

# Die Rolle des Anterioren Cingulären Cortex bei Entscheidungsprozessen und instrumentellen Lernvorgängen

The Role of the Anterior Cingulate Cortex in Decision Making and in  
Instrumental Behaviour

Judith Schweimer aus Wolfsburg

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

Hauptberichter: Prof. Dr. Wolfgang Hauber

Mitberichterin: Prof. Dr. Franziska Wollnik

Tag der mündlichen Prüfung: 17. Juli 2006

Biologisches Institut der Universität Stuttgart, 2006



Die vorliegende Arbeit wurde von mir selbständig verfasst. Ich habe keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet. Alle Koautoren der veröffentlichten und zur Veröffentlichung eingereichten Manuskripte sind aufgeführt.

Stuttgart, den 22. Juni 2006



# 1 Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>INHALTSVERZEICHNIS</b>	<b>5</b>
<b>2</b>	<b>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS</b>	<b>9</b>
<b>3</b>	<b>ABBILDUNGSVERZEICHNIS</b>	<b>10</b>
<b>4</b>	<b>SUMMARY</b>	<b>11</b>
<b>5</b>	<b>EINLEITUNG</b>	<b>13</b>
<b>5.1</b>	<b>Motivation</b>	<b>13</b>
<b>5.2</b>	<b>Zielgerichtetes Verhalten</b>	<b>14</b>
5.2.1	Assoziatives Lernen	16
5.2.2	Klassische Konditionierung	16
5.2.3	Instrumentelles Lernen	18
5.2.4	Kosten-Nutzen-Analysen	19
<b>5.3</b>	<b>Der Motivationsschaltkreis</b>	<b>21</b>
<b>5.4</b>	<b>Der anteriore cinguläre Cortex: Eine wichtige Struktur des Präfrontalcortex</b>	<b>22</b>
5.4.1	Anatomie und Verschaltung des ACC	24
5.4.2	Exekutive Kontrolle des Verhaltens durch den ACC	26
5.4.3	Funktionen des ACC bei Menschen	26
5.4.4	Funktionen des ACC bei Primaten	28
5.4.5	Funktionen des ACC bei Nagetieren	29
<b>5.5</b>	<b>Dopamin: ein wichtiger Neurotransmitter des anterioren cingulären Cortex</b>	<b>30</b>
5.5.1	Dopaminerge Systeme des Vorderhirns	30
5.5.2	Biosynthese des Dopamins	31
5.5.3	Freisetzung, Wiederaufnahme und Abbau des Dopamins	33
5.5.4	Dopamin-Rezeptoren	34
<b>5.6</b>	<b>Die Funktion von Dopamin im Nucleus accumbens</b>	<b>36</b>
<b>5.7</b>	<b>Dopamin im anterioren cingulären Cortex und im medialen Präfrontalcortex</b>	<b>38</b>
<b>5.8</b>	<b>Ziele der vorliegenden Arbeit</b>	<b>39</b>

Inhaltsverzeichnis	6	
<b>6</b>	<b>METHODEN</b>	<b>41</b>
<b>6.1</b>	<b>Versuchstiere und Haltung</b>	<b>41</b>
<b>6.2</b>	<b>Stereotaktische Operationen und Substanzinfusionen</b>	<b>41</b>
6.2.1	Excitotoxische Läsionen	41
6.2.2	Läsionen catecholaminerger Afferenzen im ACC	44
6.2.3	Implantierung chronischer intracranialer Kanülen	45
<b>6.3</b>	<b>Verwendete Wirkstoffe</b>	<b>48</b>
6.3.1	Chinolinsäure	48
6.3.2	6-Hydroxydopamin	49
6.3.3	Desipramin	49
6.3.4	SCH 23390	50
6.3.5	Eticlopride	50
<b>6.4</b>	<b>Verhaltensexperimente</b>	<b>50</b>
6.4.1	Aufbau der Skinnerboxen	50
6.4.2	Reaktionszeitaufgabe	51
6.4.3	Kosten-Nutzen-abhängige Entscheidungen in der Skinnerbox	54
6.4.4	Kosten-Nutzen-abhängige Entscheidungen im T-Labyrinth	55
<b>6.5</b>	<b>Histologische Auswertung</b>	<b>59</b>
6.5.1	Lösungen für die Gewebefixierung und die Perfusion	59
6.5.2	Durchführung der Perfusion	59
6.5.3	Beschichtung der Objektträger	60
6.5.4	Anfertigung der Gehirnschnitte	61
6.5.5	Nisslfärbung mit Cresylechtviolett	61
6.5.6	Immunhistochemische Färbung von TH-positiven Zellen und Fasern	62
<b>7</b>	<b>DURCHGEFÜHRTE EXPERIMENTE</b>	<b>64</b>
<b>7.1</b>	<b>Experiment 1-3: Involvement of the rat anterior cingulate cortex in control of instrumental responses guided by reward expectancy</b>	<b>65</b>
<b>7.2</b>	<b>Experiment 4: Involvement of Catecholamine Neurotransmission in the Rat Anterior Cingulate in Effort-Related Decision Making</b>	<b>74</b>
<b>7.3</b>	<b>Experiment 5: Dopamine D1 but not D2 Receptors in the Anterior Cingulate Cortex Regulate Effort-Based Decision Making</b>	<b>80</b>
<b>7.4</b>	<b>Weitere Experimente</b>	<b>101</b>
7.4.1	Futter-Präferenz in Experiment 2	101

7.4.2	Lokomotorisches Verhalten im Open-Field	102
7.4.3	Pilotversuch - Reaktionszeitaufgabe	103
7.4.4	Kosten-Nutzen-abhängige Entscheidungen in der Skinnerbox mit Flüssigkeitsbelohnung	107
<b>8</b>	<b>ZUSAMMENFASSENDER DISKUSSION</b>	<b>111</b>
<b>8.1</b>	<b>Bewertung der Aufgaben</b>	<b>111</b>
8.1.1	Reaktionszeitaufgabe	111
8.1.2	Kosten-Nutzen-abhängige Entscheidungen in der Skinnerbox	112
8.1.3	Kosten-Nutzen-abhängige Entscheidungen im T-Labyrinth	113
<b>8.2</b>	<b>Beurteilung der Eingriffe in den ACC</b>	<b>115</b>
8.2.1	Excitotoxische Läsionen des ACC	115
8.2.2	Läsionen catecholaminerger Afferenzen im ACC	116
8.2.3	Mikroinfusionen mit spezifischen D1- und D2-Antagonisten	117
<b>8.3</b>	<b>Kurze Zusammenfassung der Ergebnisse</b>	<b>119</b>
<b>8.4</b>	<b>Die Rolle des ACC bei der Diskriminierung von Stimuli</b>	<b>120</b>
<b>8.5</b>	<b>Rolle des ACC bei Kosten-Nutzen-abhängigen Entscheidungen</b>	<b>122</b>
8.5.1	Kosten-Nutzen-abhängige Entscheidungen in der Skinnerbox	122
8.5.2	Kosten-Nutzen-abhängige Entscheidungen im T-Labyrinth	123
<b>8.6</b>	<b>Rolle der dopaminergen Innervation des ACC bei Kosten-Nutzen-abhängigen Entscheidungsverhalten</b>	<b>126</b>
8.6.1	Läsionen der catecholaminerger Afferenzen im ACC	126
8.6.2	Blockade der Dopaminrezeptoren im ACC	128
<b>8.7</b>	<b>Möglicher Schaltkreis für die Kosten-Nutzen-abhängigen Entscheidungen</b>	<b>129</b>
<b>8.8</b>	<b>Schlussfolgerungen</b>	<b>132</b>
<b>8.9</b>	<b>Mögliche Folgeexperimente</b>	<b>133</b>
<b>9</b>	<b>ANHANG</b>	<b>134</b>
<b>9.1</b>	<b>Computer-Programme für die Skinnerbox</b>	<b>134</b>
9.1.1	Habituation des CRF für RT- und PR-Aufgaben - KOND 1	134
9.1.2	Habituation des CRF für RT- und PR-Aufgaben - KOND 2	135
9.1.3	Habituation des CRF für RT-Aufgabe - KOND 3	136
9.1.4	Testprogramm der RT-Aufgabe (Variante A) - LernenA	137
9.1.5	Testprogramm der RT-Aufgabe (Variante B) - LernenB	141

<b>Inhaltsverzeichnis</b>	<b>8</b>
9.1.6 Habituation des CRF für PR-Aufgabe - CRF	145
9.1.7 Testprogramm der PR-Aufgabe - PR9	146
9.1.8 Habituation für Flüssigkeitsbelohnung - VMKOND	149
9.1.9 Habituation für Flüssigkeitsbelohnung - VM1	150
9.1.10 Habituation für Flüssigkeitsbelohnung - VM100B	151
9.1.11 Testprogramme für Vanille-Milchexperiment (hohe Belohnung links) - CHPRL5a	153
9.1.12 Testprogramme für Vanille-Milchexperiment (hohe Belohnung rechts) - CHPRR5a	158
<b>10 LITERATURVERZEICHNIS</b>	<b>163</b>
<b>11 DANKSAGUNG</b>	<b>176</b>
<b>12 LEBENSLAUF</b>	<b>177</b>

