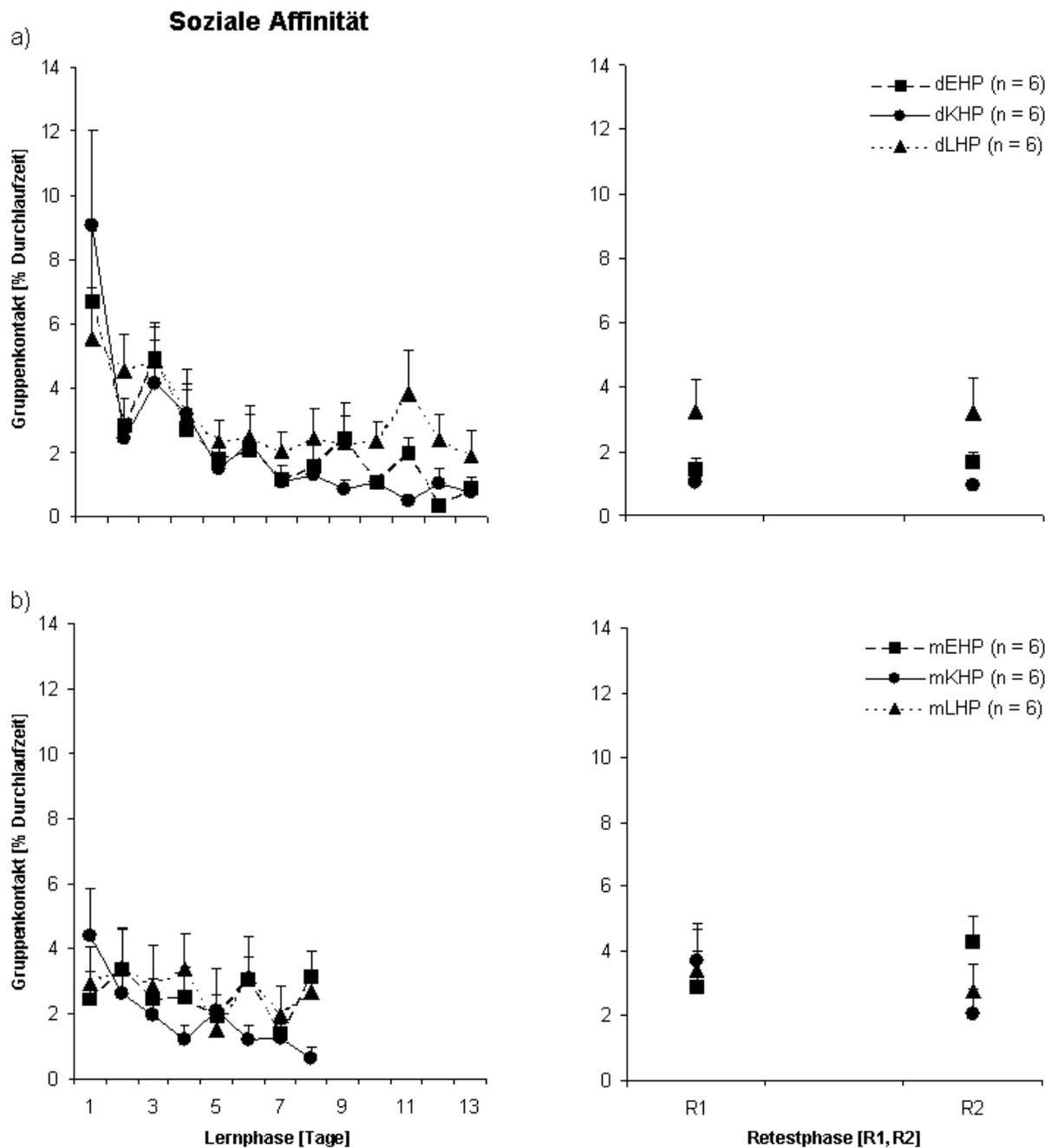


Abbildung 30: Gruppenkontakt (Group Contact [%]) der beiden Hauptgruppen doppeltes Hole-Board (a) und modifiziertes Hole-Board (b): jeweils mit vergleichender grafischer Darstellung ($MW \pm SEM$) der drei Untergruppen EHP, KHP und LHP zu definierten Tagen der jeweiligen Lernphase und der Retests (R1, R2).

MW = Mittelwert, SEM = Standardfehler, d bzw. mE (bzw. L, K) HP = doppeltes bzw. modifiziertes Etabliertes (bzw. Langes, Kurzes) Habituerungs-Protokoll

Der prozentuale Anteil der Kontaktaufnahme mit der Gruppe an der Durchlaufzeit sinkt bei allen Gruppen in der Lernphase (Zeit: $p < 0,001$), wobei sich die beiden Hauptgruppen im zeitlichen Verlauf signifikant unterscheiden (Zeit x Hauptgruppe: $p = 0,009$). Tendenziell weist die Hauptgruppe dHB bis einschließlich zum Tag 6 der Lernphase höhere Werte als die Hauptgruppe mHB auf, nachdem sie die Kontaktsuche vor allem von Tag 1 auf Tag 2 einschränkt. Über den Verlauf der Lernphase treten zwischen den Hauptgruppen insgesamt keine signifikanten Unterschiede auf. Bei den Untergruppen eines Boards zeigen sich keine signifikanten Unterschiede in der Intensität der Kontaktsuche zur Gruppe. Die Suche nach Gruppenkontakt entspricht in ihrer Intensität in den Wiederholungstests (R1 und R2) ungefähr derjenigen vom letzten Lerntag. Zwischen den Werten des letzten Lerntags und der Wiederholungstests besteht eine Abhängigkeit (letzter Lerntag: $p = 0,004$) (siehe Abb. 30).

Tabelle 20: Verhaltensparameter (Soziale Affinität): Gruppenkontakt (Group Contact) der Gruppe mHB

mHB (n = 18)	Tag	mEHP (n = 6)		mKHP (n = 6)		mLHP (n = 6)	
Gruppenkontakt [%] (Group Contact)	H1	7,53	± 2,55	5,01	± 1,21	9,82	± 3,06
	01	2,45	± 0,84	4,39	± 1,46	2,93	± 1,10
	02	3,40	± 1,22	2,62	± 0,75	3,42	± 1,15
	03	2,45	± 0,62	1,97	± 0,62	2,84	± 1,27
	04	2,54	± 0,90	1,22	± 0,43	3,39	± 1,05
	05	1,90	± 0,66	2,11	± 1,27	1,52	± 0,71
	06	3,08	± 0,67	1,19	± 0,44	3,15	± 1,21
	07	1,39	± 0,30	1,25	± 0,56	1,93	± 0,93
	08	3,17	± 0,75	0,63	± 0,34	2,68	± 0,67
	R1	2,89	± 1,15	3,70	± 1,15	3,40	± 1,29
	R2	4,26	± 0,81	2,06	± 0,73	2,77	± 0,85

Tabelle 21: Verhaltensparameter (Soziale Affinität): Gruppenkontakt (Group Contact) der Gruppe dHB

dHB (n = 18)	Tag	dEHP (n = 6)		dKHP (n = 6)		dLHP (n = 6)	
Gruppenkontakt [%] (Group Contact)	H1	16,63	± 2,66	9,75	± 2,42	17,12	± 4,05
	01	6,69	± 2,22	9,07	± 2,96	5,58	± 1,55
	02	2,86	± 0,86	2,43	± 0,44	4,54	± 1,16
	03	4,93	± 0,97	4,15	± 1,35	4,89	± 1,17
	04	2,72	± 1,41	3,22	± 1,38	3,15	± 0,83
	05	1,82	± 0,34	1,47	± 0,39	2,37	± 0,67
	06	2,08	± 1,11	2,30	± 1,20	2,49	± 0,71
	07	1,20	± 0,38	1,07	± 0,31	2,01	± 0,64
	08	1,59	± 0,74	1,33	± 0,43	2,42	± 0,97
	09	2,42	± 1,14	0,86	± 0,25	2,32	± 0,84
	10	1,07	± 0,20	1,07	± 0,20	2,37	± 0,62
	11	2,00	± 0,47	0,50	± 0,14	3,83	± 1,38
	12	0,36	± 0,10	1,06	± 0,41	2,39	± 0,84
	13	0,91	± 0,31	0,75	± 0,13	1,92	± 0,81
	R1	1,43	± 0,35	1,02	± 0,19	3,23	± 1,02
R2	1,65	± 0,35	0,93	± 0,20	3,21	± 1,06	

Exploration

Die folgenden Abbildungen sind Darstellungen der Indikatoren für das Explorationsverhalten aus Mittelwerten (MW) und Standardfehlern (\pm SEM). Die errechneten Mittelwerte (MW) und Standardfehler (\pm SEM) sind in den Tabellen 22 bis 27 aufgeführt. Die Ergebnisse der Habituation (Balkendiagramm), aus den Mittelwerten der Gruppe vom ersten Boardkontakt, und die Ergebnisse der Lernphase (Kurvendiagramm), errechnet aus den 3 Durchläufen jedes der Tiere, werden in verschiedenen Abbildungen gezeigt.

Das Explorationsverhalten im mHBT wird bemessen an der Latenz bis zum ersten Lochbesuch (Latency first Hole Visit), an der Summe der Löcher, die in einem Durchlauf besucht werden (Number of Hole Visit) und an der Anzahl der Male, welche sich die Tiere auf die Hinterbeine aufrichten (Rearings).

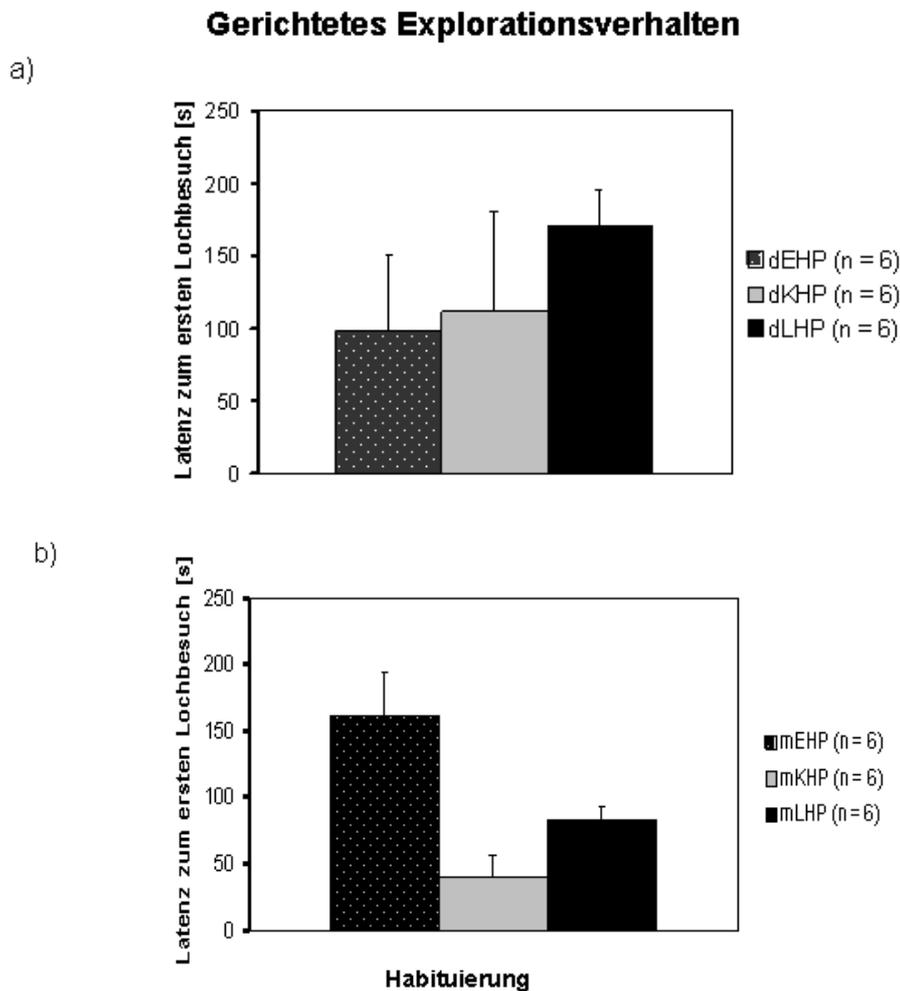


Abbildung 31: Latenz zum ersten Lochbesuch (Latency first Hole Visit [s]) in der Habituation der beiden Hauptgruppen doppeltes Hole-Board (a) und modifiziertes Hole-Board (b): jeweils mit vergleichender grafischer Darstellung (MW±SEM) der drei Untergruppen EHP, KHP und LHP.

MW = Mittelwert, SEM = Standardfehler, d bzw. mE (bzw. L, K) HP = doppeltes bzw. modifiziertes Etabliertes (bzw. Langes, Kurzes) Habituerungs-Protokoll

Die Latenz bis zum ersten Lochbesuch unterscheidet sich in der Habituerungsphase nicht signifikant. Insgesamt brauchen die dHB-Tiere scheinbar mehr Zeit als die der mHB-Abteilung. Die Unterschiede zwischen den Untergruppen des Boards mHB und dHB sind jeweils nicht signifikant (siehe Abb. 31).

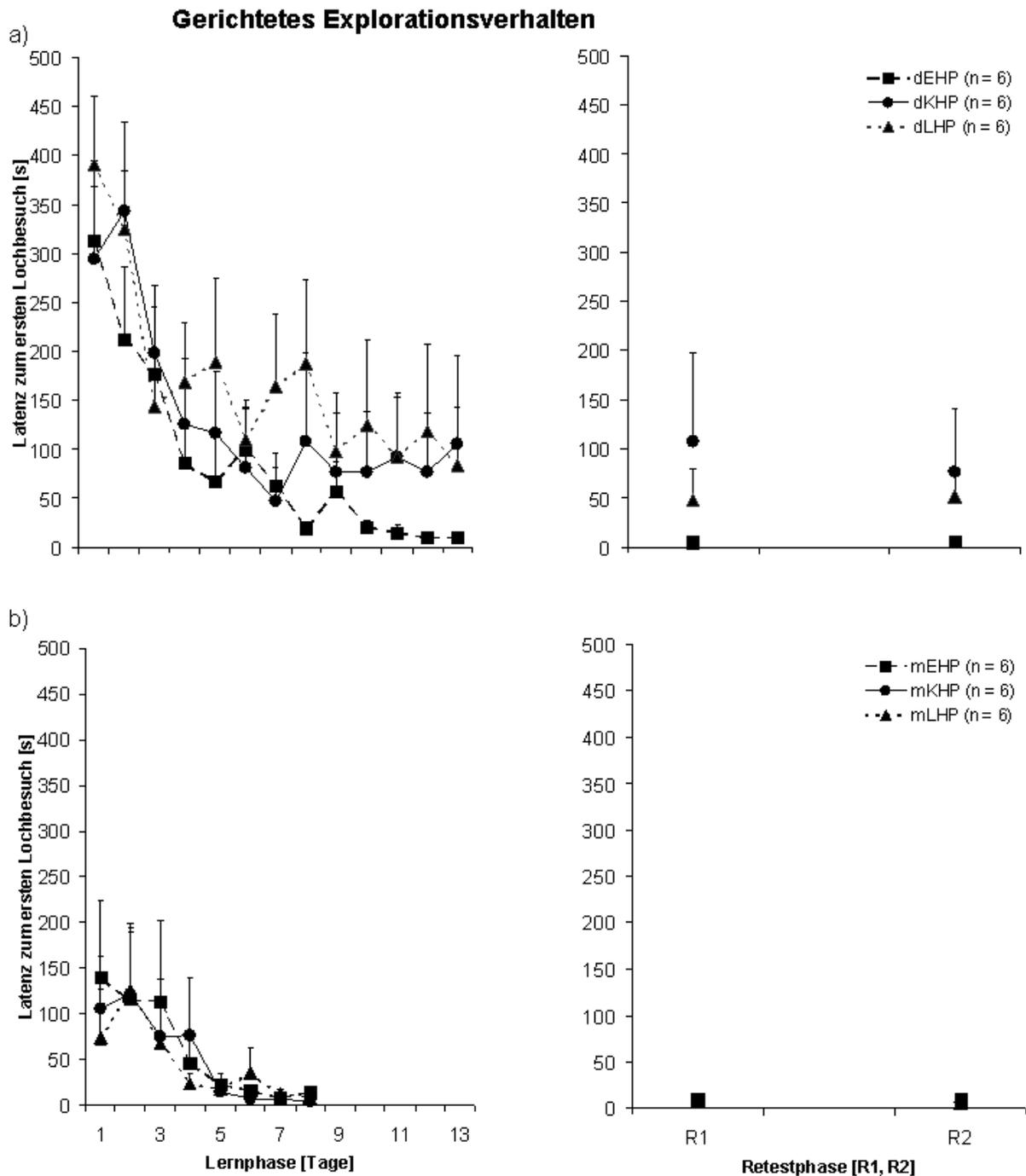


Abbildung 32: Latenz zum ersten Lochbesuch (Latency first Hole Visit [s]) der beiden Hauptgruppen doppeltes Hole-Board (a) und modifiziertes Hole-Board (b): jeweils mit vergleichender grafischer Darstellung (MW \pm SEM) der drei Untergruppen EHP, KHP und LHP zu definierten Tagen der jeweiligen Lernphase und der Retests (R1, R2).

MW = Mittelwert, SEM = Standardfehler, d bzw. mE (bzw. L, K) HP = doppeltes bzw. modifiziertes Etabliertes (bzw. Langes, Kurzes) Habituerungs-Protokoll

Im Verlauf der Lernphase sinkt die Zeit, welche im Durchlauf vergeht, bis das erste Loch besucht wird (Latency first Hole Visit) bei beiden Hauptgruppen signifikant (Zeit: $p < 0,001$). Die Hauptgruppe dHB weist aber den gesamten Zeitraum der Lernphase eine höhere Latenz auf als die Hauptgruppe mHB (Hauptgruppe: $p = 0,005$). Vor allem in den ersten sechs Tagen der Lernphase nehmen die Mittelwerte aller Gruppen ab. Zwischen den drei Untergruppen treten keine signifikanten Unterschiede auf. Die Retest-Werte fallen entsprechend denen des letzten Lerntags aus, von denen auch eine Abhängigkeit besteht (letzter Lerntag: $p = 0,005$) (siehe Abb. 32).

Tabelle 22: Verhaltensparameter (Exploration): Latenz zum ersten Lochbesuch (Latency first Hole Visit) der Gruppe mHB

mHB (n = 18)	Tag	mEHP (n = 6)	mKHP (n = 6)	mLHP (n = 6)
Latenz zum ersten Lochbe- such [s] (Latency first Hole Visit)	H1	182,53 ± 30,93	39,33 ± 16,83	81,74 ± 12,21
	01	139,69 ± 84,98	105,81 ± 57,27	73,49 ± 53,01
	02	115,27 ± 79,96	121,80 ± 67,34	125,50 ± 73,87
	03	114,15 ± 88,82	75,82 ± 61,07	67,46 ± 42,79
	04	46,28 ± 32,21	76,36 ± 63,92	23,15 ± 12,12
	05	23,02 ± 10,91	14,23 ± 7,12	17,17 ± 9,30
	06	15,78 ± 6,79	7,31 ± 1,34	35,24 ± 27,64
	07	8,30 ± 2,16	6,53 ± 1,15	11,47 ± 5,70
	08	13,44 ± 4,43	4,40 ± 0,62	8,77 ± 4,00
	R1	9,88 ± 3,09	7,47 ± 1,77	7,68 ± 3,14
	R2	8,91 ± 2,19	5,78 ± 1,17	6,35 ± 1,83

Tabelle 23: Verhaltensparameter (Exploration): Latenz zum ersten Lochbesuch (Latency first Hole Visit) der Gruppe dHB

dHB (n = 18)	Tag	dEHP (n = 6)	dKHP (n = 6)	dLHP (n = 6)
Latenz zum ersten Lochbe- such [s] (Latency first Hole Visit)	H1	98,40 ± 24,56	111,70 ± 52,02	171,01 ± 24,56
	01	312,77 ± 82,30	294,03 ± 73,62	389,95 ± 82,30
	02	211,72 ± 74,11	343,49 ± 91,03	324,74 ± 74,11
	03	177,55 ± 68,19	198,18 ± 69,72	143,60 ± 68,19
	04	85,83 ± 39,81	125,54 ± 66,18	169,15 ± 39,81
	05	67,78 ± 44,15	116,16 ± 62,72	188,70 ± 44,15
	06	99,39 ± 41,53	81,06 ± 61,48	109,82 ± 41,53
	07	62,86 ± 32,78	46,64 ± 34,11	164,65 ± 32,78
	08	19,40 ± 6,86	108,32 ± 89,78	186,81 ± 6,86
	09	56,65 ± 30,42	76,44 ± 60,77	97,99 ± 30,42
	10	20,10 ± 6,41	76,35 ± 61,86	124,90 ± 6,41
	11	14,85 ± 6,93	92,05 ± 61,18	92,06 ± 6,93
	12	8,87 ± 2,61	76,20 ± 61,52	118,43 ± 2,61
	13	105,14 ± 3,12	105,14 ± 90,36	84,29 ± 58,81
	R1	107,77 ± 0,74	107,77 ± 89,88	48,04 ± 31,53
R2	76,09 ± 1,03	76,09 ± 64,67	51,34 ± 29,86	

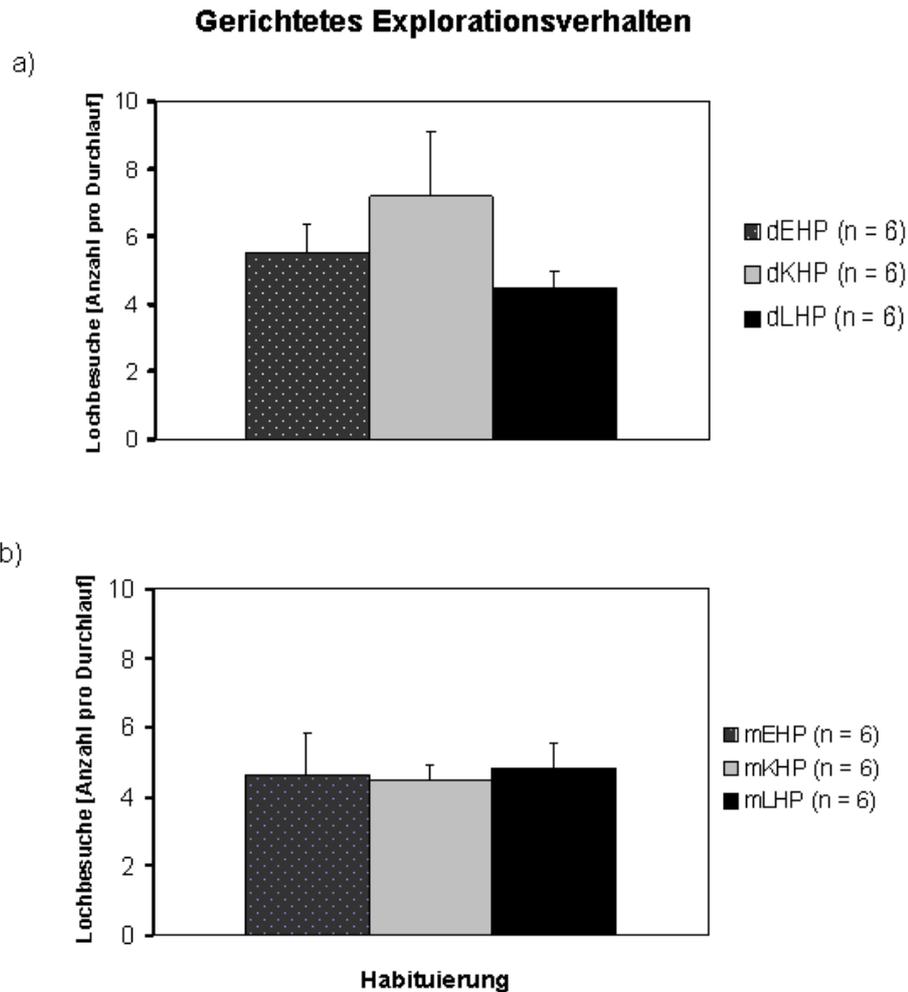


Abbildung 33: Anzahl der Lochbesuche pro Durchlauf (Number of Hole Visits) in der Habituation der beiden Hauptgruppen doppeltes Hole-Board (a) und modifiziertes Hole-Board (b): jeweils mit vergleichender grafischer Darstellung ($MW \pm SEM$) der drei Untergruppen EHP, KHP und LHP.

MW = Mittelwert, SEM = Standardfehler, d bzw. mE (bzw. L, K) HP = doppeltes bzw. modifiziertes Etabliertes (bzw. Langes, Kurzes) Habituerungs-Protokoll

In der Habituerungsphase kommt es zwischen den einzelnen Gruppe zu keinen signifikanten Unterschieden. Alle Tiere besuchen in etwa eine gleiche Anzahl von Löchern (siehe Abb. 33).

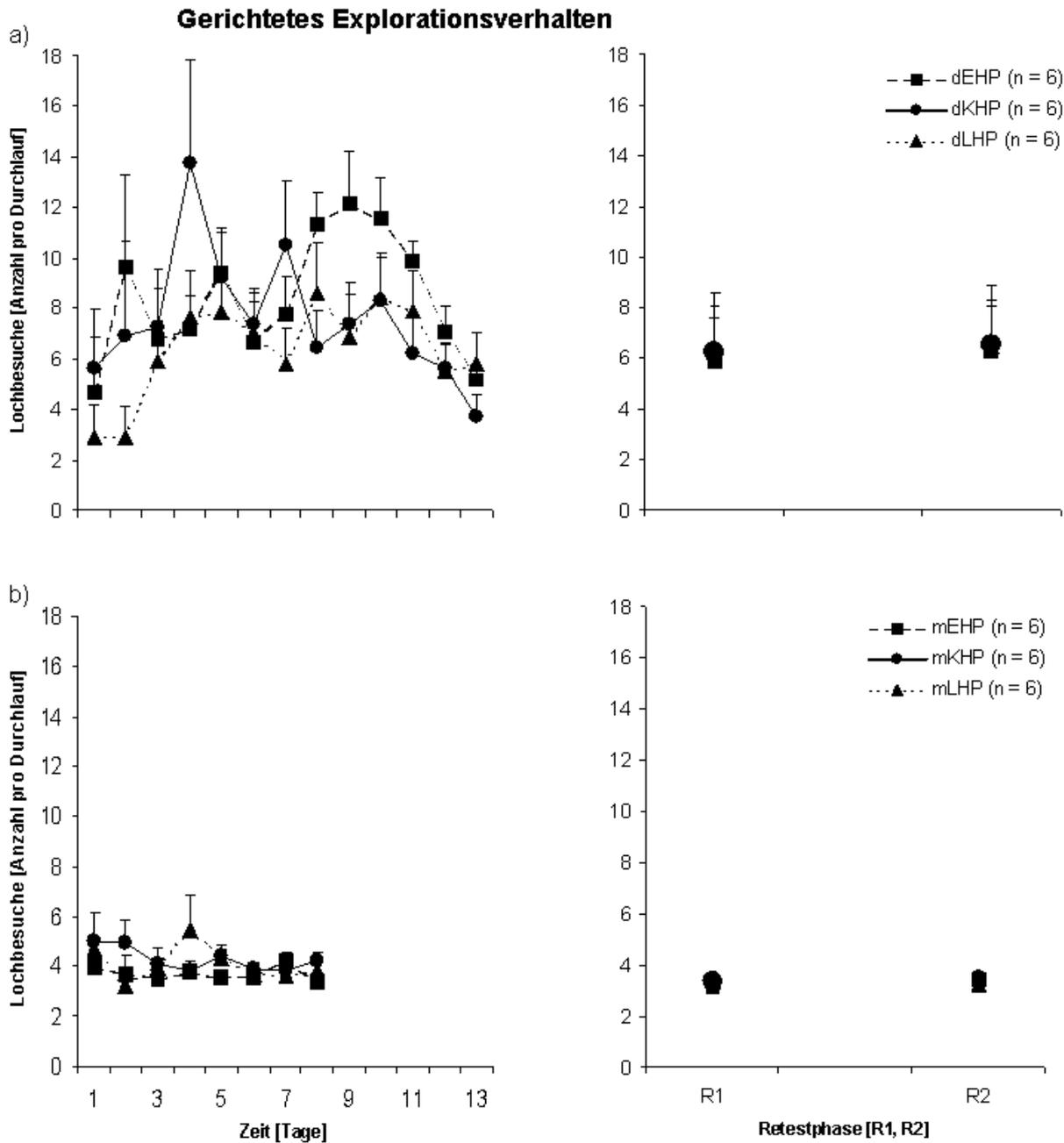


Abbildung 34: Anzahl der Lochbesuche pro Durchlauf (Number of Hole Visits) der beiden Hauptgruppen doppeltes Hole-Board (a) und modifiziertes Hole-Board (b): jeweils mit vergleichender grafischer Darstellung ($MW \pm SEM$) der drei Untergruppen EHP, KHP und LHP zu definierten Tagen der jeweiligen Lernphase und der Retests (R1, R2).