## 2 Abkürzungsverzeichnis

ACC	anteriorer cingulärer Cortex
BLA	basolaterale Amygdala
cAMP	zyklisches Aminomonophosphat
Cg1, Cg2, Cg3	cingulärer Cortex (Area 1, 2, 3)
COMT	Catecholamin-O-methyltransferase
CR	konditionierte Reaktion
CS	konditionierter Stimulus
DA	Dopamin
DAT	Dopamintransporter
DOPA	Dopamin
DOPAC	Dihydroxyphenyllessigsäure
EEG	Elektroencephalogramm
ERN	<i>error related negativity</i>
fMRI	funktionelle Magnetresonanztomographie ( <i>imaging</i> )
GABA	$\gamma$ -Amino-Buttersäure
HR	( <i>high reward</i> ) hoch belohnter Arm
HVA	Homovanillin
LR	( <i>low reward</i> ) niedrig belohnter Arm
L-DOPA	L-Dihydroxyphenylalanin
MAO	Monoaminoxidase
6-OHDA	6-Hydroxydopamin
PBS	Phosphat-gepufferte Saline
PFC	Präfrontalcortex
PrL	Prälimbischer Cortex
OFC	Orbitofrontalcortex
RT	<i>reaction time</i> (Reaktionszeit)
SNe	Substantia nigra pars compacta
TBS	Tris-gepufferte Saline
UR	unkonditionierte Reaktion
US	unkonditionierter Stimulus
TH	Tyrosinhydroxylase
VMAT	vesikulärer Monoamintransporter
VTA	ventrales tegmentales Areal

### 3 Abbildungsverzeichnis

ABBILDUNG 5.1	ZIELGERICHTETES VERHALTEN AM BEISPIEL DER FUTTERAUFNAHME.	15
ABBILDUNG 5.2	KLASSISCHE KONDITIONIERUNG.	17
ABBILDUNG 5.3	INSTRUMENTELLES LERNEN.	19
ABBILDUNG 5.4	HYPOTHETISCHE KOSTEN-NUTZEN-ANALYSE BEI DER NAHRUNGSSUCHE.	20
ABBILDUNG 5.5	DER MOTIVATIONSSCHALTKREIS.	22
ABBILDUNG 5.6	DER MEDIALE PRÄFRONTALCORTEX DER RATTE.	23
TABELLE 5.1	VERBINDUNGEN DES ACC.	25
ABBILDUNG 5.7	SCHEMATISCHE DARSTELLUNG DES ACC DER RATTE IM SAGITTALSCHNITT.	25
ABBILDUNG 5.8	SCHEMATISCHE DARSTELLUNG DES DOPAMIN-SYSTEMS.	31
ABBILDUNG 5.9	DOPAMIN-, NORADRENALIN- UND ADRENALIN-BIOYNTHESE.	32
ABBILDUNG 5.10	DOPAMINMETABOLIMUS IN EINER SYNAPSE.	33
ABBILDUNG 5.11	INCENTIVE-MOTIVATION-MODELL.	37
ABBILDUNG 6.1	SCHEMATISCHE DARSTELLUNG EINES STEREOTAKTISCHEN APPARATES.	42
ABBILDUNG 6.2	DARSTELLUNG DER EINZELNEN OPERATIONSTEILSCHRITTE.	43
TABELLE 6.1	KOORDINATEN DER LÄSIONEN UND FÜHRUNGSKANÜLEN IM ACC.	44
ABBILDUNG 6.3	DORSALE UND LATERALE ANSICHT DES RATTENKOPFES BEI DER IMPLANTIERUNG VON FÜHRUNGSKANÜLEN.	46
ABBILDUNG 6.4	SCHEMATISCHE DARSTELLUNG DER MIKROINFUSIONSPROZEDUR.	48
ABBILDUNG 6.5	STRUKTURFORMELN DER VERWENDETEN WIRKSTOFFE.	49
ABBILDUNG 6.6	RATTE BEI DER DURCHFÜHRUNG DER REAKTIONSZEITAUFGABE	51
TABELLE 6.2	HABITUATIONSPROZEDUR FÜR REAKTIONSZEITAUFGABE AUS EXPERIMENT 1	53
ABBILDUNG 6.7	SCHEMATISCHE ANSICHT DES T-LABYRINTHS.	58
ABBILDUNG 7.1	VOREXPERIMENT ZUR FUTTERPRÄFERENZ IN EXPERIMENT 2.	101
ABBILDUNG 7.2	EFFEKTE VON ACC-LÄSIONEN AUF DAS LOKOMOTORISCHE VERHALTEN IM OPEN-FIELD.	102
ABBILDUNG 7.3	EINFLUSS VON LÄSIONEN DES ACC AUF DIE FÜHRUNG DER REAKTIONSZEIT DURCH DIE ERWARTETEN BELOHNUNGSSTÄRKEN.	103
ABBILDUNG 7.4	ANZAHL DER KORREKTEN ANTWORT IN DER REAKTIONSZEIT-AUFGABE.	104
ABBILDUNG 7.5	EINFLUSS VON ACC-LÄSIONEN AUF DIE ANZAHL DER HEBELBEWEGUNGEN WÄHREND DER EXTINKTION.	105
ABBILDUNG 7.6	EINFLUSS VON ACC-LÄSIONEN AUF DIE ANZAHL DER VERFRÜHTEN UND SPÄTEN "FEHLER" WÄHREND DER EXTINKTION.	106
ABBILDUNG 7.7	BOTTLE-CHOICE-TEST.	107
ABBILDUNG 7.8	FREIE HEBELWAHL BEI FR-1.	108
ABBILDUNG 7.9	WAHLAUFGABE.	110
TABELLE 8.1	ZUSAMMENFASSUNG DER VERHALTENSERGEBNISSE VON EXPERIMENT 1 UND 2.	119
TABELLE 8.2	ZUSAMMENFASSUNG DER VERHALTENSERGEBNISSE VON EXPERIMENT 3 BIS 5.	120
ABBILDUNG 8.1	AN KOSTEN-NUTZEN-ABHÄNGIGEN ENTSCHEIDUNGEN BETEILIGTE STRUKTUREN.	130

## 4 Summary

The anterior cingulate cortex (ACC) plays a critical role in stimulus-reinforcement learning and reward-guided selection of actions. In this Ph.D. thesis a series of experiments was conducted to further elucidate the role of the ACC in instrumental behaviour involving effort-based decision making and instrumental learning guided by reward-predictive stimuli.

In Experiment 1 learning and learning a reversal of instrumental responses guided by reward predictive stimuli was investigated. A reaction time (RT) task demanding conditioned lever release was used in which the upcoming reward magnitude (5 vs. 1 food pellet) was signalled in advance by discriminative visual stimuli. Results revealed that rats with ACC lesions were able to discriminate reward magnitude-predictive stimuli and to adapt instrumental behaviour to reversed stimulus-reward magnitude contingencies. Thus, in a simple discrimination task as used here, the ACC appears not to be required to discriminate reward magnitude-predictive stimuli and to use the learned significance of the stimuli to guide instrumental behaviour.

Experiment 2 demonstrates that breaking points of instrumental performance under a progressive ratio schedule were similar in sham-lesioned and ACC-lesioned rats. Thus, lesions of the ACC did not interfere with the effort a rat is willing to expend to obtain a specific reward in this test. In a subsequent task, effort-based decision making was examined in a lever-press task where rats had the choice between pressing a lever to receive preferred food pellets under a progressive ratio schedule, or free feeding on a less preferred food, i.e. lab chow. Results show that sham- and ACC-lesioned animals had similar breaking points and ingested comparable amounts of less preferred food.

In Experiment 3-5, rats were trained on a cost-benefit T-maze task in which they could either choose to climb a barrier to obtain a high reward (4 pellets) in one arm or a low reward (2 pellets) in the other with no barrier present. In line with previous studies our data reveal that rats with excitotoxic lesions of the ACC selected the response involving less work and smaller reward. In experiment 4, it was examined whether catecholamine-mediated signals in the ACC contribute to effort-based decision-making. Results demonstrate that infusions of 6-hydroxydopamine induced a near total loss of tyrosinehydroxylase-positive fibers in the ACC. Unlike sham-lesioned rats, 6-hydroxydopamine-lesioned rats exhibited a reduced preference for the high cost - high reward response option when having the choice to obtain a low

reward with little effort. In experiment 5, effects of a D1 and D2 receptor blockade in the Cg1 field of the ACC on decision making of rats were tested in the same task. Unlike vehicle-treated rats, rats with intra-ACC infusions of the D1 receptor antagonist SCH 23390 exhibited a reduced preference for the high cost - high reward response option when having the choice to obtain a low reward with little effort. By contrast, in rats with intra-ACC infusion of the D2 receptor antagonist eticlopride the preference for the high cost - high reward response option was not altered relative to vehicle-treated rats.

Together, these results suggest that the ACC plays a role in effort-based decision making; however, it is not necessary in all situations requiring an assessment of costs and benefits. Furthermore, these data provide the first evidence that effort-based decision making depends on dopamine input to the ACC acting on D1, but not D2, receptors.

## 5 Einleitung

Der anteriore cinguläre Cortex (ACC) gehört zum Präfrontalcortex, d.h. einem Teil der vorderen Hirnrinde, welcher zahlreiche höhere Hirnfunktionen steuert, wie zum Beispiel die Entscheidungsfindung, komplexe Lernvorgänge, Sozialverhalten, usw. Auch die Steuerung zielgerichteter Verhaltensweisen, die zum Erreichen bestimmter Ziele (wie Futter oder bei uns Menschen auch langfristige Ziele wie z.B. Geld anlegen für eine Reise oder den Bau eines Hauses) führt, erfolgt unter Beteiligung des Präfrontalcortex einschließlich des ACC. Welche Lernvorgänge bzw. Entscheidungsprozesse der ACC steuert und welche neurochemischen Signale im ACC solche kognitiven Leistungen steuern, ist noch weitgehend unerforscht. In der vorliegenden Arbeit wurde deshalb die Rolle des ACC und eines wichtigen Neurotransmitters des ACC, Dopamin, bei Ratten näher untersucht: Im Mittelpunkt stand die Funktion des ACC bei instrumentellen Lernvorgängen und Kosten-Nutzen-abhängigem Entscheidungsverhalten.

Der ACC erfüllt die genannten Aufgaben als Teil des Motivationsschaltkreises, eines komplexen neuronalen Netzwerks im Gehirn. Dieser steuert allgemein gesagt das Erlernen und die Ausführung von Verhaltensweisen, die auf den Erhalt von Belohnungen ausgerichtet sind. Auch Entscheidungsprozesse, welche die Auswahl von belohnungsgerichtetem Verhalten aufgrund ihres jeweiligen Kosten-Nutzenverhältnisses treffen, werden durch den Motivationsschaltkreis gesteuert.

Nachfolgend werden zunächst wesentliche Aspekte, der durch den Motivationsschaltkreis gesteuerten, so genannten zielgerichteten Verhaltensweisen besprochen. Dazu zählen insbesondere das Erlernen solcher Verhaltensweisen und die beteiligten Lernprozesse, sowie der Einfluss der Motivation auf ein solches Verhalten.

Danach werden der Aufbau und Funktionen des Motivationsschaltkreises grob dargestellt. In einem weiteren Abschnitt werden die Anatomie und die bekannten Funktionen des ACC bei Menschen, Primaten und Nagetieren näher beschrieben. Außerdem wird die Funktion des Neurotransmitters Dopamin, der eine wichtige Rolle bei zielgerichtetem Verhalten spielt, vorgestellt. Abschließend werden die Ziele dieser Arbeit erläutert und die verwendeten Methoden erklärt.

### 5.1 *Motivation*

In der Verhaltensforschung wird der Begriff Motivation synonym zu Antrieb, Trieb, Stimmung und spezifischer Handlungsbereitschaft verwendet. In der Psychologie

umfasst er unbewusste Motive, intuitive Bewertungen und Intentionen. Die Motivation ist abhängig von Erwartungen, Gewohnheiten, Zielen, der persönlichen Einstellung und weiteren Faktoren (Lexikon der Neurowissenschaften, 2001).

Als Motivation bezeichnet man in der Physiologie und Neuroethologie die Ursache oder den Beweggrund, ein Verhalten oder eine Handlung zu beginnen oder aufrechtzuerhalten. Diese wird durch innere und äußere Faktoren beeinflusst und beruht auf Rückkopplungsmechanismen, um die Homöostase des Körpers, also das innere Gleichgewicht, zu erhalten. Durch das Gehirn wird eine Veränderung des inneren Gleichgewichts wahrgenommen, was zum Aufbau einer bestimmten Motivation führt. Diese Motivation löst zum einen Appetenzverhalten, das aktive Suchen nach Auslösern, zum anderen die Endhaltung, d.h. das Fressen, Trinken oder auch die Kopulation, aus (McFarland, 1999). Die Endhandlung wird wiederum vom Körper registriert, z.B. der ausgeglichene Flüssigkeitspegel oder der Anstieg des Blutzuckers nach Nahrungsaufnahme. Dieses bewirkt eine Reduktion der Motivation.

Allerdings ist diese Definition nur bis zu einem gewissen Grad gültig. Denn nicht immer sind es homöostatische Regelmechanismen die ein Lebewesen dazu motivieren, eine Handlung durchzuführen. Auch starke gelernte, externe Anreize können einen weitaus größeren Einfluss auf das Verhalten haben. Dieser Einfluss wird mit der besonderen Attraktivität des externen Anreizes erklärt (s. Abb. 5.1), der appetitive oder belohnende Eigenschaften hat („*incentive-motivation*“) (Berridge und Robinson, 1998; Robbins und Everitt, 1999). So wird besonders wohlschmeckendes Futter auch von satten Tieren gefressen (Petrovich und Gallagher, 2003).

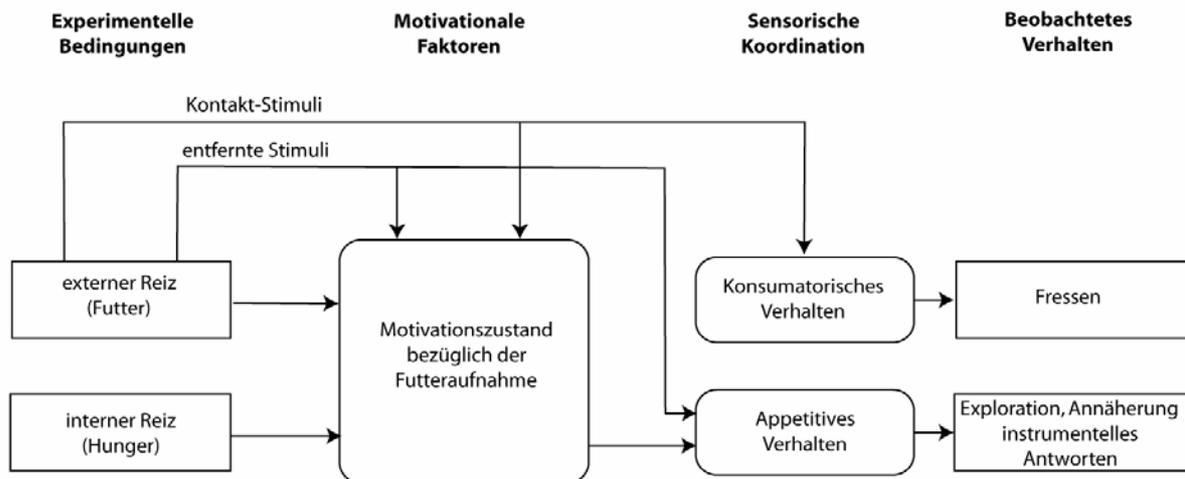
Die Motivation wird daher sowohl durch innere Reize, wie Hunger, Durst, etc. als auch durch äußere Stimuli beeinflusst (Robbins und Everitt, 1999). Verschiedene Motivationszustände beeinflussen auch die Organisation von zielgerichtetem Verhalten.

## ***5.2 Zielgerichtetes Verhalten***

Zielgerichtetes Verhalten beruht auf Vorhersagen, welche Verhaltensweisen das Erreichen einer bestimmten Belohnung, z.B. Futter, bedingen. Die zielgerichteten Verhaltensweisen werden in hohem Maße durch motivationale Faktoren gesteuert. So werden zielgerichtete Verhaltensweisen, die der Nahrungssuche und -aufnahme dienen, von hungrigen Tieren sehr viel intensiver oder ausdauernder ausgeführt.

Damit eine Handlung als zielgerichtet bezeichnet werden kann, müssen per Definition zwei Kriterien erfüllt werden: Erstens muss das Tier über eine Repräsentation

des Zusammenhangs zwischen seinem instrumentellen Handeln und dem Ziel oder dem Ergebnis verfügen. Zweitens muss das Ergebnis für das Tier einen positiven Wert darstellen (Cardinal *et al.*, 2002a; Dickinson und Balleine, 1994; Schultz und Dickinson, 2000). Einfach ausgedrückt, eine Ratte handelt zielgerichtet, wenn sie z.B. in einer Skinnerbox einen Hebel drückt, weil sie weiß, dass die Hebelbewegung mit Futter belohnt wird und sie diese Belohnung 'mag'.