MW = Mittelwert, SEM = Standardfehler, d bzw. mE (bzw. L, K) HP = doppeltes bzw. modifiziertes Etabliertes (bzw. Langes, Kurzes) Habituerungs-Protokoll

Die Menge an Löchern, die besucht wird, ändert sich insofern, als sie bei der Hauptgruppe dHB bis Tag 5 ansteigt und dann wellenförmig bis Tag 13 auf etwa den Wert des Lerntags 1 zurück sinkt (Zeit x Hauptgruppe: $p = 0,037$), während die Hauptgruppe mHB über den gesamten Zeitraum der Untersuchung um den Anfangswert schwankt. Deshalb kommt es zwischen den Hauptgruppen zu einem Unterschied: die Hauptgruppe dHB nimmt nach dem ersten Lerntag, an dem die beiden Hauptgruppen etwa gleich viele Löcher besuchen, zeitweilig mehr Lochbesuche vor als die Hauptgruppe mHB (Hauptgruppe: $p = 0,002$). Zwischen den Untergruppen EHP, KHP und LHP zeigen sich keine signifikanten Unterschiede. In der Wiederholungsphase (R1, R2) gleicht die Summe der Lochbesuche aller Gruppen in etwa der des letzten Lerntages, von der sie auch abhängig ist (letzter Lerntag: $p < 0,001$) (siehe Abb. 34).

Tabelle 24: Verhaltensparameter (Exploration): Lochbesuche (Number of Hole Visits) der Gruppe mHB

mHB (n = 18)	Tag	mEHP (n = 6)		mKHP (n = 6)		mLHP (n = 6)	
Lochbesuche [Anzahl pro Durchlauf] (Number of Hole Visits)	H1	2,83	± 0,55	4,50	± 0,39	4,83	± 0,72
	01	3,94	± 0,76	5,00	± 1,19	4,67	± 0,44
	02	3,72	0,73	4,94	0,88	3,22	0,52
	03	3,50	± 0,68	4,11	± 0,64	3,94	± 0,40
	04	3,78	± 0,46	3,83	± 0,23	5,44	± 1,38
	05	3,56	± 0,17	4,44	± 0,41	4,33	± 0,34
	06	3,56	± 0,17	3,89	± 0,29	3,72	± 0,25
	07	4,22	± 0,36	3,83	± 0,32	3,61	± 0,28
	08	3,39	± 0,09	4,22	± 0,30	3,83	± 0,30
	R1	3,11	± 0,06	3,39	± 0,09	3,33	± 0,27
	R2	3,44	± 0,13	3,56	± 0,20	3,22	± 0,10

Tabelle 25: Verhaltensparameter (Exploration): Lochbesuche (Number of Hole Visits) der Gruppe dHB

dHB (n = 18)	Tag	dEHP (n = 6)		dKHP (n = 6)		dLHP (n = 6)	
Lochbesuche [Anzahl pro Durchlauf] (Number of Hole Visits)	H1	5,50	± 0,87	7,17	± 1,95	4,50	± 0,46
	01	4,67	± 2,18	5,61	± 2,37	2,89	± 1,29
	02	9,61	± 3,69	6,89	± 3,80	2,89	± 1,25
	03	6,78	± 1,97	7,28	± 2,29	5,94	± 1,53
	04	7,22	± 1,28	13,78	± 4,08	7,67	± 1,85
	05	9,39	± 1,84	9,22	± 1,84	7,83	± 1,51
	06	6,67	± 1,93	7,39	± 1,35	7,00	± 1,27
	07	7,78	± 1,44	10,50	± 2,54	5,78	± 1,39
	08	11,33	± 1,25	6,44	± 1,46	8,61	± 1,99
	09	12,11	± 2,12	7,39	± 1,64	6,83	± 1,70
	10	11,56	± 1,62	8,28	± 1,77	8,44	± 1,78
	11	9,89	± 0,77	6,22	± 1,36	7,89	± 1,65
	12	7,06	± 1,01	5,61	± 1,02	5,50	± 1,04
	13	5,17	± 0,46	3,72	± 0,86	5,83	± 1,21
	R1	5,89	± 0,41	6,22	± 1,30	6,28	± 1,30
R2	6,33	± 0,60	6,56	± 1,16	6,50	± 0,58	

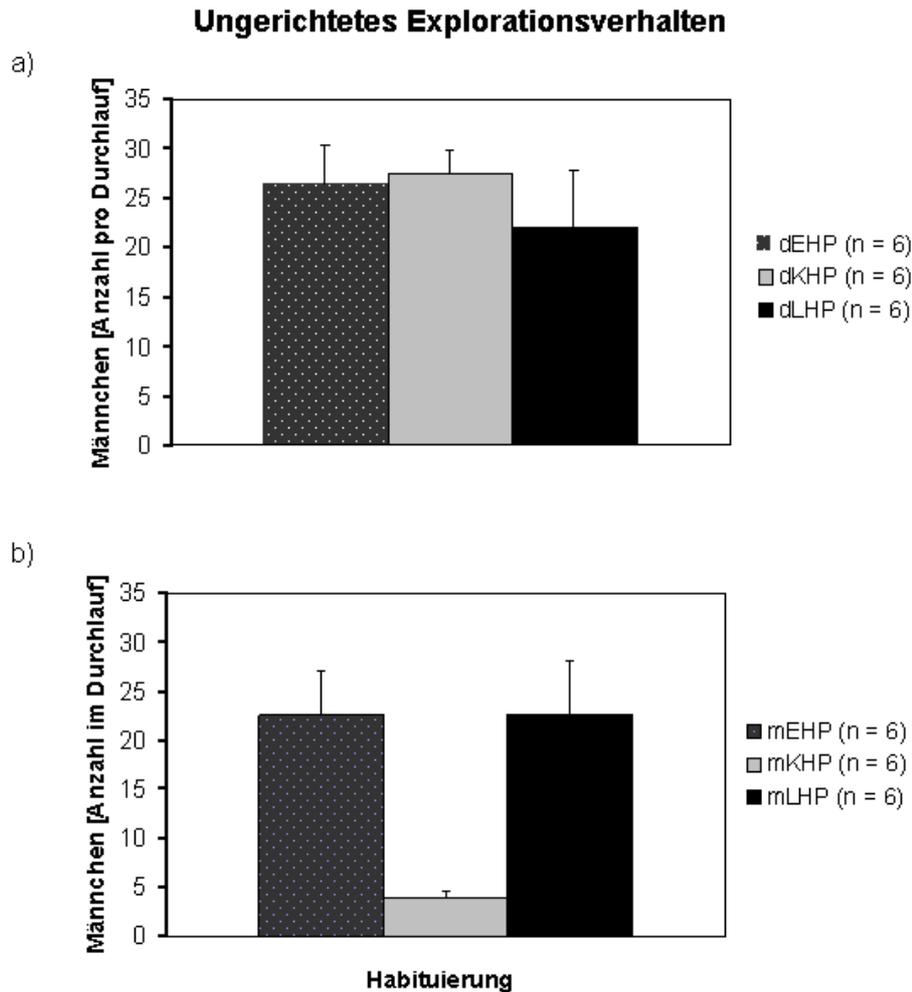


Abbildung 35: Anzahl der gemachten Männchen pro Durchlauf (Rearings) in der Habituation der beiden Hauptgruppen doppeltes Hole-Board (a) und modifiziertes Hole-Board (b): jeweils mit vergleichender grafischer Darstellung (MW±SEM) der drei Untergruppen EHP, KHP und LHP.

MW = Mittelwert, SEM = Standardfehler, d bzw. mE (bzw. L, K) HP = doppeltes bzw. modifiziertes Etabliertes (bzw. Langes, Kurzes) Habituerungs-Protokoll

In der Phase der Habituation ist die Anzahl der „Rearings“ im dHB insgesamt größer als die im mHB (Hauptgruppe: $p = 0,022$). Zwischen den Untergruppen des gleichen Boards herrschen keine signifikanten Unterschiede. Die Untergruppe mit der scheinbar niedrigsten Anzahl an Männchen ist die Gruppe mKHP (siehe Abb. 35).

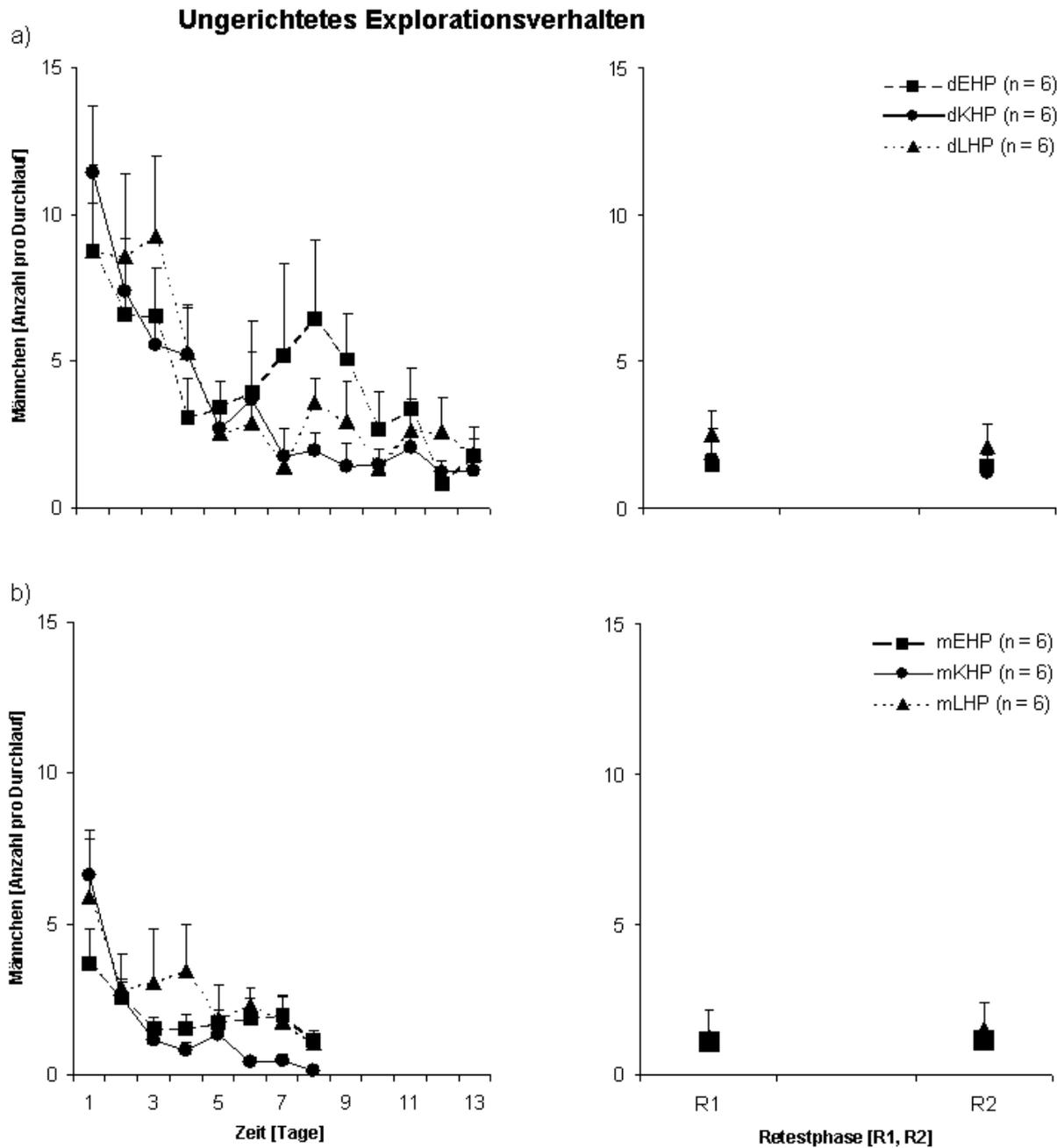


Abbildung 36: Anzahl der gemachten Männchen pro Durchlauf (Rearings) der beiden Hauptgruppen doppeltes Hole-Board (a) und modifiziertes Hole-Board (b): jeweils mit vergleichender grafischer Darstellung (MW±SEM) der drei Untergruppen EHP, KHP und LHP zu definierten Tagen der jeweiligen Lernphase und der Retests (R1, R2).

MW = Mittelwert, SEM = Standardfehler, d bzw. mE (bzw. L, K) HP = doppeltes bzw. modifiziertes Etabliertes (bzw. Langes, Kurzes) Habituerungs-Protokoll

Wie oft sich die Tiere auf die Hinterbeine erheben, ist im Gegensatz zu den vorigen Verhaltensparametern ein Maß für die ungerichtete, allgemeine Exploration. Die Mittelwerte der Summe der „Männchen“ pro Durchlauf nimmt bei allen Gruppen über den zeitlichen Verlauf nahezu kontinuierlich ab (Zeit: $p < 0,001$). Dabei zeigt sich mit einem $p < 0,001$ ein signifikanter Unterschied zwischen den Hauptgruppen: die Hauptgruppe dHB richtet sich häufiger auf als die Hauptgruppe mHB. Vor allem bis Tag 7 wird der Ausgangswert der dHB-Gruppe reduziert. Bei den Untergruppen mHB reduziert sich die Summe der „Männchen“ von Tag 1 auf Tag 2 am stärksten. Zwischen den drei Untergruppen einer Hauptgruppe werden keine signifikanten Unterschiede beobachtet. Die Anzahl der „Männchen“ ändert sich in der Wiederholungsphase (R1, R2) kaum. Das Ergebnis der Wiederholungsphase ist abhängig von dem Ergebnis des Lernphasenendes (letzter Lerntag: $p < 0,001$) (siehe Abb. 36).

Tabelle 26: Verhaltensparameter (Exploration): Männchen (Rearings) der Gruppe mHB

mHB (n = 18)	Tag	mEHP (n = 6)		mKHP (n = 6)		mLHP (n = 6)	
Männchen [Anzahl pro Durchlauf] (Rearings)	H1	20,20	± 4,86	3,83	± 0,86	22,67	± 5,43
	01	3,67	± 1,15	6,61	± 1,48	5,89	± 1,94
	02	2,56	± 0,49	2,61	± 0,56	2,89	± 1,11
	03	1,56	± 0,37	1,17	± 0,47	3,06	± 1,79
	04	1,56	± 0,47	0,83	± 0,28	3,44	± 1,53
	05	1,72	± 0,42	1,33	± 0,50	1,89	± 1,09
	06	1,89	± 0,65	0,44	± 0,15	2,28	± 0,58
	07	1,94	± 0,65	0,50	± 0,17	1,78	± 0,84
	08	1,17	± 0,32	0,17	± 0,07	1,06	± 0,43
	R1	1,11	± 0,30	1,17	± 0,44	1,28	± 0,88
	R2	1,17	± 0,41	1,06	± 0,66	1,56	± 0,85

Tabelle 27: Verhaltensparameter (Exploration): Männchen (Rearings) der Gruppe dHB

dHB (n = 18)	Tag	dEHP (n = 6)		dKHP (n = 6)		dLHP (n = 6)	
Männchen [Anzahl pro Durchlauf] (Rearings)	H1	26,50	± 3,80	27,50	± 2,27	22,00	± 5,81
	01	8,78	± 2,89	11,39	± 2,28	8,78	± 1,60
	02	6,61	± 1,91	7,39	± 1,81	8,56	± 2,82
	03	6,56	± 1,60	5,56	± 1,25	9,22	± 2,76
	04	3,11	± 1,29	5,22	± 1,63	5,33	± 1,58
	05	3,44	± 0,86	2,72	± 0,98	2,56	± 0,90
	06	3,94	± 2,40	3,67	± 1,63	2,89	± 1,13
	07	5,22	± 3,07	1,78	± 0,94	1,44	± 0,53
	08	6,44	± 2,65	1,94	± 0,63	3,61	± 0,84
	09	5,06	± 1,57	1,44	± 0,79	2,94	± 1,38
	10	2,72	± 1,28	1,50	± 0,52	1,39	± 0,18
	11	3,39	± 1,38	2,06	± 0,58	2,67	± 1,05
	12	0,83	± 0,29	1,22	± 0,40	2,61	± 1,20
	13	1,78	± 0,56	1,28	± 0,48	1,89	± 0,86
	R1	1,50	± 0,37	1,67	± 1,05	2,50	± 0,86
R2	1,50	± 0,41	1,22	± 0,58	2,11	± 0,79	

Erregung

Die errechneten Mittelwerte (MW) und Standardfehler (SEM) sind den Tabellen 28 und 29 zu entnehmen, die folgenden Abbildungen zeigen grafische Darstellungen aus Mittelwerten (MW) und Standardfehlern (SEM). Die Darstellung für die Ergebnisse des Parameters in der Habituation und der Lernphase (Lerntag 1 bis letzter Lerntag sowie Retests R1 und R2, Habituation hier nicht enthalten) erfolgt getrennt: einer Abbildung des Gruppenmittelwertes im ersten Durchlauf des ersten Habituationstags (Balkendiagramm) folgt die Darstellung der Lernphase (Kurvendiagramm).

Als Indikator für die physiologische Erregung im mHBT dient in dieser Studie der prozentuale Anteil aller Putzphasen an der Durchlaufzeit (Grooming).

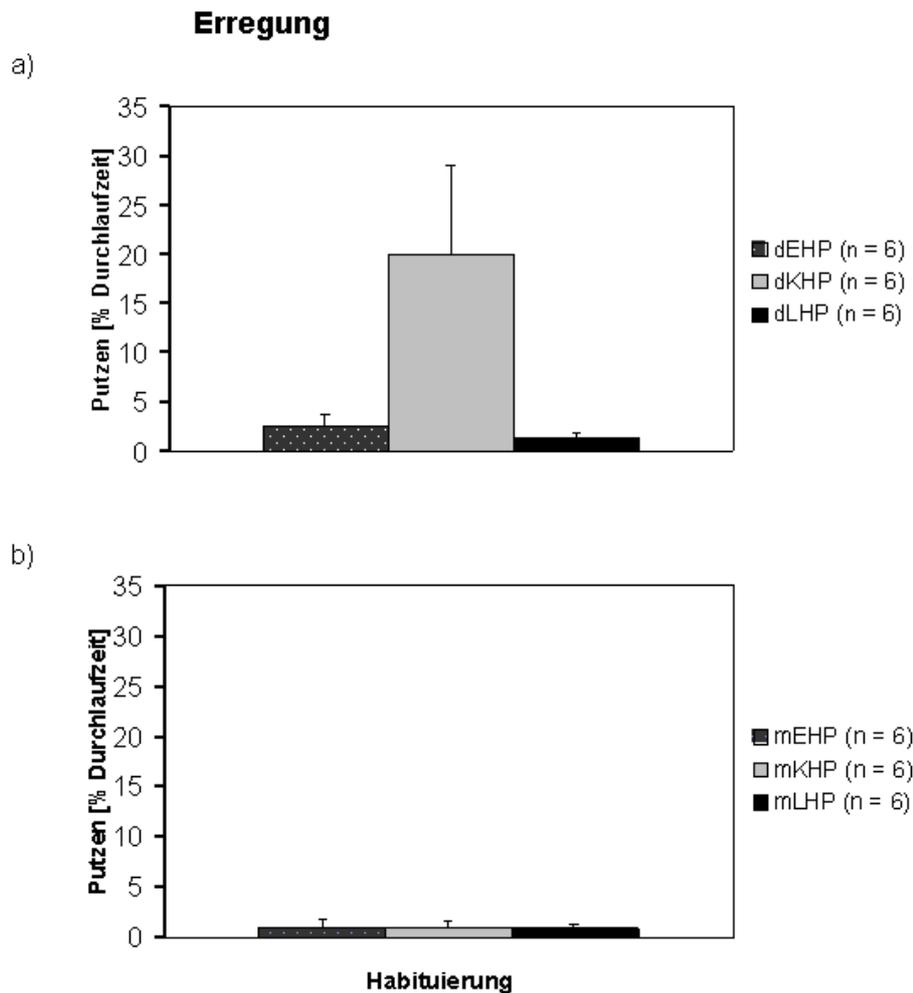


Abbildung 37: Putzen (Grooming [%]) in der Habituation der beiden Hauptgruppen doppeltes Hole-Board (a) und modifiziertes Hole-Board (b): jeweils mit vergleichender grafischer Darstellung (MW±SEM) der drei Untergruppen EHP, KHP und LHP.

MW = Mittelwert, SEM = Standardfehler, d bzw. mE (bzw. L, K) HP = doppeltes bzw. modifiziertes Etabliertes (bzw. Langes, Kurzes) Habituerungs-Protokoll

In der Phase der Habituation liegt die Gruppe dHB mit ihrem Anteil der Putzzeit am Durchlauf tendenziell über der mHB-Abteilung (Hauptgruppe: $p = 0,054$). Dabei erreicht die Untergruppe dKHP durch die Ergebnisse von einem Tier im Vergleich zu den anderen fünf Protokollgruppen zum Teil einen nahezu zwanzigfach erhöhten Wert, der deshalb nicht weiter besprochen wird. Die Unterschiede zwischen den Untergruppen eines Boards sind nicht signifikant (siehe Abb. 37).

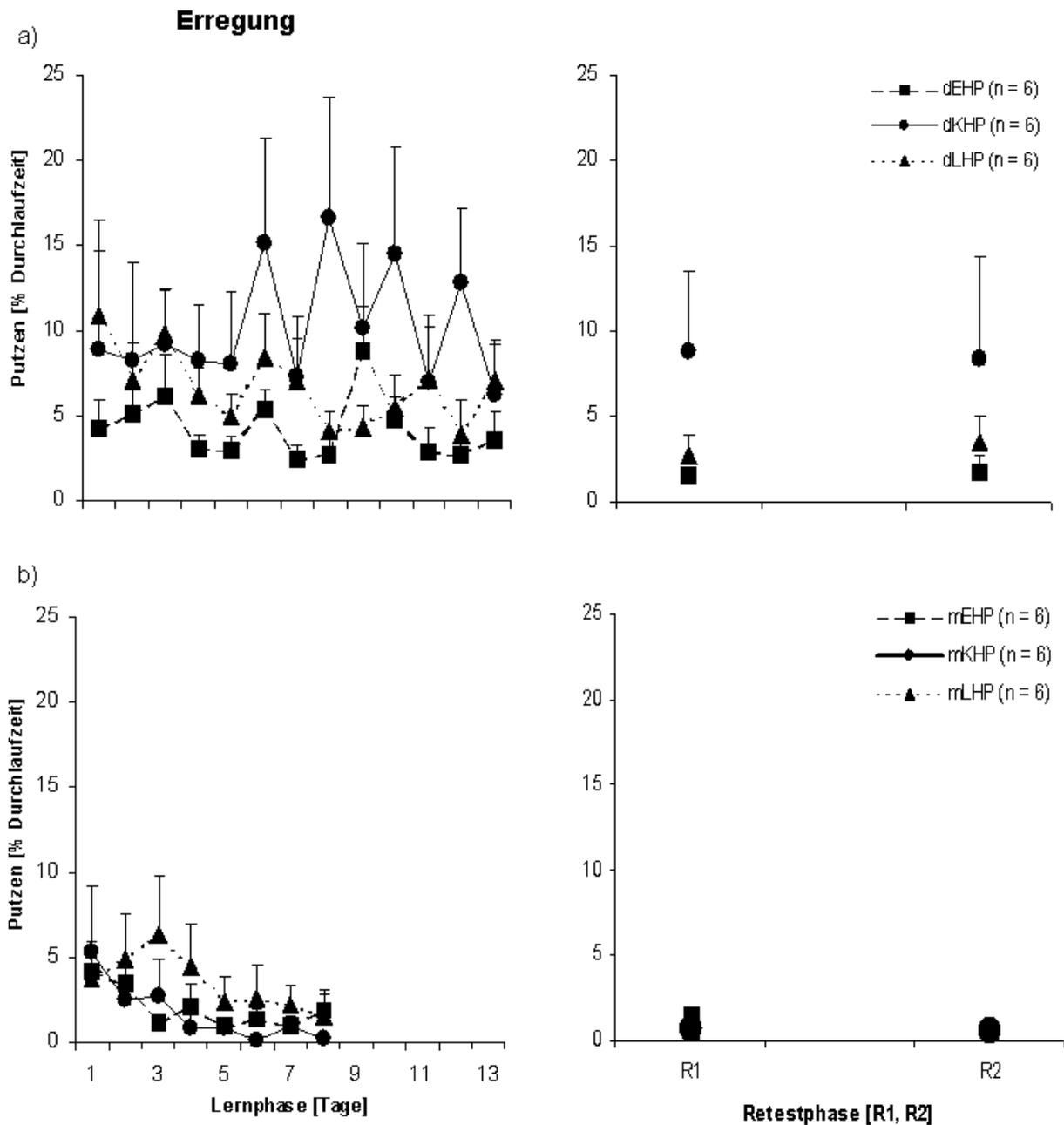


Abbildung 38: Putzen (Grooming [%]) der beiden Hauptgruppen doppeltes Hole-Board (a) und modifiziertes Hole-Board (b): jeweils mit vergleichender grafischer Darstellung (MW±SEM) der drei Untergruppen EHP, KHP und LHP zu definierten Tagen der jeweiligen Lernphase und der Retests (R1, R2).

MW = Mittelwert, SEM = Standardfehler, d bzw. mE (bzw. L, K) HP = doppeltes bzw. modifiziertes Etabliertes (bzw. Langes, Kurzes) Habituerungs-Protokoll

Der Teil eines Durchlaufs, welcher von der Summe der einzelnen Putzvorgänge in Anspruch genommen wird, ändert sich während der Lernphase bei keiner der Gruppen signifikant. Zwischen den Hauptgruppen tritt ein Unterschied auf (Hauptgruppe: $p = 0,005$): die Hauptgruppe dHB putzt sich im Durchlauf mit einer größeren Intensität als die Hauptgruppe mHB. Bei der Hauptgruppe mHB fallen die Mittelwerte scheinbar kontinuierlich über den Zeitraum der Lernphase hin ab. Die Hauptgruppe dHB pendelt in der Gesamtdauer aller Putzphasen eines Durchlaufes um den Wert des ersten Lerntags. Zwischen den Untergruppen EHP, KHP und LHP zeigen sich keine signifikanten Unterschiede. An den Wiederholungstagen liegen bei allen Gruppen in etwa die gleichen Prozentsätze des Putzens an der Durchlaufdauer vor wie am letzten Lerntag. Es zeigt sich die Abhängigkeit des Ergebnisses der Retests von dem letzten Ergebnis der Lernphase (letzter Lerntag: $p < 0,001$) (siehe Abb. 38).

Tabelle 28: Verhaltensparameter (Erregung): Putzen (Grooming) der Gruppe mHB

mHB (n = 18)	Tag	mEHP (n = 6)		mKHP (n = 6)		mLHP (n = 6)	
Putzen [%] (Grooming)	H1	1,01	± 0,78	0,98	± 0,66	0,83	± 0,42
	01	4,19	± 1,69	5,27	± 3,91	3,74	± 1,87
	02	3,47	± 1,24	2,49	± 1,81	4,84	± 2,73
	03	1,13	± 0,43	2,67	± 2,20	6,35	± 3,42
	04	2,03	± 1,37	0,86	± 0,79	4,41	± 2,51
	05	0,98	± 0,41	0,83	± 0,48	2,42	± 1,38
	06	1,39	± 0,53	0,15	± 0,13	2,60	± 1,91
	07	0,96	± 0,62	0,97	± 0,45	2,14	± 1,23
	08	1,87	± 1,25	0,21	± 0,16	1,56	± 1,28
	R1	1,36	± 0,64	0,69	± 0,30	0,72	± 0,44
	R2	0,56	± 0,33	0,62	± 0,57	0,75	± 0,33

Tabelle 29: Verhaltensparameter (Erregung): Putzen (Grooming) der Gruppe dHB

dHB (n = 18)	Tag	dEHP (n = 6)		dKHP (n = 6)		dLHP (n = 6)	
Putzen [%] (Grooming)	H1	2,57	± 1,13	19,95	± 9,11	1,27	± 0,47
	01	4,26	± 1,72	8,88	± 7,61	10,88	± 3,79
	02	5,05	± 1,80	8,28	± 5,70	7,05	± 2,31
	03	6,11	± 2,42	9,24	± 3,12	9,82	± 2,71
	04	3,09	± 0,84	8,31	± 3,19	6,26	± 1,60
	05	2,94	± 0,87	8,05	± 4,28	4,96	± 1,26
	06	5,37	± 1,20	15,18	± 6,14	8,47	± 2,56
	07	2,47	± 0,78	7,32	± 3,45	7,12	± 2,37
	08	2,79	± 1,04	16,64	± 7,10	4,12	± 1,21
	09	8,74	± 2,72	10,16	± 4,95	4,37	± 1,22
	10	4,75	± 1,44	14,46	± 6,30	5,47	± 1,91
	11	2,87	± 1,48	6,95	± 3,94	7,20	± 3,11
	12	2,72	± 1,08	12,77	± 4,41	3,89	± 2,00
	13	3,62	± 1,69	6,28	± 2,95	7,08	± 2,33
	R1	1,51	± 0,55	8,83	± 4,70	2,73	± 1,16
R2	1,77	± 0,96	8,42	± 5,91	3,43	± 1,61	

Lokomotion und Motorik

In den folgenden Abbildungen werden die berechneten Mittelwerte und Standardfehler grafisch veranschaulicht. Die Tabellen 30 bis 33 enthalten die Mittelwerte (MW) und Standardfehler (\pm SEM).