**Abbildung 5.1 Zielgerichtetes Verhalten am Beispiel der Futteraufnahme.**

Externe und interne Reize beeinflussen unabhängig voneinander den Motivationszustand bezüglich der Futteraufnahme. Bei den externen Reizen wird zwischen den Kontakt-Stimuli (Futterquelle) und den entfernten Stimuli (Reize, die auf bestimmtes Futter hinweisen) unterschieden. Die Kontakt-Stimuli lösen konsumatorisches Verhalten aus, während die entfernten Stimuli in appetitivem Verhalten resultieren. Modifiziert nach Robbins und Everitt (1999).

Es gibt verschiedene Formen von zielgerichtetem Verhalten: Das Verhalten eines Individuums kann auf ein Ziel, wie dem Erreichen einer Belohnung oder dem Vermeiden einer negativen Situation ausgerichtet sein. Beim zielgerichteten Verhalten geht der Nahrungssuche meist appetitives Verhalten voraus. Außerdem muss die Handlungsbereitschaft eines Tieres flexibel sein, um sein Handeln an die inneren und äußeren Faktoren einer jeweiligen Situation anpassen zu können, z.B. falls ein Hindernis im Weg ist und das Tier einen Umweg machen muss, um sein Ziel zu erreichen. Oft kann ein Ziel nicht direkt durch eine bestimmte Verhaltensweise erreicht werden, sondern es muss eine Sequenz voneinander abhängiger Verhaltensabläufe bewältigt werden. Damit ein Ziel erreicht werden kann muss das Individuum außerdem seine allgemeine Aufmerksamkeit auf das Ziel und die damit verbundenen

Handlungen richten. Wird das Ziel erreicht, ändert sich der interne Motivationszustand der Lebewesens und das zielgerichtete Verhalten wird beendet (Kupfermann *et al.*, 2000).

Konsumatorisches Verhalten dagegen dient einfach nur zur Reduzierung der Bedürfnisse eines Individuums, z.B. Fressen oder Trinken reduziert Hunger, bzw. Durst. Das konsumatorische Verhalten ist meist stereotyp und reflexartig.

### 5.2.1 Assoziatives Lernen

Zielgerichtete Verhaltensweisen sind erlernt. Diese Lernvorgänge erfolgen nach den Regeln der klassischen und instrumentellen Konditionierung. Dabei werden entweder bestimmte Reize oder Handlungen mit einer Belohnung oder Bestrafung assoziiert. Die belohnungsprädiktiven Reize erhalten im Verlauf des Lernvorganges durch die Assoziation mit der Belohnung oder Bestrafung einen motivationalen Wert.

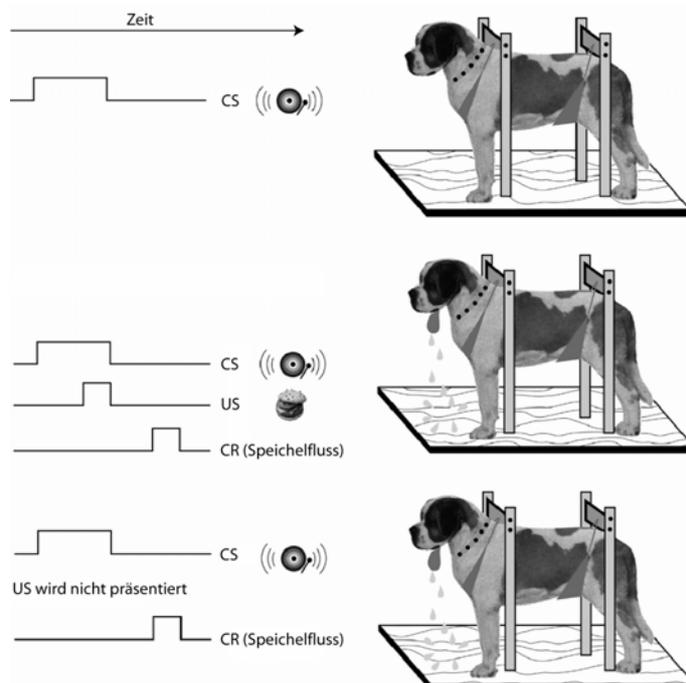
Laut Dickinson und Balleine (1994) wird die Kontrolle von zielgerichtetem Verhalten durch primäre Motivationszustände wie Hunger und Durst durch zwei Prozesse vermittelt: Erstens durch die klassische Konditionierung zwischen einem Stimulus und Verstärker bzw. Ergebnis und zweitens durch instrumentelle Konditionierung, bei der das Wissen über die Kontingenz zwischen Handlung und dem Ergebnis erworben wird. Zum besseren Verständnis werden in den nächsten beiden Kapiteln die klassische oder Pawlowsche Konditionierung und die instrumentelle Konditionierung näher beschrieben.

### 5.2.2 Klassische Konditionierung

Diese Form des Lernens geht auf den russischen Physiologen Iwan Pawlow (1849-1936) zurück. Pawlow konnte in einem Experiment zeigen, dass ein hungriger Hund bei der Präsentation von Futter mit Speichelfluss reagierte. Als Pawlow das Futter durch einen äußeren Reiz, einem Klingelzeichen, ankündigte und gleichzeitig das Futter darbot, registrierte der Hund das Signal und reagierte auf das Futter ebenfalls mit Speichelfluss. Nachdem diese Paarung (Klingelzeichen gefolgt von Futter) ein paar Mal wiederholt wurde, reagiert der Hund allein auf die Präsentation des Klingelzeichens mit Speichelfluss. Das Klingelzeichen wurde zum Prädiktor für das Futter.

Eine solche klassische Konditionierung ist eine Form des assoziativen Lernens. Sie begründet sich auf einer Verknüpfung von zwei Reizen. Ein unbedingter oder unkonditionierter Reiz (US), zum Beispiel die Präsentation von Futter, löst eine reflexartige unkonditionierte Reaktion (UR), Speichelfluss, aus (s. Abb. 5.2). Wird der US zeitnah

mit einem zunächst neutralen Reiz, wie das Läuten einer Glocke oder die Präsentation eines Lichtes, dargeboten, kann eine Assoziation dieser beiden Reize bewirkt werden. Der zunächst neutrale Reiz wird zu einem bedingten oder konditionierten Reiz (CS). Dieser CS kann nach wiederholter Paarung die gleiche Reaktion wie der US hervorrufen, diese Reaktion nennt man bedingte oder konditionierte Reaktion (CR). Der unkonditionierte Reiz kann sowohl ein positiver Verstärker (Belohnung) oder ein negativer Verstärker (Bestrafung) sein. Konditionierte Reaktionen auf negative Verstärker lösen Vermeidungsverhalten aus. Eine solche negative Konditionierung kann beispielsweise durch leichte Elektroschocks, welche in Kombination mit einem neutralen visuellen Signal gepaart dargeboten werden, ausgelöst werden. Nach dem Lernvorgang wird ein Tier auf den zunächst neutralen Lichtreiz mit einer so genannten Schreckreaktion reagieren (Davis, 1989).



**Abbildung 5.2 Klassische Konditionierung.**

Ein zunächst neutraler, zu konditionierender Stimulus (CS, oben), ein Glockenläuten, löst bei dem Hund keine spezifische Reaktion aus. Wird der CS zusammen mit einem unkonditionierten Stimulus (US, Mitte), hier Futter, dargeboten, löst dieses eine konditionierte Reaktion (CR) aus, nämlich Speichelfluss. Nach ein paar erfolgreichen Paarungen dieser beiden Reize, reicht allein die Präsentation des CS aus, um die CR auszulösen. Verändert nach Beggs *et al.* (1999)

Der Lernvorgang bei der klassischen Konditionierung ist abhängig von zwei Grundsätzen. Erstens ist die zeitliche Nähe zwischen dem CS und dem US erforderlich (Kontiguität) und zweitens muss der CS den US zuverlässig anzeigen (Kontingenz).

Bei der klassischen Konditionierung ist das Ergebnis, also die Belohnung oder Bestrafung völlig unabhängig vom Handeln des Tieres ist.

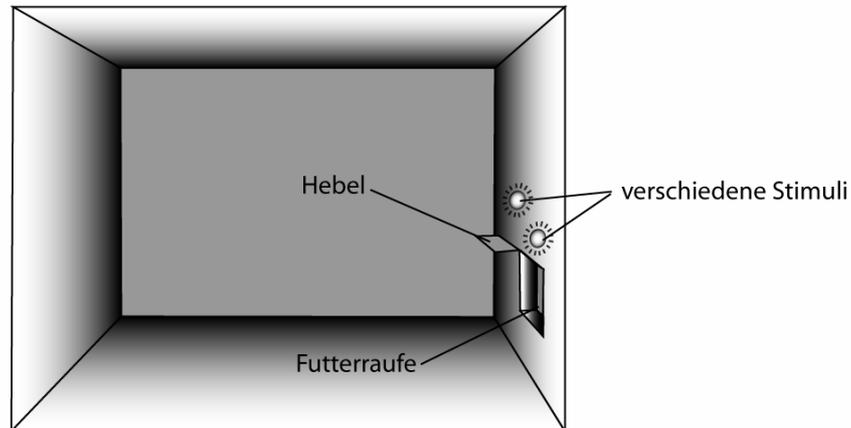
### 5.2.3 Instrumentelles Lernen

Die Grundlagen zum Verständnis des instrumentellen Lernens wurden durch Experimente der Psychologen Edward Thorndike und E. Tolman gelegt (Thorndike, 1911; Tolman, 1932). Thorndike stellte das Gesetz der Wirkung auf. Dieses besagt, dass lebende Organismen dazu neigen, jene Handlungen zu wiederholen, die »befriedigende« Konsequenzen mit sich bringen. Damit versuchte Thorndike die Verhaltensänderungen von Tieren während Lernexperimenten zu erklären.

Das instrumentelle Lernen ist eine weitere Form des assoziativen Lernens. Der Unterschied zur klassischen Konditionierung ist, dass das Lebewesen eine Kontingenz zwischen seinem Handeln und dem daraus resultierenden Ergebnis erkennen muss. In einem Beispiel erklärt, eine Ratte muss wissen, wenn sie einen Hebel drückt, resultiert dies in einer Belohnung (s. Abb. 5.3). Eine Reaktion mit belohnenden Effekten erhöht die Wahrscheinlichkeit eines weiteren Auftretens, während eine Reaktion mit aversiven Folgen diese Wahrscheinlichkeit senkt (McFarland, 1999). Instrumentelles Lernen kann durch die Präsentation eines belohnungsprädiktiven Stimulus beschleunigt werden.

Zielgerichtetes Verhalten beruht auf instrumentellen Lernvorgängen, weil das Individuum die Kontingenz zwischen seinem Handeln und der Belohnung lernt. Hingegen erfüllt klassisches konditioniertes Verhalten dieses Kriterium nicht, da die Gabe einer Belohnung oder Bestrafung völlig unabhängig vom Verhalten des Individuums ist. Nicht alle Verhaltensweisen sind instrumentell konditionierbar. Zum Beispiel ist der instrumentelle Status von Labyrinth-Aufgaben relativ umstritten. Hershberger (1986) machte ein Experiment mit Küken, diese wurden darauf trainiert in einem Labyrinth Futter zu konsumieren. Sobald sie dies gelernt hatten, wurden die Bedingungen geändert. Die Futterquelle war beweglich und wenn sich ein Küken auf die Futterquelle zu bewegte, entfernte sich diese sehr schnell von dem Küken. Wenn es sich allerdings von der Futterquelle wegbewegte, kam die Futterquelle mit doppelter Geschwindigkeit auf das Küken zu. Also mussten die Küken lernen, sich in die entgegen gesetzte Richtung der Futterquelle bewegen, um an das Futter zu gelangen. Diese Assoziation konnten die Küken aber nicht leisten. Allerdings können Tiere in anderen Labyrinth-Aufgaben, lernen zielgerichtet zu handeln, z.B. in dem sie über

eine Barriere klettern, um Futter zu erhalten (Salamone *et al.*, 1994; Walton *et al.*, 2003; Walton *et al.*, 2002; Walton *et al.*, 2005).



**Abbildung 5.3 Instrumentelles Lernen.**

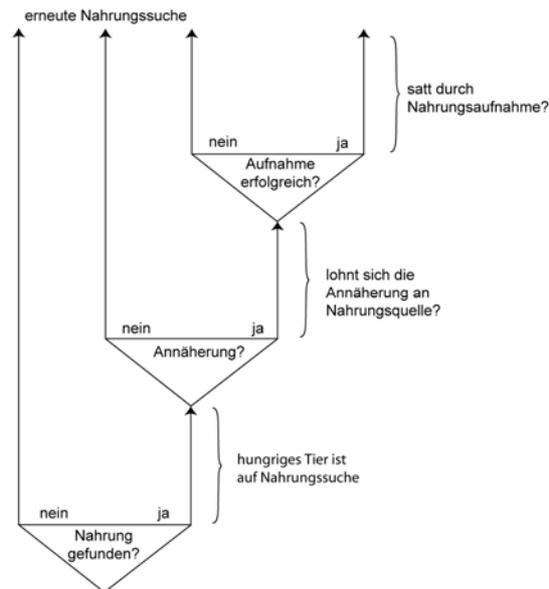
In einer Skinnerbox drückt eine Ratte nach Präsentation einer Kombination von Lichtstimuli einen Hebel und erhält daraufhin eine Futterbelohnung. Die Ratte stellt eine Assoziation zwischen Stimulus, Hebelbewegung und der Futterbelohnung her.

#### 5.2.4 Kosten-Nutzen-Analysen

In vielen Situationen hat ein Organismus die Wahl zwischen mehreren Verhaltensweisen, um ein Ziel zu erreichen. Optimale, situationsangepasste Entscheidungen erfordern ein Abwägen des Aufwands und den daraus resultierenden Nutzen, der mit einer instrumentellen Handlung einhergeht. Der Begriff 'Kosten-Nutzen-Analysen' kommt aus dem mathematisch-ökonomischen Bereich. Er beruft sich auf Entscheidungsvorgänge, welche auf zwei grundsätzlichen Prinzipien beruhen. Zum einen muss die Entscheidung rational sein, zum anderen muss sie eine Abschätzung des Für und Wider's der verfügbaren Handlungsoptionen in einer Situation enthalten (McFarland, 1999). Solche Entscheidungen sind vor allem von zwei Größen abhängig.

Die Größe, welche im Wahlverhalten eines rationalen und ökonomisch handelnden Individuums maximiert wird, ist der Nutzen. Dies ist ein hypothetisches Konstrukt, da man nicht exakt bestimmen kann, inwieweit der Nutzen das Wahlverhalten des Individuums beeinflusst. Angenommen wird, dass das Verhalten stets so gewählt wird, dass der Nutzen maximiert wird (McFarland, 1999). Die Kosten sind der investierte Aufwand, die Zeit, oder auch Geld, um einen bestimmten Nutzen zu erzielen.

Auch in der Verhaltensökologie wird die Abhängigkeit des Verhaltens von Tieren, welches zum Überleben und dem Fortpflanzungserfolg beiträgt, von Kosten und Nutzen untersucht (Krebs und Davies, 1993). Der Überlebenserfolg ist stark vom Verhalten eines Tieres abhängig ist. So muss ein Tier lernen, sich effizient bei der Nahrungssuche zu verhalten, Räuber zu vermeiden und sich erfolgreich zu vermehren. Dazu muss es fähig sein, ständig die verfügbaren Verhaltensalternativen abzuwägen, deren Folgen abzuschätzen und sich daraufhin für eine Alternative zu entscheiden (s. Abb. 5.4).



**Abbildung 5.4 Hypothetische Kosten-Nutzen-Analyse bei der Nahrungssuche.**

Wenn ein hungriges Tier auf Nahrungssuche eine Nahrungsquelle gefunden hat, muss es den Aufwand und den aus dem Konsum der Nahrung resultierenden Gewinn abschätzen. Daraufhin muss es sich entscheiden, ob es lohnt, sich dem Nahrungsobjekt anzunähern. Nach dem Nahrungskonsum muss es sich entscheiden, ob es satt ist oder weiter nach Nahrung sucht. Modifiziert nach McFarland (1999).

Um Entscheidungsverhalten unter Laborbedingungen zu untersuchen, werden oft Verhaltenstests verwendet, welche auf Kosten-Nutzen-Prinzipien beruhen (Bechara, 2003; Bechara *et al.*, 1997; Cardinal *et al.*, 2001; Cousins *et al.*, 1996; Ernst *et al.*,

2004; Floresco und Ghods-Sharifi, 2006; Salamone *et al.*, 1994; Salamone *et al.*, 1991; Walton *et al.*, 2003; Walton *et al.*, 2002; Walton *et al.*, 2005). Salamone und Kollegen haben mehrere solcher Verhaltenstests entwickelt. Zum Beispiel haben sie in einem T-Labyrinth untersucht, ob Ratten bereit waren, für eine größere Belohnung in dem einen Zielarm über eine Barriere zu klettern oder ob sie eher eine kleine Belohnung ohne Barriere in dem anderen Zielarm bevorzugten. Intakte Ratten wählten vor allem die hohe Belohnung mit den hohen Kosten (Barriere), während Ratten mit Dopamin-Läsionen im Nucleus Accumbens, einem Teil des so genannten Belohnungssystems im Gehirn, bevorzugt die niedrige Belohnung ohne Kosten wählten (Cousins *et al.*, 1996; Salamone *et al.*, 1994).

Derartige Verhaltenstests ermöglichen es zu untersuchen, welche Gehirnregionen bei Kosten-Nutzen-abhängigen Entscheidungen eine Rolle spielen.