Als Maß für die lokomotorische Aktivität dient im mHBT die Anzahl der Line Crossings, die innerhalb einer Minute stattfinden. Die Fresszeit (time per food intake) dient zur Bewertung der motorischen Geschicklichkeit der Tiere. Die Fresszeit wird erst ab Beginn der Lernphase analysiert, deshalb existieren keine Angaben über die Mittelwerte der Fresszeit in der Phase der Habituation und eine Abbildung erfolgt nur für die Lernphase (erster bis letzter Lerntag und Retests R1 und R2).

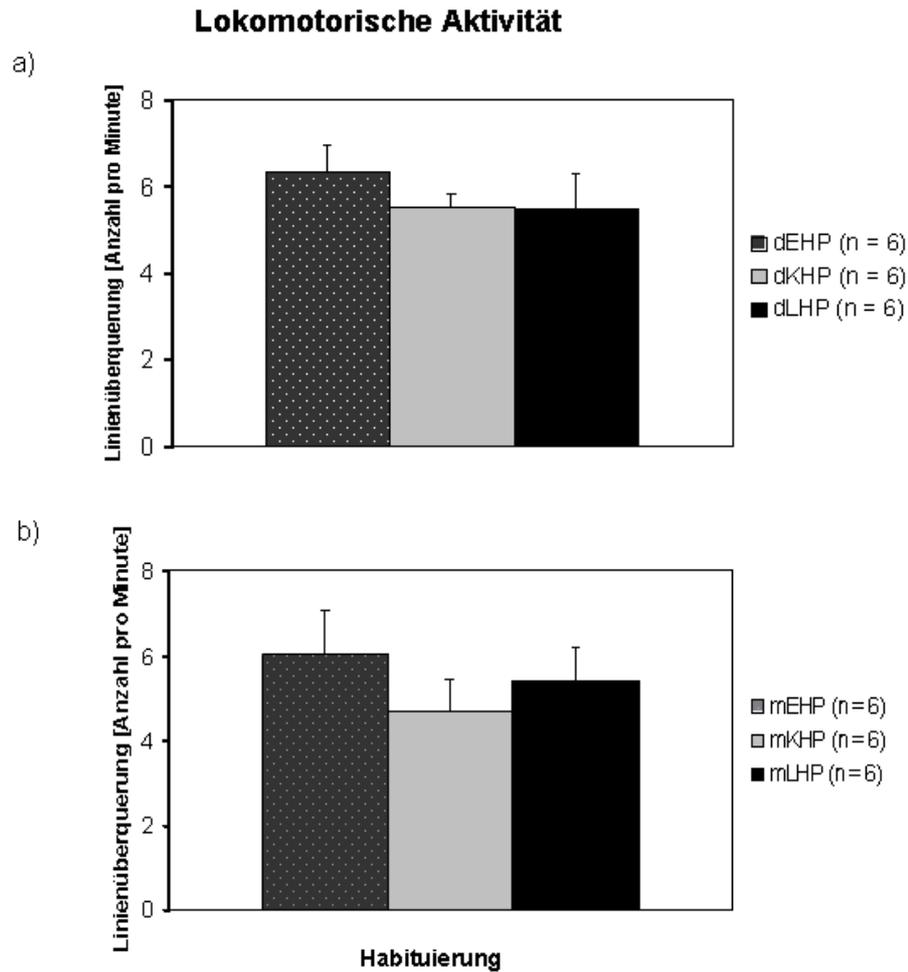


Abbildung 39: Line Crossings [Anzahl/min] in der Habituation der beiden Hauptgruppen doppeltes Hole-Board (a) und modifiziertes Hole-Board (b): jeweils mit vergleichender grafischer Darstellung ($MW \pm SEM$) der drei Untergruppen EHP, KHP und LHP.

MW = Mittelwert, SEM = Standardfehler, d bzw. mE (bzw. L, K) HP = doppeltes bzw. modifiziertes Etabliertes (bzw. Langes, Kurzes) Habituerungs-Protokoll

In der Habituerungsphase weisen alle Gruppen im mHBT und dHBT eine ähnliche Anzahl an Line Crossings auf (siehe Abb. 39).

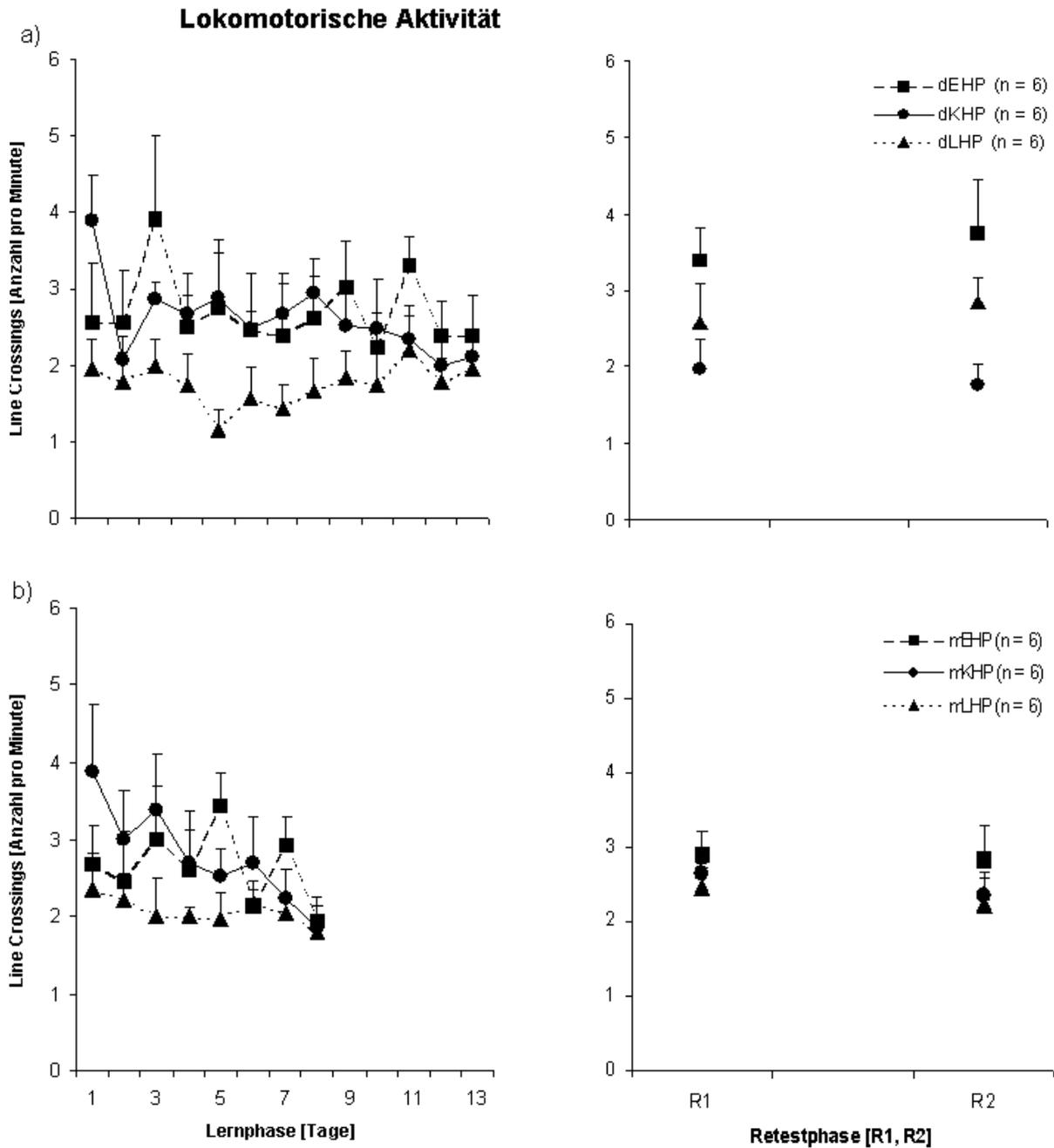


Abbildung 40: Anzahl der Line Crossings [Anzahl/min] der beiden Hauptgruppen doppeltes Hole-Board (a) und modifiziertes Hole-Board (b): jeweils mit vergleichender grafischer Darstellung (MW \pm SEM) der drei Untergruppen EHP, KHP und LHP zu definierten Tagen der jeweiligen Lernphase und der Retests (R1, R2).

MW = Mittelwert, SEM = Standardfehler, d bzw. mE (bzw. L, K) HP = doppeltes bzw. modifiziertes Etabliertes (bzw. Langes, Kurzes) Habituerungs-Protokoll

In der Lernphase nimmt die Häufigkeit der Line Crossings bei allen Gruppen in mäßigem Verlauf ab (Zeit: $p = 0,022$). Die Hauptgruppe dHB überquert signifikant mehr Linien als die Hauptgruppe mHB (Hauptgruppe: $p = 0,007$). In den Untergruppen eines Boards liegen ähnliche Anzahlen an Line Crossings in der Minute vor. Bei den Wiederholungstests werden in etwa so viele Line Crossings begangen wie am letzten Lerntag, es liegt ein leichter Trend einer allgemeinen Steigerung vor. Das Ergebnis am jeweiligen Wiederholungstag ist abhängig von dem des letzten Lerntags (letzter Lerntag: $p < 0,001$) (siehe Abb. 40).

Tabelle 30: Motorische Parameter (Lokomotorische Aktivität): Line Crossings der Gruppe mHB

mHB (n = 18)	Tag	mEHP (n = 6)		mKHP (n = 6)		mLHP (n = 6)	
Line Crossing [Anzahl/min]	H1	6,03	± 1,03	4,67	± 0,79	5,43	± 0,77
	01	2,67	± 0,51	3,88	± 0,87	2,35	± 0,48
	02	2,46	± 0,65	3,00	± 0,63	2,21	± 0,35
	03	3,01	± 0,67	3,38	± 0,73	2,01	± 0,49
	04	2,59	± 0,52	2,70	± 0,67	2,00	± 0,11
	05	3,43	± 0,44	2,53	± 0,36	1,98	± 0,33
	06	2,15	± 0,33	2,69	± 0,60	2,18	± 0,17
	07	2,92	± 0,36	2,24	± 0,39	2,04	± 0,28
	08	1,96	± 0,30	1,86	± 0,29	1,79	± 0,25
	R1	2,91	± 0,31	2,64	± 0,14	2,47	± 0,25
	R2	2,83	± 0,46	2,34	± 0,23	2,25	± 0,42

Tabelle 31: Motorische Parameter (Lokomotorische Aktivität): Line Crossings der Gruppe dHB

dHB (n = 18)	Tag	dEHP (n = 6)		dKHP (n = 6)		dLHP (n = 6)	
Line Crossing [Anzahl/min]	H1	6,34	± 0,62	5,53	± 0,33	5,48	± 0,85
	01	2,55	± 0,78	3,89	± 0,60	1,96	± 0,37
	02	2,56	± 0,68	2,07	± 0,31	1,78	± 0,40
	03	3,91	± 1,08	2,87	± 0,21	1,99	± 0,35
	04	2,50	± 0,70	2,66	± 0,26	1,75	± 0,41
	05	2,75	± 0,89	2,89	± 0,58	1,17	± 0,25
	06	2,47	± 0,72	2,48	± 0,23	1,58	± 0,40
	07	2,39	± 0,66	2,67	± 0,51	1,42	± 0,33
	08	2,61	± 0,56	2,94	± 0,44	1,66	± 0,43
	09	3,03	± 0,59	2,51	± 0,48	1,83	± 0,35
	10	2,23	± 0,46	2,47	± 0,65	1,75	± 0,44
	11	3,30	± 0,38	2,334	± 0,44	2,21	± 0,44
	12	2,39	± 0,45	2,00	± 0,37	1,77	± 0,31
	13	2,38	± 0,53	2,11	± 0,36	1,95	± 0,41
	R1	3,40	± 0,42	1,97	± 0,38	2,58	± 0,51
R2	3,74	± 0,70	1,76	± 0,27	2,85	± 0,30	

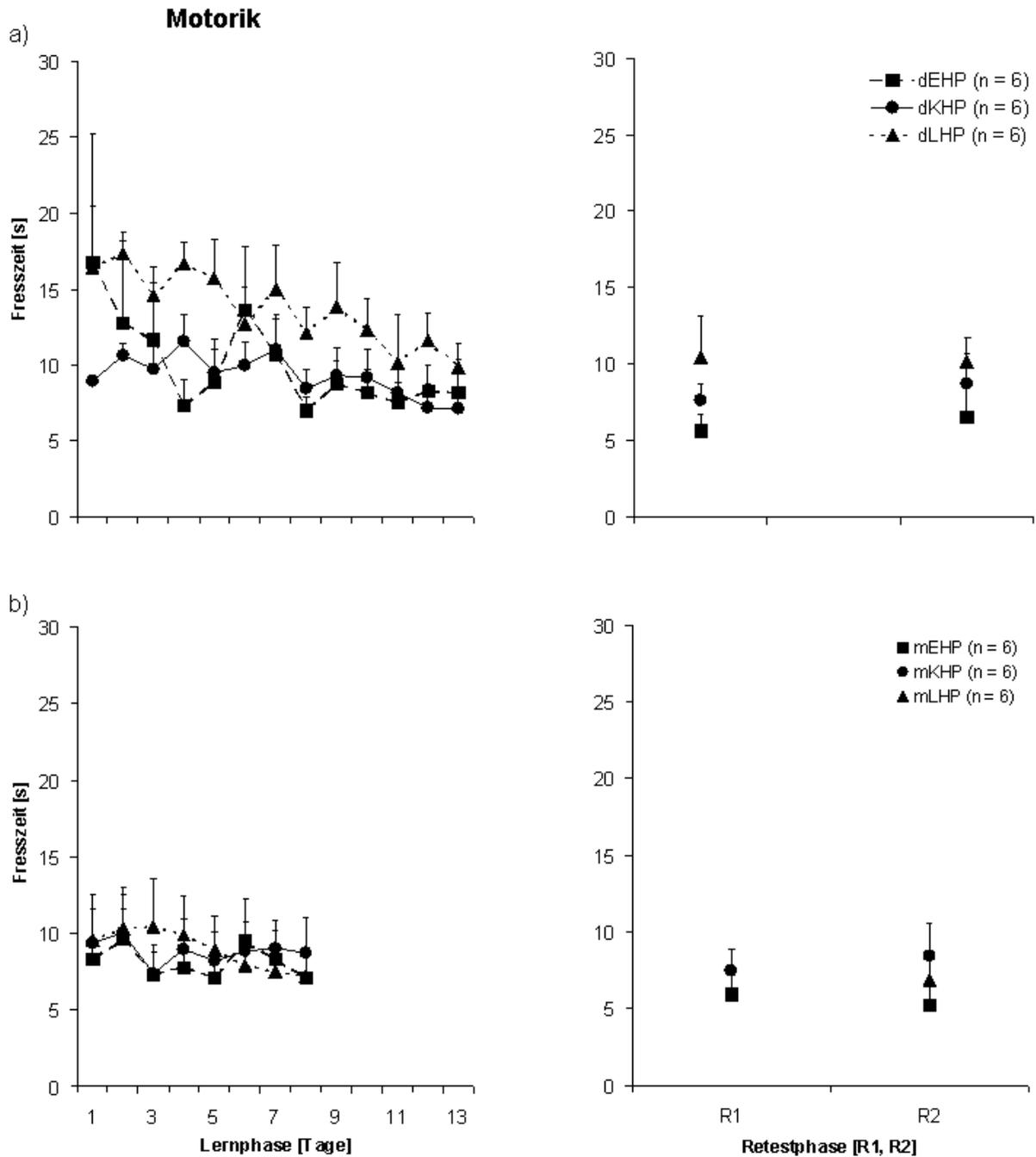


Abbildung 41: Fresszeit (time per food intake [s]) der beiden Hauptgruppen doppeltes Hole-Board (a) und modifiziertes Hole-Board (b): jeweils mit vergleichender grafischer Darstellung (MW \pm SEM) der drei Untergruppen EHP, KHP und LHP zu definierten Tagen der jeweiligen Lernphase und der Retests (R1, R2).

MW = Mittelwert, SEM = Standardfehler, d bzw. mE (bzw. L, K) HP = doppeltes bzw. modifiziertes Etabliertes (bzw. Langes, Kurzes) Habituerungs-Protokoll

Die Dauer, welche die Ratten durchschnittlich für den Verzehr von einem Puffreiskorn brauchen, zeigt bei allen Gruppen über den Verlauf der Lernphase nur eine geringfügige Abnahme. Eine weitere Tendenz besteht bis zu dem Lerntag 7 in dem geringeren Zeitbedarf der Hauptgruppe mHB für die Futteraufnahme verglichen mit der Hauptgruppe dHB. Zwischen den Ratten der Untergruppen der gleichen Hauptgruppe zeigen sich keine signifikanten Unterschiede. Die Fresszeit an den Retesttagen ist abhängig von dem Wert der Fresszeit des letzten Lerntags (letzter Lerntag: $p = 0,010$) (siehe Abb. 41).

Tabelle 32: Motorische Parameter (Motorische Geschicklichkeit): Fresszeit (time per food intake) der Gruppe mHB

mHB (n = 18)	Tag	mEHP (n = 6)		mKHP (n = 6)		mLHP (n = 6)	
Fresszeit [s] (time per food intake)	01	8,29	± 1,38	9,35	± 2,20	9,52	± 3,05
	02	9,59	± 1,98	10,01	± 2,54	10,32	± 2,72
	03	7,27	± 1,43	7,35	± 1,85	10,41	± 3,16
	04	7,79	± 1,14	8,94	± 2,04	9,91	± 2,54
	05	7,16	± 1,70	8,20	± 1,87	8,91	± 2,25
	06	9,47	± 2,74	8,83	± 1,94	7,91	± 1,41
	07	8,32	± 1,88	9,02	± 1,82	7,50	± 1,71
	08	7,11	± 1,29	8,74	± 2,31	7,20	± 1,63
	R1	5,96	± 1,02	7,47	± 1,47	5,98	± 1,19
	R2	5,28	± 1,17	8,43	± 2,13	6,90	± 1,27

Tabelle 33: Motorische Parameter (Motorische Geschicklichkeit): Fresszeit (time per food intake) der Gruppe dHB

dHB (n = 18)	Tag	dEHP (n = 6)		dKHP (n = 6)		dLHP (n = 6)	
Fresszeit [s] (time per food intake)	01	16,73	± 8,47	8,96	± 0,01	16,42	± 4,00
	02	12,71	± 6,04	10,63	± 0,79	17,35	± 0,80
	03	11,65	± 3,72	9,70	± 1,62	14,56	± 1,90
	04	7,28	± 1,72	11,53	± 1,73	16,69	± 1,44
	05	8,89	± 2,12	9,45	± 2,24	15,72	± 2,59
	06	13,57	± 4,21	9,99	± 1,51	12,66	± 2,45
	07	10,71	± 2,33	10,99	± 2,33	15,00	± 2,87
	08	6,98	± 0,96	8,44	± 1,30	12,06	± 1,70
	09	8,73	± 1,56	9,30	± 1,83	13,85	± 2,88
	10	8,23	± 1,43	9,16	± 1,84	12,32	± 2,06
	11	7,51	± 1,39	8,18	± 1,63	10,14	± 3,22
	12	8,24	± 1,75	7,20	± 1,46	11,56	± 1,86
	13	8,15	± 2,17	7,12	± 1,40	9,86	± 1,53
	R1	5,65	± 1,05	7,65	± 1,06	10,49	± 2,61
	R2	6,51	± 2,16	8,71	± 1,97	10,18	± 1,51

3.3.4 Ergebnisübersicht

Die signifikanten Ergebnisse werden in einer Tabelle zusammengefasst. Es werden die Unterschiede zwischen den Hauptgruppen gezeigt, zwischen den Untergruppen EHP, KHP und LHP zeigen sich keine signifikanten Unterschiede.

Tabelle 34: Zusammenfassung der signifikanten Ergebnisse der einzelnen Analysebereiche

Signifikanzen				
		Habituation	Lernphase	Retests
Gewicht	Veränderungen [%]	n.s.	dHB > mHB	k.D.
Kognition	Gesamtzeit [s]	k.D.	dHB > mHB	~ Lernphasenende
	Auffindungsfehler [n]	k.D.	dHB > mHB	~ Lernphasenende
	Gesamtfehler [n]	k.D.	dHB > mHB	~ Lernphasenende
	Wiederholer [n]	k.D.	dHB > mHB	~ Lernphasenende
Verhalten Angst	Boardzeit [%]	n.s.	n.s.	~ Lernphasenende
	Latenz zum ersten Boardbesuch [s]	n.s.	n.s.	~ Lernphasenende
	Immobilität [%]	n.s.	dHB > mHB	~ Lernphasenende
Exploration	Latenz zum ersten Lochbesuch [s]	n.s.	dHB > mHB	~ Lernphasenende
	Lochbesuche [n]	n.s.	~ Zeit: dHB > mHB	~ Lernphasenende
	Männchen [n]	dHB > mHB	dHB > mHB	~ Lernphasenende
Erregung	Putzzeit [%]	dHB > mHB	dHB > mHB	~ Lernphasenende
Soziale Affinität	Gruppenkontakt [%]	dHB > mHB	~ Zeit: dHB > mHB	~ Lernphasenende
Motorik	Line Crossings [Anzahl/min]	n.s.	dHB > mHB	~ Lernphasenende
	Fresszeit [s]	k.D.	n.s.	~ Lernphasenende

d- oder *mHB*: Zugehörigkeit zu Hauptgruppe doppeltes (*d*) oder modifiziertes (*m*) Hole-Board (*HB*); *k.D.*: keine Daten; *n.s.*: nicht signifikant; ~ Zeit: *mHB* <> *dHB*: abhängig vom zeitlichen Verlauf ergibt sich ein Unterschied zwischen den beiden Hauptgruppen; ~ Lernphasenende: signifikant abhängig von dem am letzten Lerntag erreichten Wert

4 Diskussion

4.1 Diskussion der Methode

4.1.1 Verhaltenstests

4.1.1.1 *Allgemein:*

Das Nagetier als Versuchstier

Nach STECKLER und MUIR (1996) sind Nagetiere die am häufigsten eingesetzte Spezies in Tiermodellen kognitiver Dysfunktionen des Menschen. Doch viele der Verhaltenstests bei Nagetieren untersuchen andere kognitive Leistungen als gewöhnlich beim Menschen beurteilt werden. Deshalb wird oft bezweifelt, bei Nagermodellen Erkenntnisse über Kognition gewinnen zu können, die für die Humanmedizin relevant sind. Doch in einer vergleichenden Bewertung kognitiver Funktionen von Mensch und Tier besteht die Möglichkeit, diese Problematik zu erkennen und einzubeziehen. Die zentralen Fragen richten sich also danach, welche kognitiven Prozesse die Ratte in den entsprechenden Tests nutzt und ob diese vergleichbar mit denjenigen sind, derer sich der Mensch in neuropsychologischen Tests bedient.

Argumente gegen die Anwendung von Nagermodellen, wie Unterschiede in evolutionärem Rang oder Morphologie zwischen Primaten und Nicht-Primaten, sind nicht haltbar. Zwar muss man sich bei Untersuchungen kognitiver Funktionen bei Nagern immer ihres Modellcharakters bewusst sein, aber Nagermodelle sind zum Beispiel in der „cognitive behavioural pharmacology“ von grundlegender Bedeutung und darüber hinaus scheinen sie von ethischer Seite her besser vertretbar als Versuche an Primaten. Denn auch Primatenmodelle bieten nur ein dem Menschen keinesfalls gleichwertiges Modell als Forschungsobjekt. Eine engere evolutionäre Verwandtschaft garantiert zum Beispiel keine Übereinstimmung der Pharmakodynamik (D'MELLO und STECKLER, 1996).

Doch durch die Anwendung von Tiermodellen kann es in der Forschung durchaus auch weiterhin zu neuen, irgendwann eventuell auf die Kognition des Menschen anwendbaren Er-

kenntnissen kommen, wie folgende Beispiele zeigen: Nach SQUIRE (1992) lieferte die Arbeit mit Versuchstieren den direkten Beweis für eine graduelle Gedächtniskonsolidierung bei Tieren.

Außerdem ist nach STECKLER und MUIR (1996) der Grund vor allem im zu unkritischen Einsatz der Verhaltenstests zu sehen, wenn bei Mensch und Nagetier unterschiedliche Prozesse bewertet werden. Dabei wird die Schwierigkeit eines Vergleichs zwischen den verschiedenen Spezies durch die „Prozessvariablen“ und die Komplexität der Testaufgabe bestimmt. Oft werden die Testvariablen verändert, wenn der Test bei einer anderen Spezies angewendet wird. Dabei wählt man einen Mittelweg zwischen einer Adaptation an die Spezies und einer zu großzügigen Abwandlung der Testgegebenheiten. Sonst besteht die Gefahr, unterschiedliche Prozesse zu untersuchen oder einen ungeeigneten Test für die entsprechende Spezies anzuwenden. Die Testaufgabe wird in ihrer Komplexität den kognitiven Fähigkeiten der Spezies angepasst. Nur wenn der entsprechende Test den Fähigkeiten des Tieres entspricht, die es erfordert, die Testaufgabe zu bewältigen und diese zugleich auch nicht unterfordert, liefert die Leistung der Tiere in dem entsprechenden Test Ergebnisse, die von Wert sind. Anders ist es möglich, eine Leistung gegenüber derjenigen einer anderen Spezies fälschlicherweise als besser oder schlechter einzuschätzen, weil nicht dieselben Anforderungen an die unterschiedlichen Spezies gestellt werden.

Weiterhin ist die Prozessdynamik entscheidend für die Anwendbarkeit der Versuchsergebnisse: Bei verschiedenen Spezies ist von einem unterschiedlichen Aufwand in der Informationsverarbeitung auszugehen. Ratten benötigen zum Beispiel zum Verständnis einiger gebräuchlicher Lernprinzipien in Verhaltenstests mehr Zeit als der Mensch. Bei einem vergleichsweise intensivierten Training der Ratte besteht jedoch die Gefahr, dass es zu einer Automatisierung der Gedächtnisfunktion kommt. Dadurch wird ein anderer Anteil des Gedächtnissystems als beim Menschen überprüft. Man muss also bei der Wahl der Testaufgabe darauf achten, dass sie ermöglicht, tatsächlich flexible kognitive Prozesse zu bewerten (STECKLER und MUIR, 1996).

Dass es möglich ist, ansatzweise vergleichbare Funktionen der Kognition bei Menschen, Primaten und Ratten zu überprüfen, zeigte KOLB (1984) in einer vergleichenden Studie. Trotz eines bedeutenden Unterschieds im relativen Volumen, scheint eine bemerkenswerte Einheitlichkeit in der Funktion des frontalen Kortex in der Klasse der Säugetiere zu bestehen. Der menschliche „frontale Kortex“ entspricht anatomisch nicht dem funktional ähnlichen Gedächtnisanteil der Ratte, der nach seiner Funktion auch als „frontaler Kortex“ bezeichnet

wird. Bei der Schädigung eben der Bereiche, die in einigen Aspekten vergleichbar scheinen, kommt es speziesübergreifend zu einigen „gemeinsamen“ Symptomen. So liegt beispielsweise ein gleichartig verändertes Verhalten vor. Aufgrund dieser Ähnlichkeiten wurde die Erforschung präfrontaler Funktionen bei Nagetieren weit voran getrieben. Von den Grundschemen aus sind Nagermodelle zur Untersuchung präfrontaler Funktionen bei Primaten entwickelt worden (KOLB, 1984; KOLB und ROBBINS, 2003).

Ein kritischer Punkt im Vergleich kognitiver Funktionen von Nagetier und Mensch bleibt die Anwendung der Sprache. Indem diese dem Menschen vorbehalten bleibt, ist die Möglichkeit, die Spezies untereinander zu vergleichen, deutlich limitiert (STECKLER und MUIR, 1996).

Definition von Gedächtnis

Um eine vergleichende Betrachtung von Ergebnissen anzustellen, die aus Tiermodellen stammen, und solchen, die an Humanpatienten ermittelt wurden, muss kritisch die Definition der Gedächtnisanteile beachtet werden, auf welcher die gewonnenen Einsichten beruhen (STECKLER und MUIR, 1996). Der Begriff „Gedächtnis“ wird zwar sowohl in Studien an Menschen als auch an Tieren benutzt, ihm liegen aber meist unterschiedliche Definitionen der Speicherkapazität und damit oft ein unterschiedliches Modell des Gedächtnissystems zu Grunde. Eine Kenntnis dieser unterschiedlichen Definitionen verhindert eine potentielle Fehlinterpretation von Forschungsergebnissen.

Nach BADDELEY (2003a) ist das Kurzzeitgedächtnis in drei Grundsysteme unterteilt, die in ihrer Zusammenarbeit gemeinsam das Arbeitsgedächtnis darstellen. Dieses hat die Funktion, den Vorgang einer Reihe komplexer Abläufe zu bewerkstelligen. Die meisten Studien der Humanmedizin basieren auf dieser Definition des Arbeitsgedächtnis, das in Anbetracht seiner Kapazität als Kurzzeitspeicher fungiert.