### ***5.3 Der Motivationsschaltkreis***

Der Motivationsschaltkreis, oder auch die limbische-cortico-striatale Funktionsschleife genannt, ist ein Schaltkreis aus Gehirngebieten, welcher der Wahrnehmung und Initiierung von Verhaltensantworten, die mit Belohnungen assoziiert sind, dient (Cardinal *et al.*, 2002a; Kalivas und Nakamura, 1999). Die Wahrnehmung von belohnenden sensorischen Signalen (z.B. Geruch oder Anblick von Futter), die Bewertung solcher sensorischen Signale und die anschließende Selektion des belohnungsgerichteten Antwortverhaltens sind Funktionen des Motivationsschaltkreises. Einzelne Gehirnstrukturen innerhalb dieses Schaltkreises übernehmen dabei unterschiedliche Aufgaben.

Besonders wichtig sind der Präfrontalcortex (PFC), die basolaterale Amygdala (BLA) und der Nucleus Accumbens (s. Abb. 5.5). Verschiedene elektrophysiologische Arbeiten und Läsionsstudien haben gezeigt, dass diese Strukturen eine wichtige Rolle bei belohnungsgesteuertem Verhalten spielen (Cardinal *et al.*, 2002a; Kalivas und Nakamura, 1999; Schultz und Dickinson, 2000). Der Präfrontalcortex einschließlich des ACC übernimmt in diesem Schaltkreis eine Exekutivfunktion. Das bedeutet, dass dieser Teil des Gehirns eine wesentliche Rolle bei der Auswahl und Anpassung von Verhaltensantworten unter Berücksichtigung von externen und internen sensorischen Signalen spielt (Thier, 2006). Die BLA spielt offenbar eine Rolle bei der Bewertung über die mit Handlungen verknüpften Belohnungsstärken (Floresco und Ghods-Sharifi, 2006). Neurone der BLA kodieren außerdem die motivationale Signifikanz von Belohnungen und belohnungsprädiktiven Stimuli (Baxter und Murray, 2002;

Holland und Gallagher, 1999). Der Nucleus Accumbens gilt als eine Struktur, die eher wichtig für die Aktivierung von instrumentellen Handlungen ist (Balleine und Killcross, 1994; Parkinson *et al.*, 2000). Er erhält viele Afferenzen aus Arealen der Hirnrinde, wie dem PFC und der BLA. Die Umsetzung einer Handlungsstrategie durch die BLA und den ACC in eine angemessene Verhaltensantwort wird sehr wahrscheinlich über corticostriatale Verbindungen vom ACC zum Nucleus Accumbens und nachgeschalteten motorischen Strukturen vermittelt (Floresco und Ghods-Sharifi, 2006; Parkinson *et al.*, 2000).

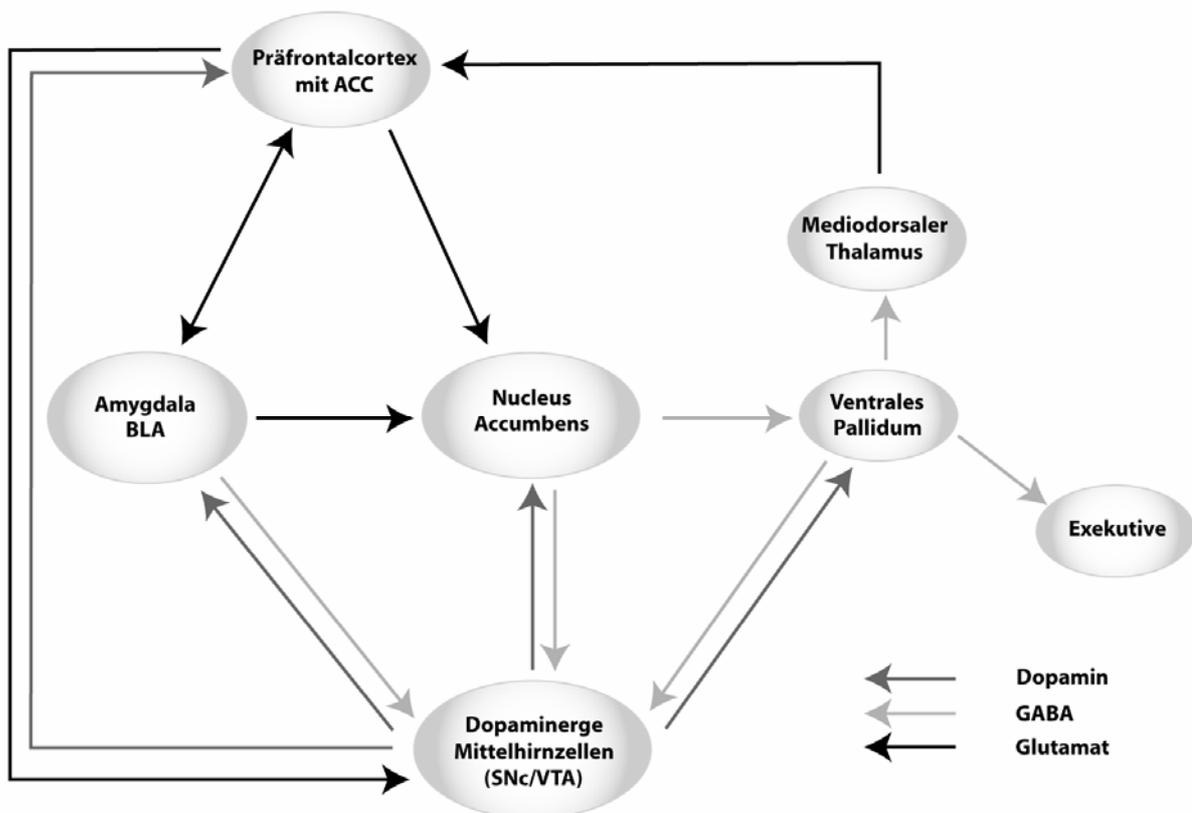


Abbildung 5.5 Der Motivationsschaltkreis.

Dieser Schaltkreis dient der Wahrnehmung und Initiierung von Verhaltensantworten, die mit Belohnungen verknüpft sind. Drei der wichtigsten Neurotransmittersysteme, die in diesem Schaltkreis eine Rolle spielen, sind in dem Schaubild dargestellt. Verändert nach Kalivas und Nakamura (1999).

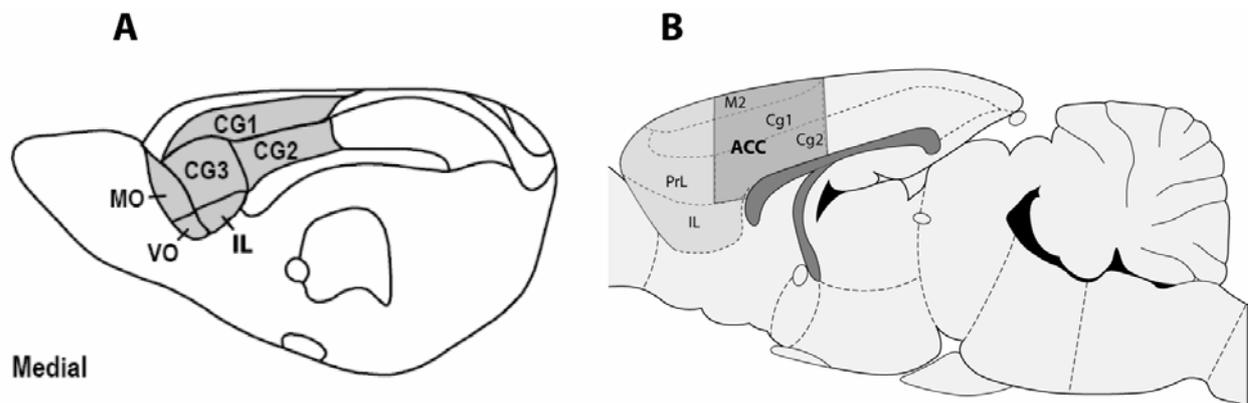
#### 5.4 Der anteriore cinguläre Cortex: Eine wichtige Struktur des Präfrontalcortex

Die Großhirnrinde von Säugetieren lässt sich in vier Teile unterteilen, den Okzipital-, den Temporal-, den Parietal- und den Frontalcortex. Der Frontalcortex, der am weitesten vorne gelegene Teil des Großhirns, selbst lässt sich nochmals in verschiedene Untergebiete unterteilen, die motorischen Areale und den Präfrontalcortex. Bei Menschen und Primaten lässt sich der Präfrontalcortex durch anatomische Merkmale, den Sulci (Furchen) und aufgrund zytoarchitektonischen Merkmale gut von den mo-

torischen Arealen abgrenzen (Creutzfeld, 1983; Thier, 2006). Aufgrund makroskopischer Merkmale ist es schwer, Homologien zwischen Primaten und Nagetieren zu finden. Denn beim Cortex der Nagetiere fehlen die typischen Gyri und Sulci der Primaten und des Menschen. Weiterhin fehlen bei den Nagetieren einige zytoarchitektonische Besonderheiten des Präfrontalcortex, wie zum Beispiel die granuläre Schicht IV, welche bei Primaten sehr gut ausgebildet ist (Öngür und Price, 2000).

Die Größe des Gehirnvolumens hat sich parallel zur evolutionären Ausdifferenzierung der corticalen Gehirngebiete und durch die Entwicklung von komplexen, kognitiven Hirnfunktionen entwickelt (Preuss und Kaas, 1999). Der Präfrontalcortex ist der Teil des Gehirns, der sich im Laufe der Evolution der Tiere am stärksten vergrößert hat. Laut Brodmann (1909) ist der Präfrontalcortex einzig und allein bei Primaten zu finden.

Diese Meinung war allerdings bald überholt, Rose und Woolsey (1948) stellten die folgende Definition auf: Bei Säugetieren gehören jene Bereiche des Cortex zum Präfrontalcortex, die vom mediodorsalen Thalamus innerviert werden. Das Gehirn der Ratte ist zwar um ein Vielfaches kleiner als das von Primaten oder Menschen, aber anhand von anatomischen und funktionalen Studien konnte gezeigt werden, dass Ratten einen funktionellen Präfrontalcortex haben (Übersicht in Uylings *et al.*, 2003).



**Abbildung 5.6 Der mediale Präfrontalcortex der Ratte.**

Dargestellt sind zwei schematische Sagittalschnitte des Rattengehirns. **A** zeigt den medialen Präfrontalcortex nach Zilles und Wree (1995). **B** zeigt die Definition des Präfrontalcortex nach Paxinos und Watson (1997). Die grau unterlegten Abschnitte sind Teile des medialen Präfrontalcortex der Ratte, die dunkler unterlegten Teile des ACC in B sind die Bereiche des ACC, welche in dieser Arbeit untersucht worden sind. ACC - anteriorer cingulärer Cortex; Cg1, 2, 3 - cingulärer Cortex (Area 1, 2, 3); IL - infralimbischer Cortex; M2 - sekundärer motorischer Cortex; MO - medialer orbitaler Cortex; PrL - prälimbischer Cortex; VO - ventraler orbitaler Cortex. Modifiziert nach Zilles und Wree (A, 1995) und Paxinos und Watson (B, 1997).

Der Präfrontalcortex der Ratte kann in mehrere Subregionen, den orbito-frontalen Cortex, den agranulären insulären Cortex und den medialen Präfrontalcortex unterteilt werden. Der mediale Präfrontalcortex (s. Abb. 5.6) teilt sich weiter in den ACC, den prälimbischen und den infralimbischen Cortex (Bussey *et al.*, 1996; Cardinal *et al.*, 2002b; Heidbreder und Groenewegen, 2003; Zilles und Wree, 1995). Die Definition dieser Teilgebiete ist sehr uneinheitlich. In dieser Arbeit beziehe ich mich auf die Nomenklatur von Zilles und Wree (1995) und Cardinal und Kollegen (2002a; 2002b), welche den PFC der Ratte in den ACC, den agranulären insulären Cortex und den Orbitofrontalcortex unterteilen. Der ACC wird weiterhin in die Subregionen Cg1, Cg2 und Cg3 unterteilt, obwohl im Stereotaktischen Atlas von Paxinos und Watson (1997) die Cg3-Region als prälimbischer Cortex (PrL) bezeichnet wird. Diese Nomenklatur wurde in verschiedenen Arbeiten verwendet (Bussey *et al.*, 1997a; Bussey *et al.*, 1996, 1997b; Cardinal *et al.*, 2003), welche dieser Arbeit als Vorlage für die Lokalisierung der späteren Läsionen dienten. Daher wurde diese Nomenklatur auch in der vorliegenden Arbeit angewendet.

#### 5.4.1 Anatomie und Verschaltung des ACC

Der ACC wird rostral vom prälimbischen und infralimbischen Cortex begrenzt, caudal grenzt er an den posterioren cingulären Cortex oder auch retrosplenialer Cortex genannt. Dorsal über dem ACC befinden sich motorische Strukturen und ventral der Balken (Corpus Callosum). Die Cg1- und die Cg2-Regionen des ACC erstrecken sich noch rostral über das Knie des Balkens.

Der ACC verfügt über eine Vielzahl von Verbindungen zu anderen Gehirnstrukturen, welche in Tab. 5.1 kurz zusammengefasst sind.

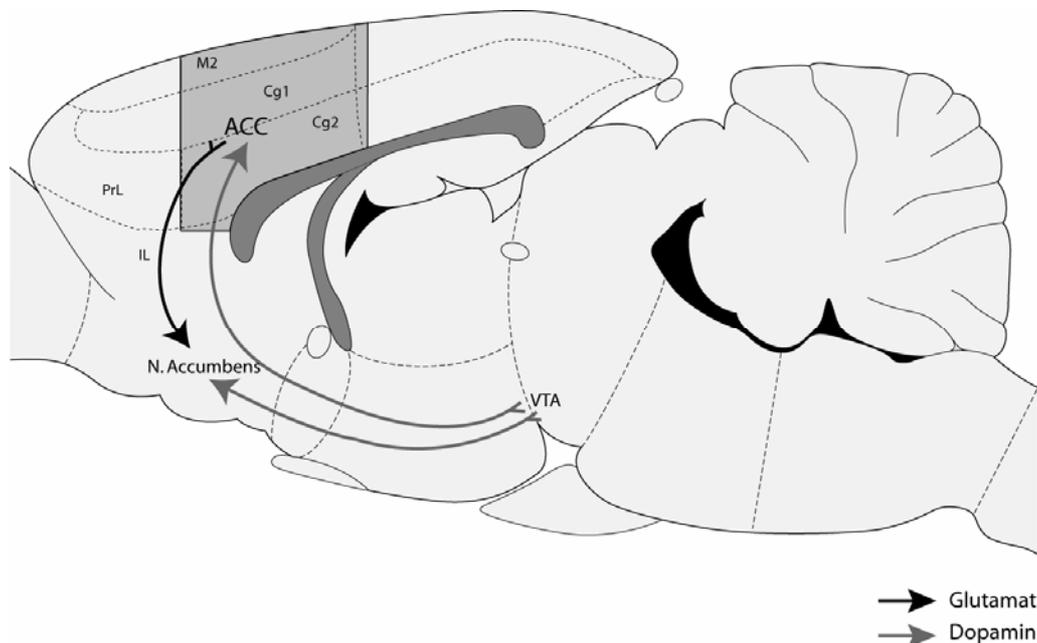
Der mediale Präfrontalcortex (prägenuale Areale, Cg1 und PrL) projiziert über glutamaterge Bahnen zur *core*-Region des Nucleus Accumbens (s. Abb. 5.7, Brog *et al.*, 1993; Cardinal *et al.*, 2002a). Weitere Efferenzen des ACC projizieren zur Amygdala und dem mediodorsalen Thalamus. Der postgenuale ACC (Cg1 und Cg2) projiziert zum mediodorsalen Nucleus Caudatus, zum mediodorsalen Thalamus und zur Amygdala, und schließlich der posteriore cinguläre Cortex projiziert zu verschiedenen thalamischen Strukturen, der Hippocampus-Formation, dem visuellen Cortex und dem dorsalen und mediodorsalen Striatum, auch diese Verbindungen sind glutamaterg.

<b>Afferenzen des ACC</b>
Basaler Nucleus von Meynert, basolaterale Amygdala, Raphé-Nuclei, Locus coeruleus, mediodorsaler Thalamus, weitere Teile des Thalamus und Hypothalamus, Substantia nigra, ventrales tegmentales Areal, infralimbischer Cortex, contralaterale Teile des ACC, Areale des agranulären, insulären Cortex, u.a.
<b>Efferenzen des ACC</b>
mediodorsaler Thalamus und andere thalamische Regionen, pontine Nuclei, medianer Nucleus Raphé, Colliculus superior, agranulärer insulärer Cortex, entorhinaler Cortex, retrosplenialer Cortex (posteriorer cingulärer Cortex), Caudatus Putamen, Nucleus accumbens, Amygdala, VTA, u.a.

**Tabelle 5.1 Verbindungen des ACC.**

Zusammenstellung aus Zilles und Wree (1995) und Brog *et al.* (1993).

Der ACC erhält afferente Eingänge sowohl aus corticalen, als auch aus subcorticalen Gehirngebieten. Eine für diese Arbeit besonders relevante Verbindung ist die dopaminerge Innervation des ACC aus dem Mittelhirn, insbesondere dem ventralen tegmentalen Areal (s. Abb. 5.7, Berger *et al.*, 1991).