In Studien an Tiermodellen wird der Begriff Arbeitsgedächtnis verwendet, fußt aber meist auf dem Verständnis dieses Gedächtnisanteils von OLTON et al. (1979), der die Speicherkapazität von einem Testdurchgang angibt. Die Beschreibung dieses Fassungsvermögens entsteht durch die Einteilung der Information in eine, die nur für die gesamte Länge eines Durchlaufs von Erinnerungswert ist, und jene, die auch in jedem weiteren Testdurchlauf wertvoll, also von grundlegender Bedeutung, ist. Die Länge eines Durchlaufs ist dabei vom jeweiligen Testsystem abhängig. Eine Definition der Maximaldauer eines Durchlaufs existiert nicht. Damit entspricht das Arbeitsgedächtnis einem Speicher nur kurzzeitig relevanter Information. Dage-

gen verwertet das Langzeitgedächtnis alle Information, die ihre Bedeutung auch beibehält, nachdem ein Testdurchlauf beendet ist (OLTON et al., 1979).

Das derartig beschriebene Arbeitsgedächtnis entspricht in der Humanmedizin nach D`MELLO und STECKLER (1996) eher dem Langzeitgedächtnis. Nach CLARK et al. (2002) bewerkstelligt das deklarative Gedächtnis als Anteil des Langzeitgedächtnisses die flexible Anwendung von angeeignetem Wissen. Dabei schließt es die Kenntnis (oder das Bewusstsein) des Erlernten über längere Zeitspannen mit ein.

4.1.1.2 *Der modifizierte Hole-Board-Test*

In dieser Studie wird ein bestehendes Testsystem verändert, beziehungsweise werden unterschiedliche Habituerungsprotokolle angewendet. Ziel ist es, den mHBT so zu gestalten, dass er optimal einsetzbar ist und die Laborkapazität optimal ausgeschöpft wird.

Der mHBT konnte in dem Labor, in dem diese Studie durchgeführt wird, unter anderem dazu beitragen, kognitive Defizite in der Folge systemischer Entzündungen zu erforschen, den Effekt eines hypothermen Kreislaufstillstands auf die Gedächtnisleistung zu untersuchen und die Auswirkung einer Inhalationsnarkose auf an Morbus Alzheimer erkrankte Mäuse zu analysieren (MANNS, 2001; BOTHSCHAFTER, 2005; STARKER, 2005). Darüber hinaus existiert für den mHBT auch außerhalb dieses Labors ein breites Spektrum an Einsatzmöglichkeiten.

OHL und FUCHS (1998) konnten die negative Auswirkung von chronischem Stress auf das deklarative Gedächtnis nachweisen und dabei auch zeigen, dass die Veränderungen der kognitiven Leistungsfähigkeit die Phase der Stresseinwirkung überdauern. Weiterhin wird der mHBT in der psychologischen Forschung als Versuchsmodell für Angstverhalten angewandt. Dabei werden Verhalten und Kognition von Tierstämme analysiert, die über ein spezifisches Angstmuster verfügen, das als Modell einer menschlichen Erkrankung dient, wie etwa der Depression (OHL und KECK, 2003). In der genetischen Forschung wird der Versuch unternommen, für menschliche Erkrankungen Tiermodelle zu „erzeugen“. Nach der Veränderung des Erbguts müssen aber potentielle Zuchttiere von ungeeigneten Kandidaten für die Entwicklung eines spezifischen Tiermodells unterschieden werden. Die genetisch manipulierten Zuchttiere können nach OHL und KECK (2003) bezüglich des Phänotyps ihres Verhaltens im mHBT analysiert werden.

Verwendung des modifizierten Hole-Board-Test

Der modifizierte Hole-Board-Test (mHBT) schließt die charakteristischen Merkmalen des Hole-Boards und des „Open Fields“ in sich ein (OHL und KECK, 2003). Das „Offene Feld“ von HALL (1934) dient ursprünglich dem Studium des emotionalen Verhaltens bei Ratten (PRUT und BELZUNG, 2003) und wird regelmäßig als Test für Angstverhalten und lokomotorische Aktivität verwendet (OHL und KECK, 2003). Das „klassische“ Hole-Board dient der Analyse des Explorationsverhaltens von Ratten und Mäusen (FILE und WARDILL, 1975). Ursprünglich für die Erforschung der Kognition bei Tupaias entwickelt (OHL et al., 1998), wurde der mHBT später an Nagetiere als Versuchstiere angepasst. Parallel zu der Analyse von Kognition und Erkundungsverhalten ist eine Untersuchung weiterer Verhaltensdimensionen möglich. Angstverhalten, Erregung, soziale Affinität und lokomotorische Aktivität können analysiert werden (OHL et al., 2001a).

Bei der Anwendung von Verhaltenstests stellt sich immer die Frage, ob sie das tierische Verhalten unter ungestörten Bedingungen so abbilden, dass es auch möglich ist, von einem „veränderten“ Verhalten auf physische oder auch psychische Störungen zu schließen. Der mHBT basiert auf dem Grundgedanken, dass das reiche Verhaltensrepertoire von Nagetieren nur in einer angemessenen Testumwelt gezeigt werden kann (OHL und KECK, 2003).

Eine gute Möglichkeit, Verhalten zu beobachten, besteht in den Versuchskäfigen. Im mHBT konnte gezeigt werden, dass eine umfassende Analyse eines Individuums in diesen Käfigen auch die Interaktion und gegenseitige Abhängigkeit verschiedener Dimensionen des Verhaltens und der Physiologie berücksichtigt (OHL und KECK, 2003). Denn Verhaltenstests werden von den gewählten Testbedingungen und dem Testablauf stark beeinflusst. Die minimale Anforderung an einen Verhaltenstest besteht darin, dem Tier zu ermöglichen, sein natürliches Verhaltensrepertoire zu zeigen. In speziellen Versuchsaenen abgehaltene Tests bleiben bis zu einem gewissen Grad künstlich, da nur ein situationsbedingter und damit eingeschränkter Verhaltensbereich beobachtet werden kann. Als optimal kann eine Testumwelt bezeichnet werden, die solche experimentell bedingten Störfaktoren soweit wie möglich verringert.

Ein weiterer Aspekt, der für die Anwendung des mHBT spricht, ist die Vermeidung von Stress, der durch einen Transport vom heimatlichen Käfig in einen bestimmten Versuchsbereich entsteht. Ein Test in der Haltungsumwelt, nämlich dem Versuchskäfig, schließt diese Störgröße prinzipiell aus (OHL und FUCHS, 1998).

Außerdem wird das Verhalten, im Gegensatz zu den Verhältnissen bei vielen anderen Verhaltenstests, nicht von Stress durch Abwesenheit der Gruppenmitglieder beeinflusst. Denn im

mHBT wird der Isolationsstress in der Versuchssituation durch die fortwährende Möglichkeit zu einem Kontakt mit der Gruppe vermieden (OHL und KECK, 2003).

Nach OHL und FUCHS (1998) werden in Testsystemen häufig weitere Faktoren beobachtet, die das Verhalten der Versuchstiere im Tests beeinflussen können. Ein Entzug von Nahrung und Wasser soll die Motivation steigern, danach zu suchen, beziehungsweise die Testaufgabe zu bewältigen. Häufig werden auch Schmerzreize, wie Elektroschocks, eingesetzt. Durch all diese Aversions-bedingenden Stimuli kann aber künstlich ein Meide- und Angstverhalten hervorgerufen werden. Im mHBT werden den Tieren keine Schmerzen zugefügt und es wird nur das natürliche Verhaltensrepertoire genutzt. Das zugrunde liegende Prinzip ist die Futtersuche. Das Angebot eines besonderen, vertrauten Futterreizes verstärkt die Motivation zur Futtersuche. Damit basiert diese Testmethode auf rein Appetenz-steigernden Stimuli.

Vorteile gegenüber anderen Tests

Der mHBT ist als sehr gut geeignetes Versuchsmodell für Verhalten und Kognition anzusehen, der gegenüber einer Vielzahl an Tests deutliche Vorteile besitzt, denn die Ergebnisse, die nur aus diesem Testsystem stammen, scheinen verlässlich. Im Hinblick auf den Tierschutz ist kritisch auf einen zahlenmäßig möglichst begrenzten Einsatz von Versuchstieren zu achten.

OHL et al. (2001c) konnten zeigen, dass der mHBT die gleichen Ergebnisse bei der Phänotypisierung von Rattenstämmen liefert, die zuvor nur durch die Anwendung mehrerer Testsysteme zusammen erfasst wurden. Denn Tests wie das „klassische“ Hole-Board, das „Open Field“ und das „Elevated Plus Maze“ beschränken sich jeweils auf einzelne Verhaltensdimensionen, die der mHBT unter anderen in sich vereint, wie zum Beispiel auf Explorations- oder Angstverhalten (OHL et al., 2001a).

Da das Verhalten von Nagetieren abhängig von dem Kontext ist, in dem es stattfindet (OHL et al., 2001b) und unterschiedliche Testsysteme über unterschiedliche Bedingungen verfügen, besteht ein Bedarf an der umfassenden Analyse der Verhaltensdimensionen in nur einem Testaufbau, beziehungsweise in dem gleichen Kontext. Der mHBT bietet diese Möglichkeit, indem mehrere Verhaltensdimensionen gleichzeitig in dem Versuchskäfig untersucht werden können (OHL et al., 2001c).

Durch den mHBT als Alternative zur üblichen Praxis mit der Durchführung einer Reihe von spezialisierten Tests ist es möglich, sowohl die Versuchstierzahl als auch die veranschlagte Untersuchungszeit zu reduzieren (OHL et al., 2001b).

Die Tiere, welche in Verhaltenstests untersucht werden, dürfen nämlich über keinerlei Testerfahrung verfügen, weil diese das Verhalten in der Testsituation beeinflussen könnte. Bei der Durchführung mehrerer Tests ist deshalb immer eine entsprechend höhere Anzahl von Versuchstieren zu veranschlagen (OHL et al., 2001b).

Der modifizierte Hole-Board-Test in der vorliegenden Studie

In dieser Studie wird ein visuell-räumliches Testmodell genutzt (OHL et al., 1998). Das Prinzip, das erlernt wird, beruht auf der Assoziation von Farbmarkierung, in Form der Kennzeichnung durch farbliches Klebeband und der Futterbelohnung, die ausschließlich in markierten Löchern liegt. Mit diesem Prinzip können komplexere kognitive Funktionen bewertet werden, als die mit den klassischen Hole-Boards untersuchten Funktionen (FILE und WARDILL, 1975).

Nach OHL et al. (2003) kann neben der kognitiven Leistungsfähigkeit auch die Funktionalität sowohl des deklarativen (SQUIRE und ZOLA, 1996) als auch des Arbeitsgedächtnisses (GOLDMAN-RAKIC, 1996) überprüft werden (OHL et al., 2003).

Allerdings muss ausgeschlossen werden, dass die Ratten eventuell nur auf der Basis ihres Geruchssinns Entscheidungen für die folgende Futtersuche treffen. Die Verwendung einer Lösung aus konzentrierten Duftstoffen zum Benetzen der Löcher schafft eine Geruchsneutralisierung. Sie verhindert, dass die Tiere die Futterbelohnung orten, ohne einen Deckel zu bewegen (OHL et al., 2002). Dadurch wird es möglich, visuell-räumliche Tests mit wechselnden Lochsequenzen durchzuführen und so flexible kognitive Prozesse zu erforschen. In der eigenen Studie wird beim mHB durch das Eintauchen der Körner in die Johannisbeerlösung und damit der Anpassung des Korngeruchs an den allgemeinen Lochgeruch jede Maßnahme ergriffen, um zu verhindern, dass einzelne Löcher einen andersartigen Geruch tragen.

Durch die Geruchsneutralisierung kann es allerdings auch zur Beeinflussung des Tierverhaltens, beziehungsweise der Testergebnisse, kommen. Eine wie in dieser Studie durchgeführte, standardisierte Laborpraxis kann dieses Phänomen verhindern und für eine korrekte Bewertung der Parameter sorgen. Wenn zuviel Johannisbeerlösung verwendet wird, bleiben Flüssigkeitsreste in den Löchern zurück. Die Tiere verweilen dann länger am Loch, um die Lösung aufzunehmen. Auch ein wiederholter oder fehlerhafter Lochbesuch scheint möglich, falls ein Tier nach vorhandenen Lösungsspuren sucht. Aus der Boardvorbereitung kann also unter anderem eine „künstlich“ verschlechterte Leistung des Arbeitsgedächtnisses resultieren. Deshalb wurde in dieser Studie sorgfältig darauf geachtet, dass der Boden der Löcher mit der

Johannisbeerlösung nur benetzt und der Puffreis nur angefeuchtet und nicht durchtränkt wurde.

4.1.1.3 Der modifizierte Hole-Board-Test mit doppeltem Board

Das Verhalten von Nagetieren ist abhängig von dem Kontext, in dem das Tier sich befindet (OHL et al., 2001b). Deshalb ist bei der Modifizierung des doppelten Hole-Boards (dHB) anzustreben, dass die Ratten der beiden unterschiedlichen Testsysteme mHBT und dHBT scheinbar trotzdem die gleichen Umgebungsbedingungen bezüglich mechanischer Anforderungen und möglicher Störfaktoren vorfinden.

Der Grundgedanke bei der Veränderung des etablierten Testmodells besteht darin, das von OHL et al. (2003) in einer Studie verwendete Prinzip aufzunehmen, bei dem sich in allen Löchern Futterbelohnung befindet, aber nur in den markierten Löchern erreichbar ist. Die frühere Studie wurde an Mäusen durchgeführt und statt der bekannten Deckel sorgten PVC-Zylinder dafür, dass die Tiere die Futterbelohnung in den Löchern nicht sahen. Für das dHB wird der Deckelmechanismus aus dem mHBT übernommen. Das Prinzip, Futterbelohnung in jedes Loch unter feste Gitter zu legen, aber nur in den markierten Löchern auf diesem Gitter zu platzieren, stammt aus der Mäuse-Studie. Wie in dieser Studie wird die Futterbelohnung bei der Vorbereitung des dHB nicht in eine Geruchs-neutralisierende Lösung getaucht. Die Löcher werden aber weiterhin damit benetzt. Zur Analyse von Kognition und Verhalten dienen dieselben Parameter wie beim mHBT (OHL et al., 2003).

Die Testdurchführung im dHBT wird für den Untersucher durch die Verwendung von trockenem Puffreis als Futterbelohnung, verglichen mit dem mHBT, vereinfacht. Weil der Puffreis nicht mehr eingetaucht wird, ist ausgeschlossen, dass der Untersucher durch die angefeuchtete Futterbelohnung zuviel Lösung in die Löcher einbringt. Weiterhin besteht eine wesentlich geringere Gefahr bei der Lochbefüllung mit den verschiedenen Testbestandteilen wie Futterbelohnung und Pinzette „Geruchsmarkierungen“ auf dem Board oder zum Beispiel an den Lochdeckeln zu hinterlassen. Außerdem muss die Futterbelohnung während des Tests nur noch eingelegt werden, was den Zeitaufwand pro Durchlauf senkt.

Da alle Löcher gleichartig riechen, ist es den Tieren nicht möglich, die Futterbelohnung aufgrund ihres Geruchs zu finden. Im dHBT wirkt zusätzlich zum Benetzen der Lochränder mit der Lösung eine hohe Anzahl von Puffreiskörnern unter den Gittern als Geruchsneutralisierung.

Die laborübliche Futterbelohnung, der Puffreis, wird beibehalten, da er von den Tieren gut akzeptiert wird. Deshalb muss das dHB verglichen mit dem mHB erhöht werden. Denn mit der unteren Lochfüllung und der wirklichen Futterbelohnung sind zwei „Schichten“ an Puffreis zu bedenken. Aus praktischen Gründen, wie etwa der einfach vorzunehmenden Reinigung der Einzelteile, wird das dHB aus zwei Teilen zusammengefügt. Die Höhe der beiden Anteile wird von dem Durchmesser der Puffreiskörner bestimmt, wie beim mHB. Die Lochdeckel müssen schließen, ohne die Futterbelohnung zu berühren. So nehmen sie weder den Geruch nach der Futterbelohnung an, noch verschieben sie den extra mittig am unteren Rand eingelegten Puffreis. Denn nur wenn alle Tiere die gleichen Testbedingungen vorfinden, können auch die Werte verglichen werden, die für das motorische Geschick ermittelt werden.

Da das Bauprinzip des dHB garantiert, dass die zwei Anteile nicht gegeneinander verrutschen, bleibt nur das Problem bestehen, dass das dHB fast doppelt so hoch ist, wie das mHB. Nach OHL (2003) kann nämlich die Abneigung eines Nagetiers gegenüber einer ungeschützten Fläche sehr einfach künstlich gesteigert werden, indem dieselbe erhöht wird (OHL, 2003). Deshalb wird der Einlegerahmen verwendet, der den Box-, beziehungsweise Arenaboden „vortäuscht“. Das Brett erscheint den Tieren aus diesem Grund genau so hoch wie das mHB. Ein Vorteil gegenüber dem mHB ist bei der Verwendung des Rahmens darin zu sehen, dass das dHB in der Arena fixiert ist. Kommt es im mHBT zu einem Verrutschen, muss der entsprechende Durchlauf von der Auswertung ausgeschlossen werden.

4.1.1.4 Untergruppen-Protokolle

Die Unterschiede zwischen den Protokollen EHP, KHP und LHP betreffen die Phase der Habituation, also die Vorbereitung auf den Test. Die Länge der Habituationsphase wird nach den von OHL et al. (2001c und 2002) durchgeführten Studien festgelegt, die eine nur ungenaue Dauer von „wenigen Tagen“ für diese Phase vorsehen. Da bei Nagern schon über einen kurzen Zeitraum ein Habituationseffekt zu erwarten ist und in früheren Studien eine Dauer von zwei Tagen als durchaus ausreichend erschien, wird die Dauer in der vorliegenden Studie nicht überschritten (OHL et al., 2001c; OHL et al., 2002).

Da keine exakte Habituationdauer definiert ist, wird in der eigenen Studie untersucht, ob es möglich ist, diese Phase weiter einzuschränken, ohne dass sich schädliche Auswirkungen auf Tier oder Versuchsergebnis ergeben. Eine ähnliche Studie ist bisher nicht publiziert. Die Habituation der Untergruppen in der vorliegenden Studie unterscheidet sich in ihrem Ausmaß: zum einen können die Tiere der verschiedenen Untergruppen eine unterschiedliche Anzahl an

Tagen dazu nutzen, die Arena kennen zu lernen. Zum anderen bewältigen die verschiedenen Untergruppen nicht alle dieselbe Anzahl an Durchläufen vor dem ersten Lerntag.

In der Habituation nach OHL et al. (2001c und 2002) lernen die Ratten die Arena, das Board und die Futterbelohnung kennen. Gerade die Futterbelohnung ist ein wichtiger Punkt innerhalb des Habituationsprotokolls: wenn sich Nagetiere in einer ungewohnten Umgebung befinden, vermeiden sie es, unbekannte Nahrung aufzunehmen und zeigen im Vergleich zur Aufnahme von bekanntem Futter eine wesentlich längere Latenz (OHL, 2003). In einer „Inhibition der Futteraufnahme“ ist ein Störfaktor für die Durchführung des mHBT, beziehungsweise dHBT zu sehen. Der Test basiert darauf, dass nur ein Appetenz-bedingender Stimulus, ein Futterreiz, die Motivation steigert, das Testprinzip zu erlernen (OHL und FUCHS, 1998). Doch indem die Tiere aller Protokolle schon an den zwei Tagen vor dem ersten Brettkontakt „angefüttert“ werden, ist ihnen bei ihrer Habituation im Testsystem der Puffreis bereits nicht mehr fremd und wird darüber hinaus als Futterbelohnung erkannt.

Die Habituation im Testsystem dient dazu, dem Tier die ungewohnte Situation mit dem Board in der Arena vertraut zu machen (OHL et al., 2002). So wird es dem Tier ermöglicht, sein normales Verhaltensrepertoire in einer reichen Umwelt (OHL und KECK, 2003), ohne störende Einflüsse zu entfalten. In der Tatsache, dass das Tier die Arena unfreiwillig betritt, ist beim ersten Durchlauf ein Störfaktor zu sehen. Wenn die Tiere allerdings durch die Habituation an diesen „Eingriff“ gewöhnt sind und die Arena als „Ort der Futtersuche“ wahrnehmen, kann ihr ungestörtes Verhalten in der Testsituation beobachtet werden.

Bei der Verhaltensanalyse in dieser Studie wird deshalb besonders darauf geachtet, ob die Gruppen EHP und LHP ein signifikant abweichendes Verhalten von der Gruppe KHP zeigen. So kann überprüft werden, wie viele Tage im Testsystem nötig sind, bis die Tiere unbeeinträchtigt ihr normales Verhalten zeigen.

4.2 Diskussion der Ergebnisse

4.2.1 Physiologische Parameter

Der Tierschutz gebietet eine Kontrolle der Gesundheit. Außerdem ist es das Ziel der vorliegenden Studie, Vergleichswerte von Kognition, Verhalten und Motorik für gesunde Tiere in den verschiedenen Versuchssystemen aufzuzeichnen. Auch da ein unphysiologischer Zu-

stand Ursache für ein verändertes Verhalten sein kann, ist also eine Kontrolle der Tiergesundheit von großer Bedeutung.

Nach WISHAW et al. (1999) darf die täglich vorzunehmende Überprüfung des Allgemeinbefindens bei Labornagern weder invasiv sein, noch darf sie aus praktischen Gründen zu viel Zeit in Anspruch nehmen. Ein gesunder Labornager ist sauber, lebhaft, neugierig und nicht aggressiv. Die zusätzliche Adspektion aller Ratten im Versuchskäfig hat den Vorteil, dass es möglich ist, Farbe und Konsistenz der Ausscheidungen in die Untersuchungen einzubeziehen. Deshalb wird in dieser Studie eine adspektorische Beurteilung des Allgemeinbefindens und eine Kontrolle des Körpergewichts vorgenommen.

Da kein medizinischer Eingriff oder eine Medikation erfolgt, wird erwartet, unbeeinträchtigte Tiere anzutreffen.

4.2.1.1 *Allgemeinuntersuchung*

Man kann davon ausgehen, dass Verhalten und Kognition in dieser Studie nicht durch ein gestörtes Allgemeinbefinden beeinflusst sind, denn bei allen Tieren liegt über den gesamten Versuchszeitraum ein ungestörtes Allgemeinbefinden vor. Es wurden keine Anzeichen auf Verletzungen, Erkrankungen oder mangelhafte Körperpflege (WISHAW et al., 1999) festgestellt.

4.2.1.2 *Körpergewicht*

Zu einer unphysiologischen Veränderung des Körpergewichts kann es durch Krankheit oder Verletzung, durch Mangelernährung, Überfütterung, Entwicklungsfehler oder ein anderes peripheres oder zentrales Problem kommen. Tiere, die eine niedrigere Stellung in der sozialen Rangordnung als andere Gruppenmitglieder innehaben, nehmen gewöhnlich weniger zu, beziehungsweise sind leichter als ihre Artgenossen (WISHAW et al., 1999).

Nach WISHAW et al. (1999) nehmen männliche Ratten bis an ihr Lebensende an Gewicht zu, wobei sich die einzelnen Stämme in ihrer Gewichtsentwicklung unterscheiden. In der vorliegenden Studie entspricht die gleichmäßige Zunahme aller Gruppen der Erwartung einer recht einheitlichen Gewichtsentwicklung bei unbeeinträchtigten Ratten des gleichen Stammes und Alters unter identischen Haltungsbedingungen. Einerseits wird damit deutlich, dass der Test mit modifiziertem und doppeltem Hole-Board keine negativen Auswirkungen auf Tier-

gesundheit und Allgemeinbefinden hat. Andererseits wird eine Beeinträchtigung der Testleistung durch physische oder soziale Faktoren ausgeschlossen. Warum die Hauptgruppe dHB mit dem Fortschreiten der Lernphase prozentual etwas mehr zunimmt als die Hauptgruppe mHB wird im Zusammenhang mit den anderen Versuchsergebnissen betrachtet. Eine Folgestudie kann klären, ob dieses Ergebnis reproduzierbar ist.

4.2.1.3 Kognitive Parameter

Die Analyse der kognitiven Parameter im mHBT ermöglicht es, die Lernleistung sowie die Funktionalität des deklarativen Gedächtnisses und des Arbeitsgedächtnisses zu überprüfen. Dabei werden die Tiere einer Studie gewöhnlich nach demselben Protokoll trainiert. In dieser Studie bestehen mit den verschiedenen Formen der Habituation im Testsystem drei verschiedene „Lehransätze“. Damit wird die Auswirkung des Vorbereitungsmodus auf die Kognition überprüft. Die Information, die zur Bewältigung der Lernaufgabe nötig ist, wird den Untergruppen EHP, KHP und LHP unterschiedlich präsentiert. Dabei besteht das Testprinzip, beziehungsweise die „Information“, aus mehreren Teilaspekten. Die Tiere müssen lernen, die Deckel zu öffnen, den Federmechanismus zu bedienen und Löcher nicht wahllos nach Futterbelohnung abzusuchen. Schließlich ist die Lochmarkierung mit der Futterbelohnung zu assoziieren, also das visuell-räumliche Prinzip zu erlernen (OHL et al., 1998).

Die einzelnen Teilstücke der Gesamtinformation werden der Untergruppe LHP nacheinander innerhalb ihrer zweitägigen Habituation im Testsystem präsentiert und können scheinbar ungestört aufgenommen werden. Die Habituation des Protokolls EHP entspricht in fast allen Punkten der LHP-Habituation. Nur die Markierung, die am zweiten Habituationstag verwendet wird, ist eine andere. Im Gegensatz zu der Untergruppe LHP kommt es für die Untergruppe EHP am ersten Lerntag nur zu einer Wiederholung schon zuvor präsentierter Information. Bei der Untergruppe LHP wird schon das visuelle Lernen gefordert, indem die Markierung von der Habituation zu Lerntag 1 den Ort wechselt.

Die Ratten der Untergruppe EHP haben so den Vorteil, dass sie die Futterbelohnung auch finden können, wenn sie noch nicht die Markierung mit dem Puffreis assoziieren, sondern sich nur den Ort merken, an dem tags zuvor die Belohnung zu finden war. Damit wird das räumliche deklarative Gedächtnis der Ratte stärker miteinbezogen, wenn nicht gar ausschließlich getestet. Nach OHL et al. (1998) liegt nämlich bei der Wiederholung einer Lochkombination an Folgetagen ein „spatiales“ Versuchsmodell vor, wenn keine Markierung verwendet wird. Die Habituation dient bei OHL et al. (1998) außerdem nicht dazu, das visuell-

räumliche Testprinzip im mHBT zu erlernen, sondern nur dazu, die Tiere an die Umwelt zu gewöhnen, in welcher der Test stattfindet. Es ist aber möglich, dass die Tiere den „Futterort“ vom Vortag früher aufsuchen als die Markierung. Wenn dies zutrifft, müssen die kognitiven Ergebnisse am Tag 1 für die Untergruppe EHP besser ausfallen als für die Gruppe LHP, denn diese findet die Futterbelohnung bei einer anderen Lochkombination als am Vortag. Ist der „Lernerfolg“ der Untergruppe EHP am ersten Lerntag signifikant größer als bei der Protokollgruppe LHP, besteht die Frage, ob dieser Effekt über die Lernphase hin beibehalten wird. Wenn die Tiere schneller lernen, scheint die Wiederholung Informationsaufnahme und -verarbeitung zu erleichtern. Zeigen sie an den folgenden Lerntagen eine schlechtere Testleistung als die Untergruppe LHP, so hält die Wiederholung die Tiere eventuell davon ab, die Assoziation von Futter und Markierung zu erkennen, indem sie den Futterort vom Vortag vor einer Markierung anstreben. Wenn die Ratten durch das Protokoll EHP dabei behindert werden, das visuelle Testprinzip zu erlernen, darf das Protokoll nicht weiter verwendet werden. Werden die Tiere durch die wiederholte Lochkombination dabei unterstützt, ist die Anwendung dieses Protokolls abhängig von der jeweiligen wissenschaftlichen Fragestellung.

Indem nach dem Protokoll KHP überhaupt erst am Lerntag 1 Markierungen verwendet werden, ist der Einfluss unterschiedlicher Lochkombinationen vor der Lernphase ausgeschlossen. Es wird der rein visuell-räumliche Lernerfolg in der Lernphase beurteilt. Allerdings ist zu bedenken, dass den KHP-Ratten die farbliche Markierung des Boards noch völlig fremd ist und sie dadurch eventuell ein verändertes Verhalten verglichen mit den anderen Protokollen zeigen, da ihre Umwelt zu Beginn der Lernphase noch verändert wird. Außerdem wird der Untergruppe KHP die benötigte „Testinformation“, an die sie sich gewöhnen müssen, in nur zwei Durchläufen, sozusagen geballt, geliefert, nicht wie denen der Untergruppen EHP und LHP gestaffelt. Während die Untergruppe KHP an Lerntag 1 gänzlich unvorbereitet auf das visuell-räumliche Testprinzip trifft, werden ihr also auch die „Grundlagen der Testinformation“ in einem geringeren Zeitraum als den anderen Protokollgruppen vertraut gemacht. Bei der Betrachtung der kognitiven Werte der Untergruppe KHP wird deshalb darauf geachtet, ob sie signifikant schlechter ausfallen.

Ein Vorteil, das Protokoll KHP zu verwenden, besteht vor allem darin, dass die Lernphase bei dem wirklichen Erstkontakt mit dem visuell-räumlichen Testprinzip beginnt und so jede Veränderung der kognitiven Werte erfasst wird. Denn obwohl in der Habituerungsphase Markierungen für die Untergruppen EHP und LHP angebracht werden, startet die Aufzeichnung ihrer kognitiven Leistungen erst am Tag 1 der Lernphase, somit wird der erste Boardkontakt nicht ausgewertet. Die kognitiven Ergebnisse der Habituerungsphase werden im mHBT nicht in

die Wertung mit einbezogen, um den Tieren die Gewöhnung an die übrigen Testbedingungen (OHL und KECK, 2003), wie den Federmechanismus, zu ermöglichen. Erste mechanische Schwierigkeiten und die ungewohnte Umgebung sollen ja die kognitive Leistungsfähigkeit nicht fälschlicherweise beeinträchtigen. Entspricht die kognitive Leistung der Untergruppe KHP in etwa den Vergleichsprotokollen, kann die Habituerungsphase in den zukünftigen Studien möglicherweise auf einen Habituerungstag im Testsystem verkürzt werden, was, nicht nur um die Versuchsphase zu verkürzen, wünschenswert scheint.

Kognitive Leistungsfähigkeit

Die Lernleistung der Versuchstiere lässt sich direkt aus der Gesamtzeit ableiten. Eine Abnahme der Zeit, welche die Ratten über den Verlauf der Lernphase benötigen, um die drei Futterbelohnungen zu finden, zeigt, dass die Tiere in zunehmendem Maße gerichtet handeln, beziehungsweise den Test erlernen. Dabei ist zu beachten, dass dieser Indikator von verschiedenen Verhaltensparametern abhängig ist. So wird die Durchlaufdauer nicht nur dadurch beeinflusst, ob ein Tier sofort das richtige Loch anstrebt oder erst lange danach sucht, sondern auch, ob das Tier motiviert ist, ob es ängstlich ist, wie lange es sich putzt und ob es immobil ist, bevor das letzte Loch besucht ist. Eine pure Betrachtung der Durchlaufzeit kann also zu einem falschen Ergebnis führen, weshalb bei einer Interpretation der Lernleistung immer sämtliche Verhaltensdimensionen der Versuchsgruppen mit einbezogen werden.

Beim Vergleich der kognitiven Leistungsfähigkeit der beiden Hauptgruppen ist deutlich, dass beide Gruppen den Test erlernen. Die dHB-Tiere zeigen aber durchgängig schlechtere Testleistungen als die mHB-Ratten. Am Anfang der Lernphase wird im dHB-Testsystem fast die maximale Durchlaufzeit genutzt, um die Futterbelohnungen zu finden, während im mHB-Testsystem dafür nur die Hälfte benötigt wird. Beide Gruppen verbessern jedoch täglich ihre kognitive Leistung.

Die Durchlaufdauer der letzten Testtage ist stabil. Die Lernphase kann damit als abgeschlossen betrachtet werden. Die Hauptgruppen unterscheiden sich so erheblich in der Dauer der Lernphase: den acht Trainingstagen der Gruppe mit modifiziertem Board stehen die 13 Tage der Gruppe mit doppeltem Board gegenüber. Die Lernphase wurde durch die Veränderung des mHB verlängert. Die Gesamtzeit, die letztendlich von der Gruppe dHB in Anspruch genommen wird, ist dabei mit etwa 180 Sekunden pro Durchlauf für die Praxis in der klinischen Forschungsarbeit sehr hoch.

Da sich auch in der Wiederholungsphase keine Veränderung mehr zeigt, kann man sagen, dass beide Hauptgruppen den Test mit verschiedener Geschwindigkeit erlernen, ein stabiles Niveau erreichen und das Erlernte auch nach mehreren Tagen nicht vergessen. Dabei zeigt sich kein Vor- oder Nachteil eines der drei Habituerungsprotokolle den Test schneller zu erlernen.

Warum die eine Hauptgruppe den Test schneller erlernt, wird im Folgenden analysiert. Dass die unterschiedliche Dauer und Art der Habituerung keinen Einfluss auf die Dauer der Lernphase zeigt, heißt, dass der Unterschied zwischen den einzelnen Protokollen zu gering ist, um eine signifikante oder auch nur tendenzielle Auswirkung auf die Lernleistung der Untergruppen eines Boards zu haben. Einerseits können also sowohl das Protokoll EHP als auch das Protokoll LHP angewendet werden, da die Lernleistung durch den Unterschied im Einsatz der Markierungen in der Habituerungsphase weder positiv noch negativ beeinflusst wird. Andererseits scheint es möglich, das KHP-Protokoll einzusetzen und die Lernphase vom Erstkontakt an aufzuzeichnen. Die vorliegende Studie untersucht gesunde Ratten. Bei neurologisch geschädigten Tieren könnte es aber möglicherweise im Vergleich zu den gesunden Tieren zu Unterschieden beim ersten Kontakt mit dem Markierungsprinzip kommen. Die Verwendung dieses Protokolls ist bei der Betrachtung der kognitiven Leistungsfähigkeit demnach nur von Vorteil.

Deklaratives Gedächtnis

Im mHBT wird die Summe der Gesamtfehler aus der Anzahl an Fehlern errechnet, wenn ein unmarkiertes Loch geöffnet wird, und aus der Gesamtheit der Auffindungsfehler, die begangen werden, indem markierte, gefüllte Löcher in einem Durchlauf nicht besucht werden. Die Gesamtfehlerzahl erlaubt Rückschlüsse auf die Funktion des deklarativen Gedächtnisses (OHL und FUCHS, 1998).

In diesem Testmodell besteht die Aufgabe darin, dass die Tiere bewusst die farbliche Markierung als Kennzeichen für Futterbelohnung unter den markierten Deckeln erkennen und lernen, dass Besuche unmarkierter Löcher nicht zum Fresserfolg führen. Damit weiterhin das deklarative Gedächtnis hinsichtlich der flexiblen Anwendung erlernter Information in Anspruch genommen wird und es nicht zu einer Automatisierung der kognitiven Prozesse kommt, ändert sich von Versuchstag zu Versuchstag die randomisierte Sequenz der Lochmarkierungen (OHL et al., 2002).

Werden die beiden Hauptgruppen verglichen, so fällt auf, dass die Anzahl an Gesamtfehlern zu Anfang der Lernphase bei beiden zu steigen scheint. Die Gruppe mHB macht insgesamt

wesentlich weniger Gesamtfehler und erlernt den Test schneller als die Gruppe dHB. Diese wendet zwar das Testprinzip nach einigen Testtagen an, was sich an der Reduktion der Gesamtfehler zeigt, macht jedoch bis an das Ende der Lernphase noch Fehler.

Man kann annehmen, dass die dHB-Abteilung bei Verlängerung der Lernphase mit steigender Durchlaufzahl weniger Fehler begangen hätte. Die Anzahl der Gesamtfehler der Gruppe dHB, welche über einige Tage kaum abnimmt, wird vor allem durch die Anzahl falsch besuchter Löcher bestimmt, denn die Auffindungsfehler nehmen kontinuierlich ab. Die Gruppe mHB besucht schon ab der zweiten Hälfte der Lernphase alle Markierungen, während die Hauptgruppe dHB nie alle Futterbelohnungen findet. An den letzten Testtagen verursacht die Hauptgruppe dHB aber nur noch eine stabile Anzahl von Auffindungsfehlern, die relativ gering ist. Es stellt sich die Frage, ob nicht eine längere Lernphase ein besseres, mit der Hauptgruppe mHB vergleichbares Lernergebnis geliefert hätte und die Ratten schließlich alle Futterbelohnungen aufgefunden hätten. Zieht man aber in Betracht, dass sich die Anzahl der Auffindungsfehler, sowie die Durchlaufzeit an den letzten Lerntagen als nahezu konstant erweisen, so sind die Kriterien für den Abbruch der Lernphase erreicht. Außerdem scheint eine signifikante Verbesserung der Lernergebnisse innerhalb der nächsten Folgetage unwahrscheinlich.

Diese Beobachtungen weisen darauf hin, dass der dHBT für die Ratten schwerer zu erlernen ist als der mHBT. Da das visuell-räumliche Testprinzip dasselbe ist, muss die Ursache dafür im Bauprinzip des Brettes vermutet werden. Dabei stellt sich die Frage, ob das neue Board tatsächlich so verändert werden konnte, dass die kognitiven Fähigkeiten der Nager in einem höheren Grade als beim mHB beansprucht werden und deshalb subtilere Veränderungen der kognitiven Leistungen erfasst werden können, oder ob das Verhalten der Tiere, beeinflusst durch Bestandteile des neuen Boards, den Ablauf der Lernprozesse stört und die dHB-Tiere deshalb mehr Zeit benötigen den Test zu erlernen.

Bei der Anordnung des dHBT müssen die Ratten nicht nur erkennen, dass eine Markierung Futter bedeutet, sondern dass ein Loch immer eine „Futterbelohnung“ enthält, diese aber nur in Verbindung mit der Markierung erreichbar wird. Denn ein Gitter über der „Futterbelohnung“ bedeutet eben: „keine Futterbelohnung“. In der Anfütterungsphase haben die Tiere den Reis als positiv und verfügbar kennen gelernt, seine Eigenschaften ändern sich im Test: Die Ratten müssen erkennen, dass eine Reaktion auf einen vorhandenen, positiven Reiz nicht zum Erfolg führt, sobald nicht „Loch und Markierung“ zusammen vorliegen. Im Gegensatz

dazu ist für die mHB-Tiere der positive Reiz „sichtbarer Puffreis“ immer gleichbedeutend mit einer Belohnung.

In beiden Testmodellen stellt Puffreis die Futterbelohnung dar und in beiden Vorbereitungsphasen werden die Löcher mit der gleichen Johannisbeeraromalösung ausgewischt. Im mHBT wird der Puffreis noch in die Lösung getunkt, bevor er als Futterreiz dient, im dHBT geschieht dies nicht, aber die große Menge an Körnern, die sich unter dem Gitter befindet, stellt sicher, dass die einzelnen Futterbelohnungen nicht durch ihren Eigengeruch gefunden werden können. Durch diese Maßnahmen kann ausgeschlossen werden, dass die Nager die Futterbelohnung finden, ohne entweder das Testprinzip erlernt zu haben oder zufällig den richtigen Deckel zu öffnen, wie schon aus Pilotprojekten zur Etablierung des mHBT beschrieben (OHL und FUCHS, 1998).

Bevor der Schluss gezogen wird, dass die Ratten sich im dHBT höheren kognitiven Anforderungen stellen müssen, muss detailliert das Verhalten der Gruppen analysiert werden.

Arbeitsgedächtnis

Die Funktionalität des Arbeitsgedächtnisses wird im mHBT anhand der Wiederholungsfehler bewertet (OHL und FUCHS, 1999). Dagegen werden wiederholte Besuche nicht markierter Löcher dem deklarativen Gedächtnis in Rechnung gestellt und gelten als Fehler, da die Tiere in diesem Test keine Tendenz zeigen, die Sequenz der unmarkierten Löcher zu erlernen (OHL et al., 1998).

Obwohl anfangs beide Hauptgruppen ein gleich gut funktionierendes Arbeitsgedächtnis zeigen, was bei gesunden Tieren zu erwarten ist, zeigen nur die Tiere im mHBT weiterhin eine Verbesserung im Arbeitsgedächtnis. Das liegt daran, dass die Ratten eben nicht die Sequenz unmarkierter falsch besuchter Löcher erlernen. Die Zahl an wiederholten Lochbesuchen kann aber nur beurteilt werden, wenn das Testprinzip von den Ratten erkannt und angewandt wird. Bei der Hauptgruppe dHB dauert es einige Tage länger als bei der Hauptgruppe mHB bis sie erlernt, dass eine Markierung Futterbelohnung heißt und erinnert wird. So dauert es auch länger bis die besuchte Markierung für die Dauer eines Durchlaufs im Gedächtnis behalten und nicht wiederholt besucht wird. Dementsprechend fällt die Leistung des Arbeitsgedächtnisses der dHB-Ratten nicht „schlechter“ aus als bei den mHB-Tieren, sondern sie kann erst später beurteilt werden als bei diesen.

Außerdem kann es aber zu der höheren Anzahl von Wiederholern kommen, weil die mHB-Tiere sich nicht nur merken, welche Löcher sie schon besucht haben, sondern auch erlernt

haben, dass eine andere Markierung weiteres Futter bedeutet und mit steigender Durchlaufzahl ihr Interesse auf die farblich gekennzeichneten Deckel fokussieren. Sie gehen zielgerichtet vor (siehe Explorationsverhalten).

Dass die mHB-Tiere auch im Wiederholungstest noch die Anzahl an Wiederholern zu senken scheinen, mag daran liegen, dass bei der Gruppe mHB nach der Pause eine gesteigerte Aufmerksamkeit und Motivation vorliegt, die Belohnung zu finden.

Keines der drei Habituerungsprotokolle scheint zu bewirken, dass die Tiere das Testprinzip schneller aufnehmen, weniger Fehler begehen oder etwa eine bessere Leistung des Arbeitsgedächtnis zeigen als die Tiere der anderen beiden Untergruppen. Da zwischen den Untergruppen EHP und LHP keine Differenz bei den kognitiven Ergebnissen beobachtet wird, ist es unwahrscheinlich, dass das Protokoll EHP Einfluss auf das Lernverhalten der Tiere nimmt, obwohl am ersten Lerntag eventuell ein anderer Gedächtnisprozess angesprochen wird als bei den LHP-Ratten. Indem diese beiden Untergruppen jedoch auch keinen Unterschied zu der dritten, der Untergruppe KHP zeigen, scheint der Unterschied der verschiedenen Markierungsmodi zwischen den Protokollen insgesamt keinen Einfluss auf den Verlauf der Lernphase zu haben. Alle Protokolle können angewendet werden. Allerdings überzeugt das Protokoll KHP mit seinem Vorteil, die Lernphase komplett zu erfassen und gleichzeitig die Versuchsphase für die Tiere um einen Tag zu verkürzen. Jedoch kann erst eine umfassende Betrachtung der verschiedenen Verhaltensbereiche eine Aussage darüber ermöglichen, ob diese Habituerungsmethode in Zukunft anwendbar ist.

4.2.1.4 Verhaltensparameter

Es besteht nicht nur die Möglichkeit, dass die Tiere sich gegebenenfalls unterschiedlich verhalten, sondern auch, dass das Verhalten die kognitiven Werte beeinflusst (OHL et al., 2001a). Dadurch kann ein verzerrtes Bild der Kognition an sich entstehen. In der eigenen Studie stellt sich vor allem die Frage, warum die Lernleistungen der Hauptgruppen so unterschiedlich ausfallen und sich bei der Hauptgruppe dHB die deklarativen Gedächtnisleistungen im Gegensatz zu dem Indikator für die kognitive Leistungsfähigkeit erst spät verbessern.

Angstverhalten

Eine Studie über die Auswirkungen eines unterschiedlichen Grades an Angst auf die kognitiven Fähigkeiten von Ratten belegt, dass unter standardisierten Bedingungen bei einem höheren Grad an Angst Veränderungen der kognitiven Leistungsfähigkeit eintreten. Die Gesamt-

zeit ängstlicher Tiere im mHBT ist geringer als bei Kontrolltieren, wobei ihre deklarative Gedächtnisleistung verbessert ist, indem sie weniger Fehler verursachen. Dagegen beeinflusst die Angst weder die Anzahl an Auffindungsfehlern, noch das Arbeitsgedächtnis. Gleichzeitig liegt eine Inhibition in einigen Verhaltensbereichen vor, wie zum Beispiel der allgemeinen Aktivität und allgemeinen Erkundungsfreudigkeit (OHL et al., 2002). Wenn die Unterschiede der kognitiven Ergebnisse durch den Einfluss von Angst entstehen, müssen auch bei der Analyse der Verhaltensparameter für Angst deutliche Differenzen zwischen den beiden Hauptgruppen bestehen.

Von dem Verhalten in einem etablierten System kann man auf die natürliche, angeborene Ausprägung der Ängstlichkeit rückschließen. Da der mHBT negative Einflussfaktoren wie Schmerzreize, Futterentzug, Stress und Angst meidet und auf natürlich vorhandenen Verhaltensstrategien beruht, wird er häufig für die Phänotypisierung von einzelnen Tierstämmen bezüglich ihrer Ängstlichkeit verwandt (OHL et al., 2002). Wenn für verschiedene Testsysteme identische Versuchsbedingungen herrschen, kann man bei verändertem Angstverhalten innerhalb des gleichen Tierstamms Angst ableiten, die durch Modifikationen des Testsystems ausgelöst wird.

Gerade der Einfluss der Habituation ist hinsichtlich des Angstverhaltens interessant, zumal diese dazu dient, den Tieren die Scheu vor der Testsituation zu nehmen (OHL et al., 2002). So können die Ratten ihr Normalverhalten und damit auch gleichzeitig ihre kognitive Leistungsfähigkeit voll und unbeeinflusst in der Testsituation entwickeln.

Nach PRUT und BELZUNG (2003) ziehen Nager, die mit einer seitlich begrenzten offenen Fläche konfrontiert werden, spontan den Aufenthalt in den Randbereichen jedweder Aktivität in den zentralen Gebieten dieses „Open Field“ vor. Die Ratten zeigen die Thigmotaxis. Als Anzeichen dafür, dass die Tiere diese natürliche Form der Angst verlieren, gelten ein Anstieg der Zeit, die in der Flächenmitte verbracht wird und ein Sinken der Dauer, bis die Tiere zum ersten Mal das Zentrum, also das Board, betreten (PRUT und BELZUNG, 2003).

Die Angst wird im mHBT anhand der Zeit beurteilt, die in einem Durchlauf auf dem Board verbracht wird (Boardzeit) und der Latenz, mit der das Board betreten wird (Latenz zum ersten Boardbesuch). In der Phase der Habituation ist das Meideverhalten gegenüber dem Board und damit dem zentralen Bereich bei den dHB-Tieren etwas ausgeprägter als bei den mHB-Tieren. Während die letztgenannten anschließend immer mehr Zeit auf dem Board zubringen, steigert sich das Meideverhalten der dHB-Mitglieder zunächst noch. Beide Hauptgruppen verlieren bis zum Ende der Lernphase in steigendem Maße ihre Scheu davor, sich auf

dem Board aufzuhalten. Letztendlich zeigt keine der beiden Hauptgruppen im Vergleich ein insgesamt ausgeprägteres Meide- oder Angstverhalten. Die kontinuierliche Zunahme der Boardzeit bei der Gruppe mHB ist dabei aber im mHBT typisch (OHL et al., 2002). Die Hauptgruppe mHB zeigt also eine natürliche Abnahme und deshalb geringer ausgeprägtes Angstverhalten als die dHB-Tiere.

Da sich aber im Testablauf von der Habituation auf den ersten Lerntag nichts ändert, ist eine plötzlich gesteigerte, konkrete Form der Angst im dHB am ersten Lerntag unwahrscheinlich. Zumal die dHB-Tiere wesentlich mehr Fehler begehen und vor allem weniger Futterbelohnungen finden als die mHB-Tiere, kann man vermuten, dass die Tiere am ersten Lerntag und scheinbar auch in der Lernphase aufgrund mangelnder Fresserfolge durch einen hohen Grad an Verunsicherung allgemein verängstigt sind. Die Ratten finden Puffreis, der ihnen nicht als Futterbelohnung zur Verfügung steht, sondern ihnen durch das Gitter verwehrt wird. Durch den Misserfolg das gewünschte Gut zu erreichen, nehmen sie das Board als weniger angenehm wahr als die Hauptgruppe mHB, die immer erhält, was ihr vor Augen steht. Im Gegensatz dazu wird die dHB-Gruppe nicht oder nur in geringem Maße positiv bestätigt und bestärkt. Es hat den Anschein, als ob die Tiere, wenn sie im Verlauf der Lernphase mit Verbesserung der kognitiven Leistung das Prinzip erlernen, auch darin bestärkt werden, das Board als angenehm zu empfinden und daraufhin ihre Boardzeit im Durchlauf steigern. Insofern könnte angenommen werden, dass die „Time on Board“ auf den Verlauf der Lernleistung nicht deshalb Einfluss nimmt, weil sie Angst anzeigt, sondern höchstens dadurch, dass etwas mehr Zeit auf dem Board auch bedeutet, dass eine bessere Möglichkeit für die Gruppe mHB besteht, den Test zu erlernen. Da die Boardzeit aber in Prozent an der jeweiligen Gesamtzeit angegeben wird, ist ein Einfluss der Zeit als solcher nicht wahrscheinlich, da die Gruppe dHB zwar eine tendenziell geringere Boardzeit, dafür aber höhere Durchlaufdauern hat.

Die Latenz, mit der das Board zum ersten Mal im Durchlauf betreten wird, sinkt in der Regel innerhalb der Lernphase signifikant ab. Interindividuelle Unterschiede verschwinden dabei über den Zeitraum von nur wenigen Tagen auf Grund einer Habituation in der Testarena (OHL et al., 2002). In der vorliegenden Studie zeigt sich, dass die Gruppe dHB in der Phase der Habituation wesentlich schneller das Board betritt als am ersten Lerntag. Daraufhin setzt aber der typische Verlauf ein, indem die Tiere immer schneller das Board aufsuchen. Die Gruppe mHB meidet das Board in der Habituation ähnlich der anderen Hauptgruppe und betritt es in der Folge, den Erwartungen entsprechend, immer schneller. Über den gesamten Verlauf der Lernphase zeigt keine der beiden Hauptgruppen mehr Angst vor der zentralen

Fläche der Arena als die andere. Doch durch den abweichenden Verlauf vom Habituationstag auf den ersten Lerntag kann man einen Unterschied zwischen den Hauptgruppen erkennen: die dHB Ratten zeigen kurzzeitig ein stärkeres Meide- und damit Angstverhalten als die dHB-Tiere.

Warum die Latenz der Hauptgruppe dHB von der Habituationsphase zum ersten Lerntag noch zunimmt, ist fraglich. Mit einer Standardisierung von Beleuchtungsintensität und Boardhöhe sind in beiden Testsystemen die „äußeren Faktoren“ der Testumwelt, die das Meideverhalten beeinflussen können (OHL, 2003), einander angepasst. Die Unterschiede der Testmodelle sind bei der Befüllung des Boards und der verwendeten Menge an Puffreis zu suchen. Diese Parameter können als Motivation oder auch als Schwierigkeit wirken, aber kaum als Angst-einflößende Faktoren angesehen werden. Eine gesteigerte konkrete Form der Angst wird deshalb nicht als Grund der scheinbar unterschiedlichen Geschwindigkeit gesehen, mit der die Tiere anfänglich das Board aufsuchen. Es ist davon auszugehen, dass die gesteigerte Latenz der Gruppe dHB am ersten Lerntag, wie die parallel reduzierte Boardzeit, durch die Verunsicherung ausgelöst wird, die sich einstellt, wenn der Puffreis gegenwärtig, aber unverfügbar ist, sobald die Tiere ein falsches Loch öffnen.

Ein weiterer Indikator für Angst ist die Immobilität der Tiere. Dabei wird Inaktivität mit einer Inhibition des Normalverhaltens erklärt und als passives Meideverhalten angesehen (HO et al., 2002). Diese Zuordnung ist nicht eindeutig, da Inaktivität, bei der keine gespannte Körperhaltung besteht, zum Beispiel auch typisch ist für Tiere, die sich ausruhen oder schlafen (WISHAW et al., 1999). Im mHBT tritt ein solches „Ruhe“ der Tiere nur bei Anzeichen von stark verschlechtertem Allgemeinbefinden auf, die in dieser Studie jedoch nicht beobachtet werden. Der Untersucher kann außerdem erkennen, ob das Tier schwer krank oder „starr“ vor Angst ist. Die Immobilität unter Körperspannung ist nach WISHAW et al. (1999) charakteristisch für Tiere, die zwischen kurz andauernden Phasen intensivster Erkundung zeitweilig innehalten und entspricht damit auch dem Normalverhalten der Ratte.

Da keine der Gruppen in der Habituationsphase immobil ist, wird eine Beeinträchtigung des Allgemeinbefindens oder ein Angstzustand, der durch ein „Erstarren“ der Tiere zu einer Verhaltensinhibition führen würde (HO et al., 2002), ausgeschlossen. Innerhalb der Lernphase verändert sich dieses Verhalten aber, indem die Hauptgruppe dHB eine wesentlich ausgeprägtere Immobilität zeigt als die Gruppe mHB. Die dHB-Tiere demonstrieren also, verglichen mit den mHBs, ein gesteigertes Angstverhalten an den ersten Lerntagen.

Scheinbar parallel zum zunehmenden Lernerfolg der dHB-Tiere sinkt auch deren Immobilität im Durchlauf. Das zeigt einerseits, dass die Immobilität die Tiere nicht daran hindert, den Test zu erlernen. Sie bewegt sich in den Bereichen, die eine positive Entwicklung der kognitiven Leistungsfähigkeit zulassen. Andererseits wird wieder deutlich, dass die Verunsicherung mit den Indikatoren für Angst eng verknüpft ist: eben nicht eine konkrete Angst, sondern eine allgemeine Verängstigung, ein „Unverständnis“ der Situation, die sich den ungeübten Tieren bei der Suche in einem unmarkierten Loch durch das Gitter bietet, führt dazu, dass die Tiere über einen größeren Durchlaufanteil hin unbewegt verharren.

Zusammenfassend kann man sagen, dass die beiden Hauptgruppen mHB und dHB Unterschiede bezüglich der Parameter aufweisen, die als Indikatoren von Angst gelten. In dieser Studie ist es allerdings treffender, die von den dHB-Tieren anfangs demonstrierte, gesteigerte „Angst“ als „Verunsicherung“ im Testsystem dHB zu bezeichnen.

Die Form der Habituation der Untergruppen zeigt keinen Einfluss auf das Angstverhalten, beziehungsweise die Verunsicherung der Tiere gegenüber dem Testsystem. Bei dem Vergleich der Untergruppen stellt sich die Frage, ob die Gruppe KHP sich am ersten Lerntag trotz der neu angebrachten Markierungen deshalb so ähnlich wie die länger im Testsystem habituierten Untergruppen verhält, beziehungsweise nicht in einem höheren Grade verunsichert ist, weil die KHP-Tiere zwar nicht das Prinzip der Lochmarkierung kennen, aber durchaus schon an Markierungen in Form von Klebestreifen gewöhnt sind. Die Habituation nach OHL et al. (2002) dient dazu, ein „familiäres“ Klima in der Testumwelt zu schaffen, aber nicht dazu, das visuell-räumliche Testprinzip im mHBT zu erlernen. Da für alle Ratten vom ersten Habituationstag im Testsystem an Line Crossings geklebt sind, kennen sie bereits weiße Markierungen in ihrer nächsten Umgebung. Dadurch, dass die Markierungen nie frisch vor den Durchläufen angebracht werden, tritt auch kein intensiver Fremdgeruch als Störfaktor auf, indem einige Punkte der bekannten Umwelt farblich gekennzeichnet werden. Das Protokoll KHP erfüllt damit beide Ansprüche, die an die Phase der Habituation gestellt werden. Zum einen werden den Tieren keine „ungewohnten“ Faktoren in der Lernphase präsentiert, zum anderen können sie das visuell-räumliche Testprinzip gar nicht kennen lernen. Demnach ist es möglich, das Protokoll KHP als zukünftiges Testprotokoll einzuführen, ohne das Angstverhalten der Tiere zu verändern. Dass zwischen den Protokollen EHP und LHP kein Unterschied bezüglich der Parameter für Angstverhalten besteht, scheint logisch, da sie sich gleich lange in der Phase der Habituation befinden. Die Wiederholung der Lochkombination für die Gruppe EHP bewirkt gegenüber den Tieren LHP, bei denen die Lochmarkierungen wechseln, keine größere Sicherheit in ihrem Verhalten. Da auch zur Untergruppe KHP kein Unterschied

beobachtet wird, kann man davon ausgehen, dass es wichtig ist, die Tiere an alle Faktoren ihrer Testumwelt zu habituierten bevor sie den Test beginnen, es aber nicht von signifikanter Bedeutung für den Grad des Angstverhaltens ist, ob in der Habituiierung eine exakte Simulation der Testsituation am ersten Lerntag vorliegt, wenn alle Faktoren, mit denen die Tiere in der Lernphase in Kontakt kommen, als solche bekannt sind.

Sozialverhalten

Die soziale Affinität der Ratten wird im mHBT anhand des Ausmaßes des Durchlaufteils beurteilt, den sie in Gruppenkontakt verbringen. Das Interesse der Tiere gilt dabei den Artgenossen und nicht der Trennwand an sich. Ängstliche Tiere zeigen eine gesteigerte soziale Affinität und man nimmt an, dass Sozialkontakt ängstlichen Tieren hilft mit den Herausforderungen einer unbekanntem Umgebung umzugehen (OHL et al., 2001a).

In der Phase der Habituiierung suchen die dHB-Gruppen mit einer höheren Intensität den Gruppenkontakt als die mHB-Tiere. Dieses Verhalten ändert sich aber im Verlauf der Lernphase. Erst als sich die kognitiven Werte der Hauptgruppe dHB in der Lernphase zu verbessern scheinen, erweist sich die soziale Affinität dieser Hauptgruppe als relativ konstant: die Suche nach sozialem Kontakt sinkt, wenn die Lernleistung der Tiere zu steigen beginnt. Die mit zunehmendem Lernerfolg sinkende Verunsicherung der Tiere ist vermutlich neben einem anscheinend generell um diesen Zeitpunkt veränderten Verhalten als Ursache dafür zu sehen, dass die Kontaktsuche abnimmt und sich das Verhalten der beiden Hauptgruppen in den unterschiedlichen Testsystemen einander angleicht.

Es ist zu beachten, dass sich die Tiere aller Untergruppen im Durchlauf ähnlich intensiv an der Trennwand mit ihrer Gruppe beschäftigten. Weder die unterschiedliche Dauer, noch die Gestaltung der Habituiierungsphase zwischen den Tieren mit der zweitägigen Habituiierung und den KHP-Ratten nimmt also Einfluss darauf, wie ausgeprägt der Bedarf nach sozialem Kontakt ist. Das KHP-Protokoll kann demnach verwendet werden, ohne die soziale Affinität der Ratten zu steigern, indem sie mit der gleichen Intensität an Gruppenkontakt in ihrer zwar erst kürzer, aber scheinbar dennoch vertrauten Umgebung agieren. Zwischen den Untergruppen EHP und LHP wirkt sich die unterschiedlich platzierte Lochmarkierung am Habituiierungstag nicht auf die Suche nach Gruppenkontakt am ersten Lerntag aus. Wichtig erscheint also, auf Grund des ähnlichen Sozialverhaltens aller Gruppen, dass die Arena samt ihrer Bestandteile bekannt ist, aber nicht, wie lange oder ob sie exakt dem in der Habituiierung gebotenen Bild entspricht.

Explorationsverhalten

Mit dem Interesse an den Gegebenheiten lässt sich auch die Motivation einschätzen: erkundungsfreudige Tiere nehmen aktiv Informationen aus der Umwelt auf. Nach OHL et al. (2003) wird eine gerichtete Erkundung der Umgebung von der ungerichteten Exploration unterschieden.

Wie das ungerichtete oder auch allgemeine Explorationsverhalten beschaffen ist, lässt sich anhand dessen erkennen, wie oft sich ein Tier auf die Hinterbeine erhebt, um seine direkte Umgebung zu erkunden (OHL et al., 2003). In der Phase der Habituation zeigt sich die Gruppe dHB diesbezüglich wesentlich explorativer als die andere Hauptgruppe. Auch in der Lernphase bleibt die Gruppe dHB allgemein erkundungsfreudiger, „verwandelt“ aber im Verlauf der Lernphase ihre allgemeine Erkundungsfreudigkeit immer stärker in eine zielgerichtete Erkundung.

In der Lernphase steigt nämlich die zielgerichtete Exploration durch die dHB-Tiere, indem sie zunehmend mehr Löcher besuchen (OHL et al., 2003), so dass es anfänglich zu einem Anstieg der Fehler und einem Absinken der Auffindungsfehler kommt. Denn umso mehr Löcher geöffnet werden steigt auch die Wahrscheinlichkeit, den Puffreis zu finden. Ab Tag 5 erreichen sie ein stabiles Niveau und nehmen erst wieder später weniger, nämlich etwa genau so viele Lochbesuche vor, wie zu Anfang der Lernphase. Mit der steigenden Zielrichtung der Exploration steigt die Möglichkeit, den Test zu erlernen. Mit Erlernen des Tests, das heißt mit steigenden kognitiven Leistungen, nimmt die Zahl an Lochbesuchen ab, da zuvor eine größere Zahl an Löchern geöffnet wird als Markierungen vorhanden sind. Die Ratten streben nun direkt die Markierungen an. Bei der Gruppe mHB sinkt die Anzahl an Lochbesuchen über den Verlauf der Lernphase minimal ab, was den kognitiven Ergebnissen entspricht: sie handeln zwar zielgerichteter, da schließlich alle Futterbelohnungen gefunden werden, aber anfangs werden viele Fehler gemacht und am Ende der Lernphase werden noch immer wiederholt Löcher besucht.

Weiterhin wird das gerichtete Erkundungsverhalten im mHBT an der Latenz bis zum ersten Lochbesuch bemessen (OHL et al., 2003). In der Phase der Habituation, zeigen die Gruppen mHB eine eventuell geringfügig kürzere und in der Lernphase eine signifikant geringere Latenz als die Gruppen dHB. So ergibt sich insgesamt eine (anfänglich !) stärkere Zielrichtung der Explorativität für die mHB-Tiere. Den Verlauf, den die Latenz des ersten Lochbesuchs nimmt, ist bei beiden Gruppen typisch, indem sie erst kurz zunimmt, dann aber bis zum Lernende stark sinkt (OHL et al., 2002). Bei der Hauptgruppe dHB ist der anfängliche

Anstieg der Latenz von der Habituation auf den Tag 1 der Lernphase sehr ausgeprägt. Schon beim ersten Boardkontakt liegt aber ein scheinbar geringeres zielgerichtetes Erkundungsverhalten der dHB-Tiere vor.

Es ist anzunehmen, dass die größere Latenz zum Lochbesuch nicht darin begründet ist, dass die Tiere „von Natur aus“ unterschiedlich aktiv oder motiviert sind (OHL et al., 2003), denn bei der Hauptgruppe dHB besteht ja über die gesamte Lernphase ein gesteigertes ungerichtetes Explorationsverhalten. Sie ist demnach durchaus motiviert, die Umgebung zu erkunden, zeigt aber durch das anfänglich sehr späte Interesse an Board und Löchern eine gewisse Ziellosigkeit.

Mit steigender Durchlaufzahl gehen die dHB-Tiere jedoch immer zielgerichteter vor, während sie die ungerichtete Exploration der Umgebung gleichzeitig stark einschränken. Ihr Interesse verschiebt sich. Durch die anfängliche Verunsicherung, die sich einstellt, wenn die Tiere nicht die deutlich sichtbare Futterbelohnung unter dem Gitter erreichen können, gehen sie anders im Test vor als die mHB-Tiere. Sie erlernen das Testprinzip durch das ungerichtete Vorgehen gleichzeitig langsamer als die andere Hauptgruppe. Unter anderem liegt es möglicherweise also daran, dass sich ihre Lernleistung verbessert und die Unsicherheit im Test sinkt, wenn die dHB-Gruppen sich im Verlauf der Lernphase in ihrem Explorationsverhalten nahezu ihren Artgenossen im mHB anpassen.

Anhand der Erkundungsfreudigkeit, die ein Tier zeigt, lässt sich nach OHL et al. (2001a) indirekt auch bestimmen, ob Angst vorliegt. Ängstliche Ratten zeigen sich im mHBT weniger explorativ als nicht verängstigte Vergleichstiere. Da keine der beiden Hauptgruppen sich sowohl im Bereich der ungerichteten als auch der gerichteten Exploration aktiver zeigt, kann man annehmen, dass die Tiere nicht unterschiedlich starke konkrete Angst in der Testsituation zeigen, sondern, durch die Verunsicherung der Gruppe dHB, verschiedene Vorgehensweisen der Erkundung im jeweiligen Test dHB, beziehungsweise mHB entwickeln, um zum Ziel zu gelangen.

Das Vorgehen der dHB-Tiere wird nach WISHAW et al. (1999) als Basislager-Strategie („Homebase“-Strategie) bezeichnet: wenn ein Nager in ein „Open Field“-Testsystem eingesetzt wird, nimmt er den Platz als Basislager an, mit dem er zuerst in Kontakt kommt. Dieser Ort wird zum Ausruhen, „Männchen“ machen und Putzen genutzt und dient diesen Zwecken oft schon bevor das restliche Areal erkundet wird. Schließlich nimmt das Tier von dieser Basis ausgehend Erkundungsgänge entlang der Seitenwände vor. Im Zuge der weiteren Ex-

ploration kann es auch zur Verlagerung des Ausgangslagers an eine andere Stelle kommen, was daran zu sehen ist, dass sich die Aktivitäten des Tiers in einen anderen Bereich verlagern. Bezüglich des Explorationsverhaltens zeigt die unterschiedliche Art und Dauer der Habituation der Untergruppen keinen Einfluss, da die EHP-, KHP- und LHP-Ratten einer Hauptgruppe nahezu auf die gleiche Weise die Testumwelt erkunden, sei es gezielt oder ungezielt. Dass zwischen den Untergruppen EHP und LHP keine Unterschiede in der Erkundung des Testsystems bestehen, heißt, dass die Wiederholung der Lochkombination von der Habituation die Erkundungsfreudigkeit der EHP-Tiere am ersten Lerntag weder steigert noch hemmt. Ein Vor- oder Nachteil zwischen den beiden letztgenannten Protokollen wird also nicht beobachtet.

Interessant ist, dass die eintägige Habituationsphase der KHP-Tiere in dem gleichen Explorationsverhalten mündet wie die längere Habituationsphase der EHP- und LHP-Gruppen. Ein Tag scheint den Ratten zu genügen, sich so an die Testumwelt zu gewöhnen, dass sie dieselbe als „familiäre“ Umgebung oder zumindest als nicht weniger gewohnt wahrnehmen, als die Tiere, denen zum Kennenlernen der Testumgebung zwei Tage zur Verfügung stehen. Eine Habituation nach dem KHP-Protokoll scheint also dem Grundgedanken, den Tieren eine Möglichkeit zur Anpassung an die Gegebenheiten zu bieten (OHL et al., 2002), gerecht zu werden.

Erregung

Der Zeitanteil aller Putzphasen im Durchlauf lässt nach OHL et al. (2001c) erkennen, wie erregt Tiere im mHBT sind. Bei den einzelnen Untergruppen ändert sich der Erregungsgrad im Verlauf der Lernphase kaum. Die Hauptgruppe dHB ist vor allem in der Phase der Habituation und während der ersten Lerntage tendenziell erregter als die Gruppe mHB, da sie sich intensiver putzt. Vermutlich sorgen ein Misserfolg in der Futtersuche und die mangelnde positive Bestärkung in der Testumwelt dafür, dass die Gruppe dHB verunsichert und deshalb erregter ist als die Gruppe mHB.

Dass sich das unterschiedliche Erkundungsverhalten selbst auf diesen Parameter auswirkt, ist wahrscheinlich, da Putzen ein spezies-spezifischer Verhaltensbestandteil ist. Die mHB-Ratten fokussieren ihre Aufmerksamkeit und ihr Verhalten durch den raschen Lernerfolg viel früher auf gezielte Futtersuche- und Aufnahme als die dHB-Ratten, ohne verunsichert zu sein. Die dHB-Ratten demonstrieren währenddessen mit einer großen allgemeinen Erkundungsbereitschaft, der anfänglich gesteigerten Suche nach sozialem Kontakt und einer nahezu gleichblei-

benden, hohen Putzintensität das Normalverhalten von Tieren mit einer Basislager-Strategie im mHBT. Diese Strategie wählen sie auf Grund ihrer Verunsicherung und machen so auch ihre Erregung deutlich.

Außerdem werden für die Anzeichen der physiologischen Erregung und der körperlichen Aktivität im mHBT allgemein nach OHL et al. (2001c) eine stark positive Korrelation angenommen. Dies veranlasst, die Frage zu stellen, ob die höhere Erregung der Hauptgruppe dHB nicht auch kausaler Bestandteil des allgemein abweichenden Verhaltens der beiden Hauptgruppen ist. Denn die Hauptgruppe dHB weist verglichen mit der Hauptgruppe mHB lange Durchlaufdauern, eine gesteigerte lokomotorische Aktivität und mit der gesteigerten Anzahl von „Männchen“ eine hohe allgemeine körperliche Aktivität auf. Damit wäre die „Erregung“ sozusagen auch ein physiologischer Nebeneffekt der unterschiedlichen Explorationsstrategien, die eine andere Vorgehensweise im Test und Aufenthaltsdauern verschiedener Länge im Versuchsbereich bewirken.

Die Art der Habituation zeigt keinen Einfluss auf den Grad der Erregung der einzelnen Untergruppen im Test. Ein Tag Eingewöhnung im Testsystem erscheint deshalb ausreichend, die Tiere mit der Umwelt vertraut zu machen, und lässt den Sinn einer zweitägigen Habituation im Testsystem bezweifeln, da keine bessere Anpassung der Tiere der Untergruppen EHP und LHP zu bestehen scheint. Die Wiederholung der Lochkombination für die Untergruppe EHP mündet nicht in einer geringeren Erregung, beziehungsweise einem höheren Grad an Sicherheit im Test. Dies entspricht allerdings dem Grundverständnis der Aufgabe der Habituationsphase, da die Tiere nur die Umwelt (OHL et al., 2002), nicht aber das Prinzip der Verbindung von Lochmarkierung und Futterbelohnung kennen lernen und sich ihrer sicher sein sollen.

Lokomotion

In der Phase der Habituation zeigen beide Hauptgruppen die gleiche motorische Aktivität. In der Lernphase nimmt die Hauptgruppe dHB im Verlauf der Lernphase allerdings mehr Line Crossings vor. Nach der Testpause steigt die Aktivität aller Untergruppen leicht an, was auf eine gesteigerte Motivation nach der Testpause hindeuten kann. Abschließend kann man sagen, dass die Unterschiede der Aktivität zwischen den beiden Testmodellen vermutlich deshalb bestehen, weil die dHB Tiere durch ihre Verunsicherung gegenüber dem Board länger in der Box sind und durch die genauere Erkundung der Umgebung auch eine hohe allgemeine körperliche Aktivität aufweisen. Es liegt keine deutlich reduzierte Aktivität einer der Hauptgruppen im Vergleich zur „Kontrollgruppe“ vor, also keine Verhaltensinhibition, die auf

Angst hindeutet (OHL et al., 2001a). Es besteht nur ein Unterschied darin, wo die Tiere sich im Test aufhalten und wie sie im Test vorgehen, was zu einer Differenz bezüglich des Faktors der lokomotorischen Aktivität führt, da die Gruppe dHB einen größeren Durchlaufanteil in der Box und bei der Erkundung der allgemeinen Situation verbringt.

Zwischen den Untergruppen besteht kein Unterschied, so dass kein Einfluss der Habituation auf den Grad der körperlichen Aktivitätsbereitschaft zu bestehen scheint. Ohne die lokomotorische Aktivität der Ratten einzuschränken oder zu steigern, kann also die Habituation entsprechend dem Protokoll KHP durchgeführt werden.

4.2.1.5 *Motorische Parameter*

In der vorliegenden Studie werden sogenannte „Skilled Movements“, bei denen es auf den Umgang von Maul und Krallen mit bestimmten Objekten ankommt, analysiert. Die Beurteilung der motorischen Geschicklichkeit dient im mHBT dazu, Defizite zu erkennen, die anhand der spezies-spezifischen Bewegungen wesentlich schlechter zu deuten sind. Die Eigenschaften, die sie von anderen Bewegungsabläufen unterscheiden, bestehen darin, dass sie Rotationsbewegungen, unregelmäßige Bewegungsmuster und selektive Bewegungen einzelner Körperteile erfordern (WISHAW et al., 1999).

In der vorliegenden Untersuchung kann anhand dieser Parameter ein auffälliges Tier erkannt und zusätzlich kontrolliert werden, ob sich ein Einfluss durch das Testsystem zeigt. Dafür wird hier die „Fresszeit“ als Ablauf oraler Bewegungsmuster in ihrem Verlauf analysiert.

Die Dauer der Futteraufnahme wird ab dem Zeitpunkt bemessen, da die Ratte beginnt zu fressen, beziehungsweise den Puffreis zur Schnauze führt. Bei gesunden jungen Tieren sind bei diesem Parameter keine Unterschiede zu erwarten: hier kommt es auf das physiologische Zusammenspiel von Maul, Zunge und allen anderen Organen samt Muskel- und Nervensystem an, das an den Verdauungsabläufen beteiligt ist. Daher überrascht es, dass die Hauptgruppe dHB länger frisst als die Gruppe mHB. Da die Hauptgruppe dHB erregter als die Hauptgruppe mHB ist, kann die größere Erregung für längere Fresszeiten sorgen. Da die Erregung als systemisch begründet betrachtet werden kann (siehe Erregung) und exponierte Tiere, bei denen ein höherer Grad an Erregung vorliegt, tatsächlich schneller fressen als ungestörte Artgenossen, wird dieser Rückschluss für unwahrscheinlich erachtet. Nager verfügen, abhängig von der benötigten Fresszeit, über unterschiedliche Verhaltensmuster im Umgang mit Futter. Kann das Objekt schnell verspeist werden, so wird es an Ort und Stelle eingenommen. Be-

anspricht die Futteraufnahme etwas mehr Zeit, so wird das Futter an einen sicheren Ort oder zu dem „Basislager“ transportiert. Nagetiere, die in Gruppen leben, tragen ihr Futter teils bis in deren Nähe. Verhaltenstests, die sich mit diesem Aspekt beschäftigen, werden unter anderem zur Beurteilung des Explorationsverhaltens durchgeführt (WISHAW et al., 1999).

Da sich eine deutliche Annäherung der Fresszeiten unter den Hauptgruppen einstellt, alle die gleiche Futterbelohnung erhalten und alle Tiere in der Gruppe gehalten werden, sind die geringen Unterschiede wiederum in der anfänglich abweichenden Explorationsstrategie der Gruppe dHB zu vermuten. Entsprechend ihrem Verhalten, die Umgebung und mit dieser auch Board und Löcher zu erkunden, innezuhalten und Gruppenkontakt zu suchen, trägt sie den Puffreis erst zur Gruppe bevor sie ihn frisst. Der Untersucher bewertet entsprechend der Definition der PC-Befehle eine Futteraufnahme auf dem Brett, beendet diese, weil die Ratte nicht frisst, und gibt bei der tatsächlichen Futteraufnahme in der Box ein weiteres Mal diesen Befehl ein. Dadurch wird die dHB-Fresszeit künstlich um wenige Sekunden verlängert, da sich zur reinen Fresszeit nun auch die zweifache Aufnahme des Puffreises addiert. Mit Änderung der Vorgehensweise im Test, nämlich auf dem Board zu verweilen, verkürzt sich diese Zeitspanne, weil nur noch die einfache Bewertung „Food Intake“ auf dem Board vorliegt. Außerdem kann die Fressdauer der dHB-Tiere dadurch minimal verlängert sein, dass ihre Futterbelohnung nicht angefeuchtet ist wie die, welche die Gruppe mHB erhält. Damit kann das einzelne Puffreiskorn eventuell etwas härter und länger zu kauen sein. Der Untersucher achtet jedoch darauf, den Puffreis der mHB-Gruppe nur zu benetzen und „kross“ zu halten. Deshalb wird es für unwahrscheinlich erachtet, dass die anfänglichen tendenziellen Abweichungen bezüglich der Fresszeit zwischen den Hauptgruppen aus diesem Unterschied resultieren, zumal sich ja an der Vorbereitung der Futterbelohnung im Testablauf über die Lernphase nichts ändert.

Da Ratten gewöhnlich zu Gunsten einer gründlichen Erforschung einer unbekanntenen Umgebung in dieser jedes Futter ignorieren und eine Futteraufnahme außerhalb des heimatlichen Areals eine Eingewöhnung bedeutet, kann von einer guten Habituation aller Tiere im Testsystem gesprochen werden, wobei keines der Protokolle einen Vor- oder Nachteil zeigt (WISHAW et al., 1999).

4.2.1.6 *Gesamtbeurteilung der Ergebnisse*

Während die Veränderung am Bauprinzip des Boards großen Einfluss auf die Ergebnisse im Verhaltenstest nimmt, zeigt die Anwendung der drei unterschiedlichen Habituerungsprotokolle keinerlei Auswirkung.

Das Protokoll EHP erweist sich gegenüber dem Protokoll LHP nicht als nachteilig, obwohl es am ersten Lerntag zusätzlich das räumliche Gedächtnis anspricht (OHL et al., 1998) und so den Tieren im Test theoretisch Vorteil bei der Suche bieten könnte. Die Untergruppe KHP bewältigt mit dem gleichen Lernverhalten die Testaufgabe wie die beiden anderen Untergruppen, obwohl ihr in kürzerer Zeit mehr Information präsentiert wird und sie weniger Zeit hat, sich an die neue Testumgebung zu gewöhnen. Sie zeigt sich nicht stärker erregt oder verunsichert. Gleichzeitig bietet das Protokoll KHP gegenüber den Protokollen EHP und LHP den Vorteil, die Lernphase in ihrer Gänze zu erfassen. Da ein „familiäres“ Klima (OHL et al., 2002) für die KHP-Tiere geschaffen scheint und ein Erlernen des Testprinzips vor der Lernphase nicht angestrebt wird, sowie eine verkürzte Form der Habituation keine Verhaltensänderung zur Folge hat, ist das Protokoll KHP das zukünftige Habituerungsprotokoll der Wahl.

Vergleicht man die Ergebnisse der beiden Hauptgruppen mHB und dHB, so wird deutlich, dass das unterschiedliche Verhalten in einer Dimension wie dem Explorationsverhalten mit Veränderungen im gesamten Verhaltensrepertoire einhergehen kann. Damit zeigt sich die Bedeutung umfassender Verhaltensanalysen und die Gefahr der singulären Bewertung der Kognition oder einzelner Verhaltensbereiche, denn die Missachtung der möglicherweise hochgradigen Interaktion zwischen den verschiedenen Verhaltensdimensionen führt zu Fehlinterpretationen (OHL et al., 2001b).

Dadurch, dass die Gruppe dHB das gesamte Testareal von ihrem Basislager in der Box aus erkundet, dort ihre Putzphasen und Pausen verbringt und zwischen den Erkundungszügen Gruppenkontakt aufnimmt, summieren sich die Vorgänge, die während eines Durchlaufs nicht auf dem Board stattfinden. Die Boardzeit ist damit anfangs gegenüber der Hauptgruppe mHB erniedrigt, was auf gesteigerte Angst der dHBs hindeutet. Darüber hinaus kann das Innehalten zwischen den Erkundungszügen als Immobilität durch Verängstigung interpretiert werden. Allerdings kann gezeigt werden, dass die Tiere nicht unter einer konkreten Angst leiden, sondern durch eine, gegenüber der Hauptgruppe mHB, erschwerte Testsituation verunsichert werden. Eine starke Erregung und die Verunsicherung, welche anscheinend durch Testfaktoren provoziert werden, sind also nicht einem angeborenen Unterschied in der Emotionalität gleichzusetzen, der zwischen den zwei Rattengruppen des gleichen Tierstamms besteht,

sondern als testbedingtes, anfänglich gesteigertes Angstverhalten anzusehen. Dieses wird jedoch treffender als stark verunsichertes Verhalten erregter Tiere bezeichnet, das sich ändert, sobald Verunsicherung und Erregung sinken.

OHL et al. (2003) beobachteten in früheren Studien, dass zwei verschiedene Stämme einer Spezies jeweils ein unterschiedliches Explorationsverhalten entwickeln können und es dadurch zu falschen Aussagen bezüglich des Angstverhaltens und der kognitiven Leistungen kommen kann.

Bei Verhaltenstests werden innerhalb einer Studie keine unterschiedlichen Tierstämme untersucht, wenn man standardisiert bestimmte Wirkfaktoren in ihrer Auswirkung vergleicht, da unterschiedliche Stämme einer Spezies unterschiedliche Verhaltensstrategien wählen können (OHL et al., 2001b). Interindividuelle Unterschiede werden dadurch ausgeschlossen, dass eine ausreichend hohe Anzahl von Tieren randomisiert den verschiedenen Gruppen zugeteilt wird. Deshalb werfen die Ergebnisse dieser Studie die Frage auf, was die Ursache des unterschiedlichen Verhaltens ist, da es zwischen den Hauptgruppen desselben Tierstammes zur Wahl verschiedener Explorationsstrategien kommt.

Wenn Verhaltensstrategien auf Grund einer Veränderung am Testsystem entwickelt werden, können kognitive Leistungen, welche durch die verschiedenen Vorgehensweisen im Test beeinflusst werden, nicht am selben Maßstab bemessen werden. Deshalb kann man die kognitive Leistung der Hauptgruppe in dem neuen Testsystem dHB nicht im wirklichen Sinne als vermindert gegenüber den „Kontrolltieren“ mHB bezeichnen. Bei der vorliegenden Studie scheint nämlich die Veränderung am Testsystem bei den dHB-Ratten, verglichen mit den mHB-Tieren, auch eine veränderte Erkundungsstrategie auszulösen und daraus resultierend ein in mehreren Dimensionen verändertes Verhalten zu bewirken. Es zeigt sich deutlich, dass die Strategie der Gruppe mHB schnell zum Lernerfolg führt, während die Strategie der dHB-Tiere diesen zunächst sogar, durch die geringe Motivation zur zielgerichteten Exploration, förmlich verhindert.

Ein unterschiedliches Explorationsverhalten auf Grund dessen, dass die Tiere der beiden Hauptgruppen „von Natur aus“ unterschiedlich aktiv oder motiviert sind (OHL et al., 2003), ist sehr unwahrscheinlich: Insgesamt scheinen die dHB-Ratten bei der Betrachtung der Immobilität und der gerichteten exploratorischen Verhaltensparameter im Test anfangs zwar weniger aktiv. Doch neben der Tatsache, dass die gesteigerte Immobilität der dHB-Tiere diese nicht davon abhält, den Test schließlich zu erlernen, zeigen die Ratten ein reges Interesse an ihrer Umwelt.

Mit einer hohen lokomotorischen Aktivität und einer ausgeprägten Bereitschaft zur Exploration der Umgebung zeigen sie keine Verhaltensinhibition, sondern erkunden erst die Umwelt, suchen stärker sozialen Kontakt und sind erregter. Die dHB-Tiere wählen die „Basislager“-Strategie als Vorgehensweise im Test und erkunden demgemäß in „Schüben“ das Areal, wobei sie zwischenzeitig immer wieder eine unbewegte Haltung einnehmen (WISHAW et al., 1999).

Der bedeutendste Unterschied zwischen den beiden Vorgehensweisen besteht demnach in der Zielrichtung der Erkundung und der Geschwindigkeit, mit der die Futterbelohnungen gefunden werden. Die mHB-Tiere erbringen eine bessere kognitive Leistung als die dHB-Tiere. Wie schon bei der deklarativen Gedächtnisleistung (4.2.2.1) beobachtet, scheint es möglich, dass die dHB-Tiere höheren kognitiven Ansprüchen unterliegen und dadurch verunsichert sind. Diese Verunsicherung führt zu der Tendenz, das Board zu meiden. Denn die Boardzeit ist zwar schon am Tag der Habituation bei den dHB-Tieren eventuell etwas geringer als bei der Hauptgruppe mHB, doch die Latenz bis das Board zum ersten Mal betreten wird, ist an diesem Tag nahezu gleich. Die Verunsicherung der Gruppe dHB tritt also nach dem ersten Boardkontakt in der Habituationsphase auf und bewirkt, dass die Hauptgruppe dHB ein stärker ausgeprägtes ungerichtetes Explorationsverhalten, eine stärkere Affinität zur Gruppe, eine größere Erregung und ein tendenziell höhergradiges Meideverhalten gegenüber dem Board demonstriert. Dabei ist aber unklar, warum es schon in der Phase der Habituation, also bei der ersten Exposition in dem jeweiligen Testsystem zu einem Unterschied kommt, indem die Hauptgruppe dHB geringfügig später das erste Loch besucht.

Wie HODGES (1996) beschreibt, bestehen Lernaufgaben, die zur Evaluierung kognitiver Prozesse bei Versuchstieren dienen, meist darin, dass die Tiere lernen müssen, welche Orte Sicherheit, Futter oder ein anderes Gut versprechen, wobei sie unter anderem visuelle Anhaltspunkte verarbeiten. Dabei ist es wahrscheinlich, dass unabsichtlich oder unvermeidbar eine Reihe anderer kognitiver Prozesse miteinbezogen werden. In unterschiedlichen Testsystemen lösen dabei unterschiedliche Faktoren das erwünschte Verhalten der Tiere aus, wobei zwischen Aversions- und Appetenz-bedingenden Stimuli unterschieden wird.

Die von TOLMAN (1948) entwickelte und von O'KEEFE und CONWAY (1978) weiterhin belegte Theorie über das Lernverhalten bei derartigen Tests besagt, dass die Ratten eine „kognitive Landkarte“ ihrer Umwelt anlegen, die auf Fixpunkten beruht, die in der Umgebung verteilt sind und als allozentrische visuell-räumliche Anhaltspunkte bezeichnet werden. Die Stabilität der Fixpunkte scheint eine Vorbedingung für das wirkliche allozentrisch räumliche

Erlernen der Lokalisation einer Futterbelohnung zu sein, aber nicht für die Einsicht, dass ein bestimmter Reiz eine Futterbelohnung verspricht. Ratten, die lernten, dass bestimmte bewegliche Punkte in der Landkarte Futterbelohnung bedeuteten, zeigten eine deutliche Zielrichtung in der Suche und damit eine Verbindung von Futter und „Markierung“ (TOLMAN, 1948; O'KEEFE und CONWAY, 1978).

Das Hauptaugenmerk der Theorie der „kognitiven Landkarte“ bezog sich auf den Gebrauch visueller Anhaltspunkte. Doch gerade als nachtaktive Spezies sind bei der Ratte parallel eventuell verschiedene Modi der Prozessierung von Information beteiligt: räumliche, assoziative, taktile und olfaktorische Arten der unterstützenden Informationsverarbeitung sind dabei denkbar. Diese verschiedenen Ansätze, sich in der Umwelt mit der erhältlichen Information zurecht zu finden, werden häufig von festen Suchmustern der Tiere überlagert. In begrenzten Testsystemen kommt es auch zur Entwicklung von Suchstrategien. Deshalb muss geklärt sein, ob tatsächlich dieselben kognitiven Prozesse abgerufen werden, oder ob auch andere kognitive Strukturen mit einbezogen werden, bevor man Daten, die aus verschiedenen Testsystemen stammen, gerade im Hinblick auf die Kognition vergleicht. Auch eine Veränderung im „Lehransatz“ kann die kognitive Umsatzrate und damit die Lernleistung beeinträchtigen, indem etwa die Menge an Information, die verarbeitet werden muss, erhöht oder der Abstand zwischen zwei „Lektionen“ verlängert wird (HODGES, 1996).

Die veränderte Komplexität einer Lernaufgabe und Unterschiede hinsichtlich prozeduraler Anforderungen können demnach die rasche und sorgfältige Verarbeitung visuell-räumlicher Information vermehrt in Anspruch nehmen und zu sehr unterschiedlichen Lernraten führen. Eine unterschiedliche Vorgehensweise der Tiere im Test kann also dadurch entstehen, dass das Angebot der zu verarbeitenden Information verändert wird. Dabei kommt es auf die Quantität, die Qualität und die Präsentation an. Die Präsentation in den Testmodellen mHB und dHB weist keine Unterschiede auf, da die gleichen Protokolle für die Untergruppen verwendet werden.

Die Quantität der Information, welche auf die dHB-Tiere einwirkt, verursacht Verunsicherung, da mehrere Qualitäten eines einzigen Reizes verarbeitet werden müssen. Denn der Puffreis unter dem Gitter hat den „Reizcharakter“ inne, verspricht also Futterbelohnung, aber dient eben nicht zur Belohnung. Damit wird der Lernreiz in seiner Qualität verändert, Board und Puffreis werden nicht mehr ausschließlich als positiv wahrgenommen. Weil die dHB-Ratten aber dennoch eine positive Bestärkung auf dem Board erfahren, wenn sie ein markiertes Loch öffnen, da hier der Puffreis seine Qualität als Futterbelohnung beibehält, kommt es

schließlich zur Selektion des „Schlüsselreizes“, der Markierung, und damit zum Lernerfolg. Die Qualität der Information, welche die Tiere der unterschiedlichen Testsysteme in ihrer Umwelt erhalten, ist insofern unterschiedlich, als die Geruchsneutralisierung bei dem dHB durch den allgemeinen Puffreisgeruch aus allen Löchern sowie Johannisbeerlösung bewirkt wird, während zur Neutralisation im mHB ausschließlich Johannisbeerlösung dient. Diese Maßnahmen sind bei der Verwendung einer Futterbelohnung unvermeidbar, damit die Tiere die Futterbelohnung nicht durch ihren Geruch orten (OHL et al., 2002). Eine endgültige Antwort auf die Frage, ob im dHB der Geruch nach Johannisbeerlösung oder der Geruch nach Puffreis überwiegt, kann nicht erfolgen. Überwiegt im dHB der Geruch nach Puffreis, wie anzunehmen ist, so kann man vermuten, dass die dHB-Tiere im gesamten Arenabereich auf Erkundung gehen, ihre Basislager-Strategie verfolgen und lange brauchen, bis der Zusammenhang zwischen Markierung und Futterbelohnung erkannt ist, da sie den Reiz nicht eindeutig der erreichbaren Futterbelohnung zuordnen können. Sie sind durch den übermäßigen Geruch nach Puffreis quasi überreizt, ein zielgerichtetes Handeln erscheint aufgrund eines fehlenden Fokus auf das Board unmöglich, die Ratten sind verunsichert, erregt und neigen zu Übersprungshandlungen wie einem intensiven Putzverhalten.

Reizqualität und -quantität sind hier demnach möglicherweise interagierende Faktoren, welche gemeinsam für eine gesteigerte Verunsicherung der dHB-Tiere sorgen.

Die Hauptgruppe dHB verfolgt also entweder aufgrund ihrer Verunsicherung durch die anfänglich fehlende positive Bestärkung im Test oder ein qualitativ verändertes Reizspektrum eine veränderte Explorationsstrategie. Verbunden damit zeigt sie auch ein generell verändertes Vorgehen im Testbereich, verglichen mit der erfolgreichen und futterbelohnten Gruppe mHB, die nie in den „Zweifel“ kommt, Puffreis als positiv wahrzunehmen. Das Board stellt für die Gruppe mHB immer ein positives Ereignis dar; wenn die Tiere zu Anfang vergebens in unmarkierten Löchern nach Futterbelohnung suchen, werden sie nur „enttäuscht“, der Lernreiz behält jedoch seinen Charakter stets bei. Eine Verunsicherung wie bei der Gruppe dHB entsteht nicht, indem sie keinen Reiz präsentiert bekommt, den sie nicht erreichen kann. Nach diesem Prinzip „Alles- oder Nichts-zu-erhalten“ erlernen die mHB-Ratten nach anfänglichen Irrtümern schneller das Testprinzip als die Hauptgruppe dHB.

Mit dem Erlernen des Testprinzips fokussiert die Gruppe dHB ihr Interesse auf das Board, die Explorationsstrategie ändert sich. Der geringere Aufenthalt in der Box führt zu einer verminderten Anzahl von Line Crossings und einer reduzierten Erkundung der allgemeinen Testsituation: das Verhalten der dHB-Tiere passt sich also mit dem zunehmendem Lernen und

damit dem Wechsel im strategischen Vorgehen immer mehr dem Verhalten der mHB-Ratten an.

Die Tatsache, dass die Hauptgruppe dHB etwas mehr zunimmt als die Hauptgruppe mHB scheint zunächst unlogisch, da man bei verunsicherten, erregten Tieren eher eine erniedrigte als eine gesteigerte Gewichtszunahme gegenüber der „Kontrollgruppe“ erwarten würde (WISHAW et al., 1999), die dHB-Tiere ja stärker erregt sind und auch über die gleiche körperliche Gesamtaktivität verfügen wie die Hauptgruppe mHB. Zieht man aber in Betracht, dass die Hauptgruppe dHB den Futterreiz in der Arena immer wieder angeboten bekommt, sie aber selten ihren „Trieb“ befriedigen kann, indem sie nur das auf dem Gitter dargebotene Puffreiskorn auch fressen kann, so kann man vermuten, dass die dHB-Tiere ihren unbefriedigten Trieb, Nahrung aufzunehmen, intensiver als die andere Hauptgruppe ausleben, sobald sie sich wieder in ihrem Wohnabteil befinden und mehr von ihrem „Alltagsfutter“ zu sich nehmen. Dass sich der Verlauf der Gewichtsentwicklung aber vor allem an Tag sieben und acht der Lernphase zwischen den Hauptgruppen unterscheidet, an denen die Verunsicherung der Hauptgruppe dHB schon wieder abnimmt und die Tiere ihr Verhalten dem der Hauptgruppe mHB anpassen, kann darin liegen, dass die körperliche Aktivität in Form der Männchen und der allgemein verkürzten Aufenthaltsdauer in der Arena abnimmt, die Hauptgruppe dHB ihr zuvor als Ersatzhandlung dienendes Fressverhalten aber beibehält, obwohl auch sie die Futterbelohnung und damit die Triebbefriedigung auf dem Board erhält. Folglich nimmt die Hauptgruppe dHB etwas mehr zu. Diese mögliche Erklärung, kann durch eine Folgestudie erweitert werden. Diese kann zeigen, ob das unerwartete Phänomen einer differierenden Gewichtsentwicklung zwischen den Testsystemen mHBT und dHBT reproduziert werden kann und die Ursache dafür näher erforschen.

Das Prinzip, Futterbelohnung auch unter den Gittern auszulegen und diese damit für die Tiere unerreichbar zu machen, verwendeten OHL et al. (2003) schon in Studien an zwei Mäusestämmen. Das Testsystem wurde für alle Versuchstiere verwendet. Die Tiere erlernten den Test, wobei von den verschiedenen Gruppen auf Grund eines gesteigerten Angstverhaltens eines Stamms unterschiedliche Explorationsstrategien angewandt wurden. Ein Vergleich dieser Ergebnisse mit Ergebnissen unter identischen Bedingungen im Testsystem mHB wurde nicht durchgeführt. Die Studie war also in sich konsistent und verwendete sozusagen eine Informationsquelle, nämlich immer das gleiche Board.

Bei der vorliegenden Studie soll geklärt werden, ob durch Modifikation des etablierten Testsystems oder Protokolls die Lernleistung von Tieren des gleichen Stammes beeinflusst wer-

den kann. Die Möglichkeit einer Verfeinerung des mHB-Test durch eine Veränderung am Bauprinzip des Boards sollte überprüft werden. Die Umgestaltung des Testsystems wirkt sich hier so aus, dass die kognitiven Leistungen im System dHB im Gegensatz zu denen, die durch die bestehende Methode mit dem mHB ermittelt wurden, schlechter ausfallen. Ein unterschiedlich gutes Lernvermögen bei zwei Tiergruppen eines Stammes ist unwahrscheinlich, außerdem sind alle Tiere gleich alt, verfügen über ein gutes Allgemeinbefinden und sind den Gruppen randomisiert zugeteilt. Ein reduziertes Lernvermögen der dHB-Ratten ist also nicht zu vermuten. Aber da die Testsysteme mHB und dHB vermutlich unterschiedliche kognitive Anforderungen an die Tiere stellen, ist anzunehmen, dass das verzögerte Lernen der Hauptgruppe dHB darauf zurückzuführen ist, dass sie eine, für die Ratten, schwieriger gestaltete Testaufgabe bewältigt als die Hauptgruppe mHB. Auf Grund dessen sind die dHB-Ratten anfangs verunsichert und brauchen länger, um den Test zu erlernen. Die Tiere der zwei Hauptgruppen bewältigen die Testaufgabe im mHB- und dHB- Test jeweils mit anfänglich unterschiedlichen Vorgehensweisen. Dies wird deutlich, da die verschlechterte kognitive Leistungsfähigkeit und die veränderte Explorationsstrategie spezifisch für die Hauptgruppe mit dem veränderten Testsystem, dem dHB, ist.

Wodurch die Wahl einer anderen Vorgehensweise ausgelöst wird, entweder durch einen Unterschied im Informationsangebot, der sogenannten Qualität, oder durch unterschiedliche Anforderungen der Testaufgabe, der Quantität der Information, die verarbeitet werden muss, bleibt spekulativ.

4.2.2 Abschließende Betrachtung und Ausblick

In dieser Studie wurde erstmals der etablierte modifizierte Hole-Board-Test (mHB) mit einem neu entwickelten Testsystem, dem „doppelten Hole-Board“ (dHB) bei der Ratte verglichen und der Einfluss unterschiedlicher Habituerungsprotokolle untersucht.

Dabei benötigten die Tiere der dHB-Gruppe mehr Zeit, um den Test zu lernen. Die Hauptgruppe dHB nimmt im zeitlichen Verlauf etwas mehr an Körpergewicht zu als die Hauptgruppe mHB, was durch das Verhalten der Tiere in einer Ersatzhandlung einer erhöhten Futeraufnahme in der Box begründet scheint. Die Verhaltensparameter deuten auf eine Verunsicherung der dHB-Tiere und unterschiedliche Explorationsstrategien hin, mit denen die Tiere der beiden verschiedenen Hauptgruppen den Test absolvieren. Während die mHB-Tiere zielgerichtet das Board und die Löcher erkunden, richtet sich die Aufmerksamkeit der dHB-Tiere zunächst vermehrt auf die Umgebung, sie verfolgen die „Homepage-Strategie“. Die Wahl einer, gegenüber der mHB-Gruppe veränderten, Explorationsstrategie scheint in der Veränderung des Testsystems begründet zu sein. Ein Unterschied der Reizqualität scheint der Auslöser einer höheren Komplexität der Testaufgabe im dHB zu sein. Darüber hinaus wird deutlich, dass die Veränderung der kognitiven Leistungsfähigkeit und die Veränderung im Erkundungsverhalten eng miteinander verbunden sind. Da der Unterschied zwischen den Hauptgruppen durch unterschiedlich hohe kognitive Anforderungen nach der Veränderung im Testsystem ausgelöst wird, kann man sagen, dass die Hauptgruppe dHB mehr Zeit benötigt als die Gruppe mHB, um eine scheinbar schwierigere Testaufgabe zu lösen. Sie ist nicht generell gegenüber der Hauptgruppe mHB in ihrem Lernvermögen reduziert, sondern demonstriert unter veränderten Testbedingungen eine schlechtere kognitive Leistung. Obwohl die relativ lange Lernphase im dHB auf den ersten Blick nicht attraktiv scheint, könnten auch Vorteile bei zukünftigen Fragestellungen bestehen, wie zum Beispiel der Untersuchung postoperativer kognitiver Defizite. Durch die Verlängerung der Lernphase könnten eventuell subtile Gedächtnisstörungen und Verhaltensänderungen sensitiver nachgewiesen werden. Die Dauer und die Art der Habituerung der Tiere an die Testsituation beeinflusst die kognitive Leistungsfähigkeit und das Verhalten der Untergruppen nicht, so dass das Protokoll KHP mit der eintägigen Habituerung im Testsystem als zukünftiges Habituerungsprotokoll vorgeschlagen wird, da es eine umfassende Aufzeichnung der Lernphase und gleichzeitig eine Verkürzung der gesamten Versuchsphase um einen Tag ermöglicht.

5 Zusammenfassung

Vergleichsuntersuchung zu Kognition und Verhalten im modifizierten versus doppelten Hole-Board-Test anhand verschiedener Habituerungsprotokolle bei der Ratte

Mit Verhaltenstests können die verschiedenen Gedächtnissysteme im Tiermodell analysiert werden. Dabei ist es möglich, unterschiedliche kognitive Prozesse in ihrer Funktionalität zu bewerten. Für die Evaluierung der erbrachten Testleistung ist die Kenntnis des speziesspezifischen Verhaltens von ebenso großer Bedeutung wie die Wahl eines geeigneten Testsystems. Zu der Analyse von Verhalten und Kognition bei der Ratte steht eine Vielzahl von etablierten Verhaltenstests bereit, die nicht nur über verschiedenen Vorzüge sondern auch Nachteile verfügen. Mit dem modifizierten Hole-Board-Test nach Ohl (mHB) besteht jedoch eine gute Möglichkeit, verschiedene Verhaltensdimensionen in ihrer Interaktion zu erfassen sowie die kognitive Leistung darzustellen. Die vorliegende Studie wurde geplant, um den Einfluss der Habituerung auf Verhalten und Leistung in diesem Test zu überprüfen und um ein neu entwickeltes Testsystem, das doppelte Hole-Board (dHB), auf seine praktische Einsatzfähigkeit zu untersuchen.

36 testnaive männliche Sprague-Dawley Ratten wurden in zwei Hauptgruppen eingeteilt, die in zwei verschiedenen Testsystemen untersucht wurden. Die zwei Hauptgruppen wurden jeweils randomisiert in drei weitere Untergruppen aufgeteilt. Die Habituerungsphase wurde gemäß der Dauer und Art der Gewöhnung der Tiere an das entsprechende Board in die drei Protokolle „Etabliertes“ (EHP), „Kurzes“ (KHP) und „Langes Habituerungsprotokoll“ (LHP) unterschieden. Die Tiere in dem jeweiligen Testsystem wurden mit Hilfe eines Observationsprogramms analysiert und anhand verschiedener Parameter für Kognition, Verhalten und Motorik bewertet.

Die Ratten der Hauptgruppe mHB benötigten mit der achttägigen Lernphase weniger Zeit, den Test zu lernen, als die Hauptgruppe dHB mit einer 13-tägigen Lernphase. Die dHB-Tiere zeigten, verglichen mit der Hauptgruppe mHB, im Verlauf der Lernphase eine geringfügig gesteigerte Gewichtsentwicklung, was im Verhalten der Tiere begründet scheint. Außerdem konnte zwischen den beiden Hauptgruppen ein unterschiedliches Explorationsverhalten beobachtet werden, als dessen Auslöser die Verunsicherung der Hauptgruppe dHB durch die Modifikation des mHB anzusehen ist. Darauf deuten auch die gegenüber der Hauptgruppe mHB gesteigerten dHB-Parameter für Angst und Erregung hin. Während die mHB-Gruppe zielgerichtet das Board und die Löcher explorierte, erkundeten die Tiere der dHB-Gruppe vermehrt

die Umgebung und zeigten ein generell verändertes Verhalten, das sich im Verlauf der Lernphase mit einer zunehmenden Sicherheit der Tiere gegenüber der Testaufgabe immer mehr dem Verhalten der anderen Hauptgruppe anglich. Die Habituation beeinflusste die kognitive Leistungsfähigkeit und das Verhalten der Tiere zu keinem Zeitpunkt, so dass eine eintägige Habituation ohne Lochmarkierung als ausreichend erscheint, die Ratten an ihre Umgebung zu gewöhnen und wichtige Vorteile gegenüber den anderen Habituationsprotokollen bietet. Zum einen kann die Lernphase vom ersten Kontakt mit dem visuellen Testprinzip an aufgezählt werden. Zum anderen kann gleichzeitig, nicht zuletzt im Sinne des Tierschutzes, ein Tag im Versuch eingespart werden.

Zusammenfassend beschreibt die vorliegende Studie erstmalig ein neu entwickeltes Testsystem (dHB), das geeignet ist, Kognition und Verhalten der Ratte zu untersuchen. Da unterschiedlich hohe kognitive Anforderungen an die Tiere der Versuchssysteme mHB und dHB gestellt werden, unterscheiden sich die jeweils benötigten Lernphasen in ihrer Dauer. Ferner können über die längere Lernphase mit dem dHB eventuell subtile Veränderungen von Gedächtnis und Verhalten sensitiver nachgewiesen werden.

6 Summary

“Comparative study of cognition and behaviour in the modified versus double hole-board-test by different habituation schemes of the rat”

Different memory systems can be analysed in animal models by using behavioural tests. It is possible to evaluate the functionality of different cognitive processes. The knowledge of the species-specific behaviour is as important as the choice of an adequate test model to assess the recorded test performance. There is a multitude of behavioural test models established to analyse cognition and behaviour in rats. The modified hole-board-test by Ohl (mHB) is a good option to comprehensively study different dimensions of behaviour interacting with each other as well as to reflect the cognitive performance. The present study has been designed to test the influence of the habituation period on behaviour and performance in this system and to evaluate a new developed test system, the double hole-board (dHB).

36 male Sprague-Dawley rats naïve to any testing were divided into two main groups which were analysed in two different test systems. These two main groups were further subdivided in the three subgroups, according to the duration and mode to habituate the animals: the “Established Habituation Scheme” (EHP), the “Long Habituation Scheme” (LHP) and the “Short Habituation Scheme” (KHP). The animals` performance in the particular systems was analysed by means of a special software for collection, analysis and presentation of observational data with parameters for behaviour, cognition and motor skills.

It took mHB rats eight days time to learn the test paradigm whereas dHB rats needed 13 days. Over the course of the learning period the dHB group showed a slightly increased weight gain in comparison with the main group mHB, which seems to be due to the animals` behaviour. Moreover, a different exploratory behaviour between the two main groups could be observed. This could be triggered by the uncertainty of the main group dHB derived from the modification of the mHB-test. This theory is supported by an increased rate of fear and arousal in the dHB-group. Whereas the main group mHB explored the board and holes in a directed way, dHB animals investigated the environment overall. The behaviour of this group was generally changed, but adapted more and more to the behaviour of the mHB group during the course of the learning period. The mode of habituation had no impact on animals` behaviour at any time. Therefore the one-day scheme without marking the holes seems sufficient for the rats to get

used to their environment and additionally offers important advantages over the other habituation schemes. On the one hand there is the possibility to record data effective from the first contact with the visuo-spatial task in the learning period. On the other hand, in terms of animal welfare, one day of testing can be saved.

In summary, the present study describes the dHB which is capable of analysing cognition and behaviour in the rat. Since different cognitive demands are to be met by the animals in the two different systems mHB and dHB, the learning periods of the two main groups are of different duration.

Furthermore it may be possible to detect subtle changes of memory performance and behaviour more sensitively with the longer learning period with the dHB.

7 Literaturverzeichnis

ANDERSON K, COYLE F, O`STEEN W

Retinal degeneration produced by low intensity colored light
Exp Neurol 1972; 35: 233-8

Bericht über die multilaterale Konsultation der Vertragsparteien zum Europäischen Übereinkommen, Anhang (IV). 1997, Straßburg

BADDELEY A

Working memory
C R Acad Sci III 1998; 321:167-73

BADDELEY A

Working memory and language: an overview
J Commun Disord 2003a; 36:189-208

BADDELEY A

Working memory: looking back and looking forward
Nat Rev Neurosci 2003b; 4:829-39

BERTON O, RAMOS A, CHAOULOFF F, MORMEDE P

Behavioral reactivity to social and nonsocial stimulations: a multivariate analysis of six inbred rat strains
Behav Genet 1997; 27:155-66

BLANCHARD D, SPENCER R, WEISS S, BLANCHARD R, MCEWEN B, SAKAI R

Visible burrow system as a model of chronic stress: behavioral and neuroendocrine correlates
Psychoneuroendocrinology 1995; 20:117-34

BORG E

Auditory thresholds in rats of different age and strain. A behavioural and electrophysiological study
Hear Res 1982; 8:101-15

BROWN

Preferences of pre- and post-weaning Long-Evans rats for nest odours
Physiol Behav 1982; 29:865-74

BOTHSCHAFTER S

Auswirkungen der Narkose mit Isofluran auf die kognitive Leistungsfähigkeit von 3 Monate alten, transgenen Alzheimer-Mäusen und ihren gesunden Wurfgeschwistern
Diss. med. vet., LMU-München, 2005

BÜTTNER D, WOLLNIK F

Strain-differentiated circadian and ultradian rhythms in locomotor activity of the laboratory rat
Behav Gen 1984; 14(2):137-52

CARR W, LANDAUER M, SONSINO R

Responses by rats to odors from living versus dead conspecifics

Behav Neural Biol 1981; 31: 67-72

CALABRESE P, MARKOWITSCH HJ

[Memory and brain--neurobiological correlates of memory disturbances]

Fortschr Neurol Psychiatr 2003; 71:211-9

CLARK RE, MANNS JR, SQUIRE LR

Classical conditioning, awareness, and brain systems

Trends Cogn Sci 2002; 6:524-31

CONLEE J, GERITY L, WESTENBERG I, CREEL D

Pigment dependent differences in the stria vascularis of albino and pigmented guinea pigs and rats

Hear Res 1994; 72:108-24

DECKER MW

Animal models of cognitive function

Crit Rev Neurobiol 1995; 9:321-43

DEWSBURY D

Studies of rodent-human interactions in animal psychology

In: The inevitable bond - examining scientist-animal interactions (Hrsg.: DAVIS H, BALFOUR D)

Cambridge, Cambridge University Press, 1992: 27-43)

D'MELLO GD, STECKLER T

Animal models in cognitive behavioural pharmacology: an overview

Brain Res Cogn Brain Res 1996; 3:345-52

DÖRING D

Käfigraumaussnutzung bei Laborratten

Diss. med. vet., Freie Universität Berlin, 1999

ESTEP D, HETTS S

Interactions, relationships, and bonds: the conceptual basis for scientist-animal relations

In: The inevitable bond - examining scientist-animal interactions (Hrsg.: DAVIS H, BALFOUR D)

Cambridge, Cambridge University Press, 1992: 6-26

FERREIRA A, HANSEN S

Sensory control of maternal aggression in *rattus norvegicus*

J Comp Psychol 1986; 100:173-7

FILE SE, WARDILL AG

The reliability of the hole-board apparatus

Psychopharmacologia 1975; 44:47-51

GALEF B, BUCKLEY L

Use of foraging trails by Norway rats
Anim Behav 1996; 51:765-71

GALEF B, WHITE D
Socially acquired information reduces Norway rats latencies to find food
Anim Behav 1997; 54:705-14

GALEF B, WISHKIN E, BIELAVSKA E
Interaction with demonstrator rats changes observer rats affective responses to flavors
J Comp Physiol Psychol 1997; 111:393-8

GARCIA-BRULL P, NUNEZ J, NUNEZ A
The effects of scents on the territorial and aggressive behaviour of laboratory rats
Behav Proces 1993; 29:25-36

GEAL-DOR M, FREEMAN S, LI G, SOHMER H
Development of hearing in neonatal rats: air and bone conducted ABR thresholds
Hear Res 1993; 69:236-41

GEBHARDT G
In: Guidelines for the well-being of rodents in research (Hrsg.: GUTTMAN H)
Bethesda: Scientist Center for Animal Welfare, 1990: 60-6

GHEUSI G, GOODALL G, DANTZER R
Individually distinctive odours represent individual conspecifics in rats
Anim Behav 1997; 53:935-44

GOLANI I, BENJAMINI Y, EILAM D
Stopping behavior: constraints on exploration in rats (*Rattus norvegicus*)
Behav Brain Res 1993; 53:21-3

GOLDMAN-RAKIC PS
Regional and cellular fractionation of working memory
Proc Natl Acad Sci U S A 1996; 93:13473-80

HALL C
Emotional behavior in the rat. I. Defaecation and urination as measures of individual differences in emotionality
J Comp Physiol Psychol 1934; 18:385-403

HARADA S, YAMAGUCHI K, KANEMARU N, KASAHARA Y
Maturation of taste buds on the soft palate of the neonatal rat
Physiol Behav 2000; 68:333-9

HEFFNER H, HEFFNER C, CONTOS C, OTT T
Audiogram of the hooded Norway rat
Hear Res 1994; 73:244-7

HIRSJÄRVI P, JUNNILA M, VÄLIAHO T
Gentled and non-handled rats in stressful open-field situation; differences in performance
Scand J Psychol 1990; 31:259-65

HO Y, EICHENDORFF J, SCHWARTING R
Individual response profiles of male Wistar rats in animal models for anxiety and depression
Behav Brain Res 2002; 136:1-12

HODGES H
Maze procedures: the radial-arm and water maze compared
Brain Res Cogn Brain Res 1996; 3:167-81

HOFECKER G, KMENT A, NIEDERMÜLLER H, SAID H
Assesment of activity patterns of one- and two year old rats by electronic recording
Exp Geront 1974; 9:109-14

HOFER M, MASMELA J, BRUNELLI S, SHAIR H
The ontogeny of maternal potentiation of the infant rats' isolation call
Dev Psychobiol 1998; 33:189-201

HOL T, VAN DEN BERG C, VAN REE M, SPRUIJT
Isolation during the play period in infancy decreases adult social interactions in rats
Behav Brain Res 1999; 100:91-7

HOLLMANN P
Kleinsäuger als Heimtiere
In: Das Buch vom Tierschutz (Hrsg.: SAMBRAUS HH, STEIGER A)
Stuttgart: Verlag Enke, 1997: 308-62

HUGHES C
Observer influence on automated open field activity
Physiol Behav 1978; 20:481-5

IVINSKIS J
A study of open field measures
Aust J Psychol 1970; 22:175-84

JUHR N
Verhaltensindikatoren für Wohlbefinden
Tierlaboratorium 1990; 13:192-220

KOLB B
Functions of the frontal cortex of the rat: a comparative review
Brain Res 1984; 320:65-98

KOLB B, ROBBINS T
The rodent prefrontal cortex
Behav Brain Res 2003; 146:1-2

KOPP C, VOGEL E, MISSLIN R
Comparative study of emotional behavior in three inbred strains of mice
Behav Process 1999; 47:161-74

KURISU K, SAWAMOTO O, WATANABE H, ITO A

Sequential changes in the harderian gland of rats exposed to high intensity light
Lab Anim Sci 1996; 46:71-6

KVETNANSKY R, SUN C, LAKE C, THOA N, TORDA T, KOPIN I
Effect of handling and forced immobilization on rat plasma levels of epinephrine, norepineph-
rin and dopamine-hydroxylase
Endocrinology 1978; 103:1868-74

LAWLOR M
in: Comfortable quarters for laboratory animals (Hrsg.: REINHARDT V)
Washington, D.C.: Animal Welfare Institute, 2002: 26-32

LEVINE S
Infantile experience and the maturation of the pituitary adrenal gland
Science 1957; 126:405

LINDNER MD
Reliability, distribution, and validity of age-related cognitive deficits in the Morris water
maze
Neurobiol Learn Mem 1997; 68:203-20

LISTER RG
Ethologically-based animal models of anxiety disorders
Pharmacol Ther 1990; 46:321-40

MACKAYKAY-SIM A, LAING D
The sources of odors from stressed rats
Physiol Behav 1981; 27: 511-3

MANNS M
Verursacht die Induktion zerebraler Stickoxidsynthasen kognitive Leistungsstörungen wäh-
rend einer systemischen Infektion? - Experimentelle Untersuchungen an der Ratte -
Diss. med. vet., LMU-München, 2001

MAURER B
Auswirkungen von "Gentling"-Programmen auf das Verhalten von Laborratten (Wistar)
Diss. med. vet., LMU-München, 2005

MOLTZ H, LEE T
The maternal pheromone of the rat: identity and functional significance
Physiol Behav 1981; 26:301-6

NUNEZ J, FERRE` P, ESCORIHUELA R, TOBENA A, FERNANDEZ-TERUEL
Effects of postnatal handling of rats on emotional, HPA-axis, and prolactin reactivity to nov-
elty and conflict
Physiol Behav 1996; 60:1355-9

O`KEEFE J, CONWAY D
Hippocampal place units in the freely moving rat: why thwy fire where they fire
Exp Brain Res 1978; 31: 573-90

- OHL F
Testing for anxiety
Clin Neurosci Res 2003; 3:233-8
- OHL F, FUCHS E
Memory performance in tree shrews: effects of stressful experiences
Neurosci Biobehav Rev 1998; 23:319-23
- OHL F, FUCHS E
Differential effects of chronic stress on memory processes in the tree shrew
Brain Res Cogn Brain Res 1999; 7:379-87
- OHL F, HOLSBOER F, LANDGRAF R
The modified hole board as a differential screen for behavior in rodents
Behav Res Methods Instrum Comput 2001a; 33:392-7
- OHL F, KECK ME
Behavioural screening in mutagenised mice-in search for novel animal models of psychiatric disorders
Eur J Pharmacol 2003; 480:219-28
- OHL F, OITZL MS, FUCHS E
Assessing cognitive functions in tree shrews: visuo-spatial and spatial learning in the home cage
J Neurosci Meth 1998; 81:35-40
- OHL F, ROEDEL A, BINDER E, HOLSBOER F
Impact of high and low anxiety on cognitive performance in a modified hole board test in C57BL/6 and DBA/2 mice
Eur J Neurosci 2003; 17:128-36
- OHL F, ROEDEL A, STORCH C, HOLSBOER F, LANDGRAF R
Cognitive performance in rats differing in their inborn anxiety
Behav Neurosci 2002; 116:464-71
- OHL F, SILLABER I, BINDER E, KECK ME, HOLSBOER F
Differential analysis of behavior and diazepam-induced alterations in C57BL/6N and BALB/c mice using the modified hole board test
J Psychiatr Res 2001b; 35:147-54
- OHL F, TOSCHI N, WIGGER A, HENNIGER MS, LANDGRAF R
Dimensions of emotionality in a rat model of innate anxiety
Behav Neurosci 2001c; 115:429-36
- OLTON D, BECKER J, HANDELMANN G
Hippocampus, space, and memory
Behav Brain Sci 1979; 2:313-65
- OTTO T, COUSENS G, RAJEWSKI K
Odor-guided fear conditioning in rats: acquisition, retention, and latent inhibition
Behav Neurosci 1997; 111:1257-64

PELLIS S, PELLIS V

The prejuvenile onset of play fighting in laboratory rats (*Rattus norvegicus*)

Dev Psychobiol 1997; 31:193-205

PELLOW S, CHOPIN P, FILE SE, BRILEY M

Validation of open:closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat

J Neurosci Meth 1985; 14:149-67

PEREZ J, PERENTES E

Light-induced retinopathy in the albino rat in long-term studies

Exp Toxic Pathol 1994; 46:229-35

PERSCH A

Die Bedeutung des Explorationsverhaltens bei Versuchstieren

Tierärztl Umschau 1994; 49:539-45

PODBERSCEK AL, BLACKSHAW JK, BEATTIE AW

The effects of repeated handling by familiar and unfamiliar people on rabbits in individual cages and group pens

Appl Anim Behav Sci 1991; 28:365-73

PRUT L, BELZUNG C

The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review

Eur J Pharmacol 2003; 463:3-33

RAUTH-WIDMANN B

Ratten, Mäuse und Rennmäuse als Heimtiere: Biologie, Haltung und Pflege von Heimtierratten, Heimtiermäusen und Mongolischen Rennmäusen.

Verlag Oertel und Spörer, Reutlingen, 1999

ROCHE J, TIMBERLAKE W

The influences of artificial paths and landmarks on the foraging behavior of Norway rats

Anim Learn Behav 1998; 26:76-84

RUDY J, CHEATLE

Odor-aversion learning in neonatal rats

Science 1977; 198:845-6

SAIBABA P, SALES G, STODULSKI G, HAU J

Behaviour of rats in their home cages: daytime variations and effects of routine husbandry procedures analysed by time sampling techniques

Lab Anim 1996; 30:13-21

SAMBRAUS HH

Normalverhalten und Verhaltensstörungen

In: Das Buch vom Tierschutz (Hrsg.: SAMBRAUS HH, STEIGER A)

Stuttgart: Verlag Enke, 1997: 57-69

SCHLINGMANN F, PEREBOOM W, REMIE R
The sensitivity of albino and pigmented rats to light
Anim Technol 1993; 44:71-83

SCOTT J
The phenomenon of attachment in human-nonhuman relationships
In: The inevitable bond - examining scientist-animal interactions (Hrsg.: DAVIS H,
BALFOUR D)
Cambridge, Cambridge University Press, 1992: 72-92

SHARP P, LAREGINA M, SUCKOW M
The laboratory rat
CRC Press, Boca Raton, Boston, London, New York, Washington, D.C., 1998

SQUIRE LR
Memory and the hippocampus: a synthesis from findings with rats, monkeys, and humans
Psychol Rev 1992; 99:195-231

SQUIRE LR
Memory systems
C R Acad Sci III 1998; 321:153-6

SQUIRE LR, ZOLA SM
Structure and function of declarative and nondeclarative memory systems
Proc Natl Acad Sci U S A 1996; 93:13515-22

STARKER L
Neurologische und kognitive Leistungsfähigkeit nach tief Hypothermem Kreislaufstillstand
bei der Ratte - Etablierung eines neuen Modells
Diss. med. vet., LMU-München, 2005

STECKLER T, MUIR JL
Measurement of cognitive function: relating rodent performance with human minds
Brain Res Cogn Brain Res 1996; 3:299-308

STÖTZER H, WEISSE I, KNAPPEN F, SEITZ R
Die Retinadegeneration der Ratte
Arzn Forsch 1979; 20: 811-7

TAYLORSPENCE J, MAHER B
Handling and noxious stimulation of the albino rat: I. effects on subsequent emotionality
J Comp Physiol Psychol 1962; 55:247-51

THIELS E, ALBERTS J, CRAMER C
Weaning in rats: II. pup behavior patterns
Dev Psychobiol 1990; 23:495-510

THOMAS D, BARFIELD R
Ultrasonic vocalization of the female rat (*Rattus norvegicus*) during mating
Anim Behav 1985; 33:720-5

THOMAS D, HOWARD S, BARFIELD R

Analysis of ultrasonic vocalizations emitted by intruders during aggressive encounters among rats (*Rattus norvegicus*)

J Comp Physiol Psychol 1983; 97:201-6

TIERÄRZTLICHE VEREINIGUNG FÜR TIERSCHUTZ e.V.

CODEX VETERINARIUS

<http://www.tierschutz-tvt.de/codx.html>; 28.07.2005

TOLMAN E

Cognitive maps in rats and men

Psychol Rev 1948; 55:189-208

TSCHANZ B

"Artgemäß" und "verhaltensgerecht" - ein Vergleich

Prakt Tierarzt 1984; 3:211-24

TULVING E, MARKOWITSCH HJ

Episodic and declarative memory: role of the hippocampus

Hippocampus 1998; 8:198-204

WEININGER O, MCCLELLAND W, ARIMA R

Gentling and weight gain in the albino rat

Canad J Psychol 1954; 8:147-51

WEISS J, MAESS J, NEBENDAHL K (Hrsg.)

Haus- und Versuchstierpflege

Enke Verlag, Stuttgart, 2003: 69-75; 202-4

WETTERBERG L, GELLER E, YUWILER A

Harderian gland: an extraretinal photoreceptor influencing the pineal gland in neonatal rats?

Science 1970; 167: 884-5

WIESNER, RIBBECK

In: Lexikon der Veterinärmedizin

Enke im Hippokrates Verlag GmbH, Stuttgart, 2002

WISHAW I, HAUN F, KOLB B

Analysis of behavior in laboratory rodents

In: Modern Techniques in Neuroscience (Hrsg.: WINDHORST U JH)

Springer-Verlag, Berlin, 1999: 1243-75

8 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Protokolle der Untergruppen (EHP, KHP, LHP) des modifizierten (mHB) und doppelten Hole-Boards (dHB) mit Unterschieden an Tag H1, H2 und an Tag 1 der Lernphase.....	34
Tabelle 2: Liste der Lochkombinationen für die Markierung der drei befüllten Löcher am zweiten Tag der Habituation (Tag H2), an den Tagen der Lernphase und an den Tagen der Wiederholungstests.....	37
Tabelle 3: Verhaltenskodierung für das Erstellen des Analyseprotokolls am PC.....	39
Tabelle 4: Physiologische Parameter: Gewichtsveränderungen der Gruppe mHB in % zum Ausgangswert	44
Tabelle 5: Physiologische Parameter: Gewichtsveränderungen der Gruppe dHB in % zum Ausgangswert	44
Tabelle 6: Kognitive Parameter (Kognitive Leistungsfähigkeit): Gesamtzeit (Time Complete) der Gruppe mHB in Sekunden.....	48
Tabelle 7: Kognitive Parameter (Kognitive Leistungsfähigkeit): Gesamtzeit (Time Complete) der Gruppe dHB in Sekunden.....	48
Tabelle 8: Kognitive Parameter (deklaratives Gedächtnis): Gesamtfehler (Wrong Choice total) der Gruppe mHB	51
Tabelle 9: Kognitive Parameter (deklaratives Gedächtnis): Gesamtfehler (Wrong Choice total) der Gruppe dHB	51
Tabelle 10: Kognitive Parameter (deklaratives Gedächtnis): Auffindungsfehler (Omission Error) der Gruppe mHB.....	54
Tabelle 11: Kognitive Parameter (deklaratives Gedächtnis): Auffindungsfehler (Omission Error) der Gruppe dHB.....	54
Tabelle 12: Kognitive Parameter (Arbeitsgedächtnis): Wiederholungsfehler (Repeated Choice) der Gruppe mHB	57
Tabelle 13: Kognitive Parameter (Arbeitsgedächtnis): Wiederholungsfehler (Repeated Choice) der Gruppe dHB	57
Tabelle 14: Verhaltensparameter (Angst): Boardzeit (Time on Board) der Gruppe mHB	62
Tabelle 15: Verhaltensparameter (Angst): Boardzeit (Time on Board) der Gruppe dHB	62
Tabelle 16: Verhaltensparameter (Angst): Latenz zum Boardbesuch (Latency first Board Entry) der Gruppe mHB	66
Tabelle 17: Verhaltensparameter (Angst): Latenz zum Boardbesuch (Latency first Board Entry) der Gruppe dHB	66
Tabelle 18: Verhaltensparameter (Angst): Immobilität (Immobility) der Gruppe mHB.....	70
Tabelle 19: Verhaltensparameter (Angst): Immobilität (Immobility) der Gruppe dHB.....	70
Tabelle 20: Verhaltensparameter (Soziale Affinität): Gruppenkontakt (Group Contact) der Gruppe mHB.....	75
Tabelle 21: Verhaltensparameter (Soziale Affinität): Gruppenkontakt (Group Contact) der Gruppe dHB.....	75
Tabelle 22: Verhaltensparameter (Exploration): Latenz zum ersten Lochbesuch (Latency first Hole Visit) der Gruppe mHB.....	80
Tabelle 23: Verhaltensparameter (Exploration): Latenz zum ersten Lochbesuch (Latency first Hole Visit) der Gruppe dHB.....	80
Tabelle 24: Verhaltensparameter (Exploration): Lochbesuche (Number of Hole Visits) der Gruppe mHB.....	84

Tabelle 25: Verhaltensparameter (Exploration): Lochbesuche (Number of Hole Visits) der Gruppe dHB.....	84
Tabelle 26: Verhaltensparameter (Exploration): Männchen (Rearings) der Gruppe mHB	88
Tabelle 27: Verhaltensparameter (Exploration): Männchen (Rearings) der Gruppe dHB	88
Tabelle 28: Verhaltensparameter (Erregung): Putzen (Grooming) der Gruppe mHB	93
Tabelle 29: Verhaltensparameter (Erregung): Putzen (Grooming) der Gruppe dHB	93
Tabelle 30: Motorische Parameter (Lokomotorische Aktivität): Line Crossings der Gruppe mHB.....	98
Tabelle 31: Motorische Parameter (Lokomotorische Aktivität): Line Crossings der Gruppe dHB.....	98
Tabelle 32: Motorische Parameter (Motorische Geschicklichkeit): Fresszeit (time per food intake) der Gruppe mHB	101
Tabelle 33: Motorische Parameter (Motorische Geschicklichkeit): Fresszeit (time per food intake) der Gruppe dHB	101
Tabelle 34: Zusammenfassung der signifikanten Ergebnisse der einzelnen Analysebereiche	102

Abbildung 1: Subsysteme des Langzeitgedächtnisses mit entsprechenden neuronalen Funktionsarealen (modifiziert nach (SQUIRE, 1998)).....	3
Abbildung 2: Modell des Arbeitsgedächtnisses , bestehend aus mehreren Komponenten (modifiziert nach (BADDELEY, 2003a)).....	6
Abbildung 3: Schema des Open-Field-Tests: Aufteilung der kreisförmigen Freifläche in peripheren und zentralen Bereich, sowie mögliche Einsatzorte für die Ratte (modifiziert nach Prut und Belzung, 2003)	16
Abbildung 4: Schema des Elevated-Plus-Maze: plusförmige Anordnung von zwei offenen und geschlossenen Armen, die das Tier vom Zentrum aus betreten kann. Ansicht von oben (modifiziert nach Ohl, 2003).	17
Abbildung 5: Schema des Radial-Arm-Maze: Zentrum und acht Arme. Vom Ort des Einsetzens (Blockpfeil) aus, kann die Ratte jeden Arm betreten (kleine Pfeile) (modifiziert nach Decker, 1995).....	18
Abbildung 6: Schema des Morris-Water-Maze: Ratte (hier beliebig eingesetzt) auf der Suche nach der Plattform, die sich in der freien Wasserfläche befindet. Zuerst Aufenthalt im Randbereich (modifiziert nach Lindner, 1997).	19
Abbildung 7: Schema des Testbereichs im modifizierten Hole-Board nach Ohl mit Wänden, Randbereich, Zentralbereich (Board mit Futterlöchern) und Line Crossing. Darstellung einer Strecke, die von einer Ratte zurückgelegt werden könnte (Pfeil): Überquerung von zwei Line Crossings, betreten des Zentrums (Board), Verlassen des Boards, Aufenthalt in der Box (modifiziert nach Ohl, 2001a)	20
Abbildung 8: Versuchskäfig von innen mit Nippeltränken und Futterraufen an der Vorderseite (Aufnahme: Arbeitsgruppe „Experimentelle Anaesthesiologie“, Klinikum rechts der Isar, München)	22
Abbildung 9: Grafik der randomisierten Gruppeneinteilung der 36 Sprague-Dawley Ratten in zwei Hauptgruppen (modifiziertes Hole-Board, doppeltes Hole-Board mit je 18 Tieren) mit jeweils 3 Untergruppen (je 6 Tiere), die sich im angewandten Habitierungsprotokoll unterscheiden.....	23
Abbildung 10: Schema der Seitenansicht des Versuchskäfigs: PVC-Box mit Nippeltränke und Futterraufe. Als Deckel dient ein Drahtgitter.	24
Abbildung 11: Abgetrennter Versuchskäfig: Unterteilung in Wohnabteil und Testarena (Aufnahme: Arbeitsgruppe „Experimentelle Anaesthesiologie“, Klinikum rechts der Isar, München).....	25
Abbildung 12: Ratte, die ein markiertes Loch öffnet (Aufnahme: Arbeitsgruppe „Experimentelle Anaesthesiologie“, Klinikum rechts der Isar, München).....	26
Abbildung 13: Schema des modifizierten Hole-Boards (mHB) mit standardisierter Lochnummerierung	27
Abbildung 14: Futterbelohnung im Loch (Aufnahme: Arbeitsgruppe „Experimentelle Anaesthesiologie“, Klinikum rechts der Isar, München)	28
Abbildung 15: Schema des doppelten Hole-Boards (dHB) im Querschnitt, bestehend aus oberem und unterem Board, Gitter, Deckel und Sprungfeder. Es werden die Markierung und mit Futterbelohnung gefüllte Löcher gezeigt.	29
Abbildung 16: Bestandteile des doppelten Hole-Boards (Aufnahme: Arbeitsgruppe „Experimentelle Anaesthesiologie“, Klinikum rechts der Isar, München)	30
Abbildung 17: dHB, Boardunterteil befüllt (Aufnahme: Arbeitsgruppe „Experimentelle Anaesthesiologie“, Klinikum rechts der Isar, München)	30

Abbildung 18: Befüllen des dHB mit der Futterbelohnung (Aufnahme: Arbeitsgruppe „Experimentelle Anaesthesiologie“, Klinikum rechts der Isar, München)	31
Abbildung 19: Grafik des Versuchsplans mit einer Einteilung in Habituation der Untergruppen (Tag H1 und H2), Lernphase der beiden Hauptgruppen (Tag 1 bis 8 für Gruppe mHB und Tag 1 bis 13 für Gruppe dHB) und Wiederholungstests (Retest 1 (R1) = Tag 14 für Gruppe mHB, Tag 19 für Gruppe dHB) und Retest 2 (R2) = Tag 20 für Gruppe mHB, Tag 25 für Gruppe dHB).....	32
Abbildung 20: Gesamtzeit eines Durchlaufs (Time Complete [s]) der beiden Hauptgruppen doppeltes Hole-Board (a) und modifiziertes Hole-Board (b): jeweils mit vergleichender grafischer Darstellung (MW±SEM) der drei Untergruppen EHP, KHP und LHP zu definierten Tagen der jeweiligen Lernphase und der Retests (R1, R2).	46
Abbildung 21: Anzahl der Gesamtfehler pro Durchlauf (Wrong Choice total) der beiden Hauptgruppen doppeltes Hole-Board (a) und modifiziertes Hole-Board (b): jeweils mit vergleichender grafischer Darstellung (MW±SEM) der drei Untergruppen EHP, KHP und LHP zu definierten Tagen der jeweiligen Lernphase und der Retests (R1, R2).	49
Abbildung 22: Anzahl der Auffindungsfehler pro Durchlauf (Omission Error) der beiden Hauptgruppen doppeltes Hole-Board (a) und modifiziertes Hole-Board (b): jeweils mit vergleichender grafischer Darstellung (MW±SEM) der drei Untergruppen EHP, KHP und LHP zu definierten Tagen der jeweiligen Lernphase und der Retests (R1, R2).	52
Abbildung 23: Anzahl der wiederholt besuchten Löcher pro Durchlauf (Repeated Choice) der beiden Hauptgruppen doppeltes Hole-Board (a) und modifiziertes Hole-Board (b): jeweils mit vergleichender grafischer Darstellung (MW±SEM) der drei Untergruppen EHP, KHP und LHP zu definierten Tagen der jeweiligen Lernphase und der Retests (R1, R2).....	55
Abbildung 24: Boardzeit (Time on Board [%]) in der Habituation der beiden Hauptgruppen doppeltes Hole-Board (a) und modifiziertes Hole-Board (b): jeweils mit vergleichender grafischer Darstellung (MW±SEM) der drei Untergruppen EHP, KHP und LHP.....	59
Abbildung 25: Boardzeit (Time on Board [%]) der beiden Hauptgruppen doppeltes Hole-Board (a) und modifiziertes Hole-Board (b): jeweils mit vergleichender grafischer Darstellung (MW±SEM) der drei Untergruppen EHP, KHP und LHP zu definierten Tagen der jeweiligen Lernphase und der Retests (R1, R2).	60
Abbildung 26: Latenz zum Boardbesuch (Latency first Board Entry [s]) in der Habituation der beiden Hauptgruppen doppeltes Hole-Board (a) und modifiziertes Hole-Board (b): jeweils mit vergleichender grafischer Darstellung (MW±SEM) der drei Untergruppen EHP, KHP und LHP	63
Abbildung 27: Latenz zum Boardbesuch (Latency first Board Entry [s]) der beiden Hauptgruppen doppeltes Hole-Board (a) und modifiziertes Hole-Board (b): jeweils mit vergleichender grafischer Darstellung (MW±SEM) der drei Untergruppen EHP, KHP und LHP zu definierten Tagen der jeweiligen Lernphase und der Retests (R1, R2).	64
Abbildung 28: Immobilität (Immobility [%]) der beiden Hauptgruppen doppeltes Hole-Board (a) und modifiziertes Hole-Board (b): jeweils mit vergleichender grafischer Darstellung (MW±SEM) der drei Untergruppen EHP, KHP und LHP zu definierten Tagen der jeweiligen Lernphase und der Retests (R1, R2).....	68
Abbildung 29: Gruppenkontakt (Group Contact [%]) in der Habituation der beiden Hauptgruppen doppeltes Hole-Board (a) und modifiziertes Hole-Board (b): jeweils mit vergleichender grafischer Darstellung (MW±SEM) der drei Untergruppen EHP, KHP und LHP.....	72

Abbildung 30: Gruppenkontakt (Group Contact [%]) der beiden Hauptgruppen doppeltes Hole-Board (a) und modifiziertes Hole-Board (b): jeweils mit vergleichender grafischer Darstellung (MW±SEM) der drei Untergruppen EHP, KHP und LHP zu definierten Tagen der jeweiligen Lernphase und der Retests (R1, R2).	73
Abbildung 31: Latenz zum ersten Lochbesuch (Latency first Hole Visit [s]) in der Habituation der beiden Hauptgruppen doppeltes Hole-Board (a) und modifiziertes Hole-Board (b): jeweils mit vergleichender grafischer Darstellung (MW±SEM) der drei Untergruppen EHP, KHP und LHP.....	77
Abbildung 32: Latenz zum ersten Lochbesuch (Latency first Hole Visit [s]) der beiden Hauptgruppen doppeltes Hole-Board (a) und modifiziertes Hole-Board (b): jeweils mit vergleichender grafischer Darstellung (MW±SEM) der drei Untergruppen EHP, KHP und LHP zu definierten Tagen der jeweiligen Lernphase und der Retests (R1, R2).	78
Abbildung 33: Anzahl der Lochbesuche pro Durchlauf (Number of Hole Visits first Hole Visit) in der Habituation der beiden Hauptgruppen doppeltes Hole-Board (a) und modifiziertes Hole-Board (b): jeweils mit vergleichender grafischer Darstellung (MW±SEM) der drei Untergruppen EHP, KHP und LHP.	81
Abbildung 34: Anzahl der Lochbesuche pro Durchlauf (Latency first Hole Visit [s]) der beiden Hauptgruppen doppeltes Hole-Board (a) und modifiziertes Hole-Board (b): jeweils mit vergleichender grafischer Darstellung (MW±SEM) der drei Untergruppen EHP, KHP und LHP zu definierten Tagen der jeweiligen Lernphase und der Retests (R1, R2).	82
Abbildung 35: Anzahl der gemachten Männchen pro Durchlauf (Rearings) in der Habituation der beiden Hauptgruppen doppeltes Hole-Board (a) und modifiziertes Hole-Board (b): jeweils mit vergleichender grafischer Darstellung (MW±SEM) der drei Untergruppen EHP, KHP und LHP.....	85
Abbildung 36: Anzahl der gemachten Männchen pro Durchlauf (Rearings) der beiden Hauptgruppen doppeltes Hole-Board (a) und modifiziertes Hole-Board (b): jeweils mit vergleichender grafischer Darstellung (MW±SEM) der drei Untergruppen EHP, KHP und LHP zu definierten Tagen der jeweiligen Lernphase und der Retests (R1, R2).	86
Abbildung 37: Putzen (Grooming [%]) in der Habituation der beiden Hauptgruppen doppeltes Hole-Board (a) und modifiziertes Hole-Board (b): jeweils mit vergleichender grafischer Darstellung (MW±SEM) der drei Untergruppen EHP, KHP und LHP.....	90
Abbildung 38: Putzen (Grooming [%]) der beiden Hauptgruppen doppeltes Hole-Board (a) und modifiziertes Hole-Board (b): jeweils mit vergleichender grafischer Darstellung (MW±SEM) der drei Untergruppen EHP, KHP und LHP zu definierten Tagen der jeweiligen Lernphase und der Retests (R1, R2).	91
Abbildung 39: Line Crossings [Anzahl/min] in der Habituation der beiden Hauptgruppen doppeltes Hole-Board (a) und modifiziertes Hole-Board (b): jeweils mit vergleichender grafischer Darstellung (MW±SEM) der drei Untergruppen EHP, KHP und LHP.....	95
Abbildung 40: Anzahl der Line Crossings [Anzahl/min] der beiden Hauptgruppen doppeltes Hole-Board (a) und modifiziertes Hole-Board (b): jeweils mit vergleichender grafischer Darstellung (MW ± SEM) der drei Untergruppen EHP, KHP und LHP zu definierten Tagen der jeweiligen Lernphase und der Retests (R1, R2).....	96
Abbildung 41: Fresszeit (time per food intake [s]) der beiden Hauptgruppen doppeltes Hole-Board (a) und modifiziertes Hole-Board (b): jeweils mit vergleichender grafischer Darstellung (MW ± SEM) der drei Untergruppen EHP, KHP und LHP zu definierten Tagen der jeweiligen Lernphase und der Retests (R1, R2).....	99

10 Abkürzungsverzeichnis

°C	Grad Celsius
cm	Zentimeter
dHB	doppeltes Hole-Board
dHBT	doppelter Hole-Board-Test
EHP	Etabliertes Habituerungsprotokoll
g	Gramm
h	Stunde
H1	Habituerungstag 1
H2	Habituerungstag 2
KGW	Körpergewicht
KHP	Kurzes Habituerungsprotokoll
LHP	Langes Habituerungsprotokoll
mHB	modifiziertes Hole-Board
mHBT	modifizierter Hole-Board-Test
min	Minute
mm	Millimeter
n	Anzahl
MW	Mittelwert
R1	Retest 1
R2	Retest 2
s	Sekunde
SEM	Standardfehler
v.a.	vor allem
∅	Durchschnitt
%	Prozent
x ²	Quadrat-

11 Danksagung

Herrn Univ.-Prof. Dr. med. vet. habil. M. Erhard danke ich für die Übernahme der Arbeit an die Tierärztliche Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München.

Bei Herrn Univ.-Prof. Dr. med. B. Gänsbacher, Direktor des Instituts für experimentelle Onkologie und Therapieforschung der TU München, möchte ich mich dafür bedanken, dass es möglich war, die Arbeit an diesem Institut durchzuführen.

Gleichfalls bedanke ich mich bei Herrn Univ.-Prof. Dr. med. Dipl. Phys. E. Kochs, Direktor der Klinik für Anaesthesiologie der TU München, für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes.

Für die Überlassung des Themas bedanke ich mich bei Herrn Univ.-Prof. Dr. med. M. Blobner, Oberarzt der Klinik für Anaesthesiologie der TU München.

Vielmals möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. med. vet. habil. W. Erhardt für die Durchsicht des Manuskripts, sowie auch bei Fr. Dr. med. vet. Julia Henke für die freundliche Unterstützung und die Doktorandenseminare bedanken.

Großer Dank gilt Frau Dr. med. Barbara Eckel, Ärztin in der Klinik für Anaesthesiologie der TU München, für die Durchsicht der Arbeit.

Den Kolleginnen der Forschungsgruppe „Kognition und Verhalten“ in der Klinik für Anaesthesiologie der TU München: Frau Dr. med. vet. Anja Berkmann, Frau Dr. med. vet. Laura Starker, Frau Marion Summerer und Frau Dr. med. vet. Janette Carlsen danke ich für ihre große Unterstützung, Beratung und große Hilfsbereitschaft.

Für die Unterstützung und Hilfe bei der praktischen Tätigkeit im Institut danke ich Frau Dr. med. Lucia Gordon, Frau Dr. med. Heidrun Fink, Doris Droese, Anne Frye, Serkan, Christine und Franziska. Den geduldigen PC-Spezialisten ein großes Dankeschön für Hilfe in der Not – v.a. am Wochenende.

Frau Prof. Dr. Frauke Ohl möchte ich für die telefonische Beratung danken.

Bei den Tierpflegerinnen und Tierpflegern möchte ich mich sehr für die Zusammenarbeit bei der verantwortungsvollen Pflege der Tiere bedanken.

Großer Dank geht an Herrn Günther Gürtner und Herrn Sepp Straßmaier für die freundliche Hilfe und reibungslose Zusammenarbeit bei der Entwicklung und Gestaltung der Käfige und Boards.

Großer Dank gilt auch Christoph Fritschi und Michael Schlüpmann für die fortwährende Hilfsbereitschaft in Sachen PC und Digitalcamera.

Meinen Großeltern Herrn und Frau Dr. Beck gilt herzlicher Dank für Interesse an und Begleitung bei meinem Studium und meiner Dissertation.

Von ganzem Herzen danke ich meinen Eltern und meinem Bruder Jan für die große Unterstützung.