**Abbildung 5.7 Schematische Darstellung des ACC der Ratte im Sagittalschnitt.**

Dargestellt sind afferente und efferente Verbindungen des ACC vom ventralen tegmentalen Areal und dem Nucleus Accumbens, der auch Afferenzen vom VTA erhält. Die Verbindungen des VTA sind dopaminerg, die Verbindung vom ACC zum Nucleus Accumbens ist glutamaterg. Cg1, 2 - cingulärer Cortex (Area 1, 2); IL - infralimbischer Cortex; M2 - sekundärer motorischer Cortex; PrL - prälimbischer Cortex. Modifiziert nach Paxinos und Watson (1997).

### 5.4.2 Exekutive Kontrolle des Verhaltens durch den ACC

Der Präfrontalcortex ist nicht notwendig, um einfache, automatische Verhaltensweisen zu steuern. Vielmehr werden dem Präfrontalcortex unter anderem eine Reihe von höheren kognitiven Kontrollprozessen zugeordnet, die als exekutive Funktionen bezeichnet werden. Dabei ist seine starke Vernetzung mit vielen anderen corticalen Regionen, den motorischen Arealen und anderen subcorticalen Gebieten von großer Bedeutung.

Der Präfrontalcortex ist für die Veränderung und die Anpassung des Verhaltens aufgrund von internen und externen Randbedingungen zuständig. Das bedeutet, er spielt vor allem dann eine Rolle, wenn ein Lebewesen verschiedene externe sensorische Informationen und interne Einflüsse, wie z.B. Motivation, Erinnerungen, emotionale Zustände, etc., integrieren muss, um daraufhin ein geeignetes Verhalten zu generieren. Zu den Verhaltensweisen, die durch den Präfrontalcortex gesteuert werden, gehören u.a. die Aufmerksamkeit und Inhibition (Suppression irrelevanten Verhaltens), Handlungsplanung und Handlungsüberwachung. Diese Funktionen dienen dazu, Handlungen über mehrere Teilschritte hinweg auf ein übergeordnetes Ziel hin zu planen, Aufmerksamkeit auf wichtige Dinge zu konzentrieren und ungeeignete Handlung zu unterdrücken (Karnath und Thier, 2006).

### 5.4.3 Funktionen des ACC bei Menschen

Der ACC spielt eine Schlüsselrolle bei der Steuerung von vielen sensomotorischen, kognitiven und emotionalen Prozessen des Menschen, so z.B. bei der Aufmerksamkeitssteuerung, der Handlungsselektion, der Zuweisung motivationaler Werte, Antizipation, Neuheitsdetektion, beim Arbeitsgedächtnis oder der Belohnungsdetektion (Bush *et al.*, 2000; Bush *et al.*, 2002). Es ist schwierig, die genaue Funktion des ACC beim Menschen zu beschreiben. Denn es gibt kaum Fallbeschreibungen von Menschen mit isolierten ACC-Läsionen (Cohen *et al.*, 1999; Devinsky *et al.*, 1995).

Die beschriebenen ACC-Läsionen sind meist von Patienten mit entfernten Tumoren im Frontalcortex. Man kann nicht ausschließen, dass durch Entfernung eines Tumors auch das Cingulum-Bündel, eine prominente corticale Faserverbindung, in Mitleidenschaft gezogen wurde, und somit können auch Funktionen des orbitalen Präfrontalcortex beeinträchtigt sein (Cardinal *et al.*, 2002a). Andere Untersuchungen zur Funktion des ACC wurden mit Hilfe von bildgebenden Verfahren gemacht, aber auch bei diesen kann nur eine ungenaue Beurteilung der Funktionen des ACC gemacht werden. Dennoch kann man anhand solcher Studien davon ausgehen, dass der



Eine häufig angewandte Aufgabe, um die Funktionen des Präfrontalcortex bei Konflikt-Situationen bei Menschen zu untersuchen, ist der Stroop-Test (Stroop, 1935). Bei diesem Verhaltenstest, werden der Versuchspersonen Wörter in verschiedenen Farben präsentiert (s. Abb. 5.8). Die Versuchsperson muss die Farbe des Wortes sagen und dabei die Bedeutung des Wortes ignorieren. An sich ist diese Aufgabe leicht zu bewältigen.

Wenn allerdings die Farbe des Wortes inkongruent zu dessen Bedeutung dargestellt wird, z.B. das Wort blau in der Farbe 'rot' geschrieben ist, dann kommt es zum Konflikt bei der Antwortwahl. Dieser Konflikt beruht auf der parallel ablaufenden Verarbeitung von zwei neuronalen Prozessen im Gehirn, nämlich das Lesen und die Benennung der Farbe. Das Lesen ist ein gelernter Prozess, der sehr schnell abläuft und daher eher präsent als die Benennung der Farbe, welche Aufmerksamkeit beansprucht und langsamer verarbeitet wird. Durch diesen Konflikt wird die Latenzzeit deutlich erhöht und die Versuchsperson macht häufiger Fehler bei der Beantwortung. Die metabolische Aktivität des ACC ist bei der Lösung dieser Aufgabe stark erhöht (Pardo *et al.*, 1999). Wenn der Proband Fehler im Stroop-Test macht, lässt sich ein ERN per EEG ableiten (Liotti *et al.*, 2000).

Durch bildgebende Verfahren, wie die funktionelle Magnetresonanztomographie und EEG-Untersuchungen, kann allerdings nur gezeigt werden, ob im ACC während z.B. der Durchführung einer bestimmten Aufgabe oder bestimmten Gefühlszuständen eine erhöhte neuronale Aktivität zu finden ist. Durch diese bildgebenden Verfahren kann nicht beurteilt werden, ob der ACC zur Durchführung dieser Aufgabe essentiell ist.

#### **5.4.4 Funktionen des ACC bei Primaten**

Anhand von tierexperimentellen Untersuchungen an subhumanen Primaten konnte gezeigt werden, dass der ACC eine wichtige Rolle bei der Steuerung von zielgerichtetem Verhalten spielt. Ito und Kollegen (2003) wiesen in elektrophysiologischen Messungen nach, dass die Aktivität von Neuronen im ACC nicht nur bei fehlerhaften Handlungen anstieg, sondern auch nach dem Erhalt von Belohnungen. Weiterhin geht aus elektrophysiologischen Untersuchungen hervor, dass ACC-Neurone auch Stimulus-assoziierte motivationale Werte kodieren und den Grad der Belohnungserwartung bei schrittweiser Annäherung an die Belohnung widerspiegeln (Shidara und Richmond, 2002; Shima und Tanji, 1998).

Excitotoxischen Läsionen des ACC beeinträchtigen das Verhalten von Primaten in Aufgaben, bei denen Handlungs-Belohnungs-Zusammenhänge abgefragt werden (Hadland *et al.*, 2003). Primaten mit ACC-Läsionen waren zwar in der Lage mit verschiedenen Belohnungen, welche mit unterschiedlichen Stimuli assoziiert waren, zu diskriminieren. Aber sie hatten Defizite, wenn sie unterschiedliche Handlungen mit verschiedenen Belohnungen assoziieren sollten. Diese Befunde sprechen dafür, dass der ACC maßgeblich daran beteiligt ist, die Kontingenz von Handlungen und Belohnungen zu kodieren.

#### 5.4.5 Funktionen des ACC bei Nagetieren

Dem ACC von Nagetieren und Kaninchen wird eine besondere Rolle beim Lernen von appetitiven und aversiven Stimulus-Verstärkungs-Beziehungen zugesprochen. Bei Kaninchen ist der ACC wichtig für das Lernen von aktiven Vermeidungen (*active avoidance*). Dabei muss das Kaninchen lernen, beim Ertönen eines Tonsignal (CS+) seine Position in der Testkammer zu wechseln, um einem elektrischen Stromschlag (*footshock*) zu entgehen. Ertönte ein anderes Tonsignal (CS-), hatte dies keine negativen Konsequenzen. Gabriel und Kollegen (1990; 1991) demonstrierten, dass das Diskriminierungslernen durch Läsionen des ACC bei den Kaninchen beeinträchtigt war. Dieses Defizit beruhte offensichtlich auf hier fehlenden Assoziationen von Stimuli und ihren Konsequenzen.

Die Funktion des ACC der Ratte wurde eher bei appetitiven Lernvorgängen untersucht. Eine ganze Reihe von Untersuchungen hat gezeigt, dass Ratten mit ACC-Läsionen ein Defizit beim Erlernen und Abrufen von klassisch-konditionierten Verhaltensweisen haben (Bussey *et al.*, 1997a; Cardinal *et al.*, 2002b; Cardinal *et al.*, 2003). Weiterhin beeinträchtigen Läsionen des ACC bei Ratten das Erlernen einer 8-Paar-Diskriminierungs-Aufgabe. In dieser Aufgabe müssen Ratten lernen, welcher Stimulus in jedem der acht dargebotenen Paare komplexer visueller Stimuli belohnungsprädiktiv ist (Bussey *et al.*, 1997b). ACC-Läsionen lösen vor allem dann ein Defizit aus, wenn Ratten multiple Stimuli auseinander halten sollen, bei einfachen Diskriminierungen dagegen nicht (Übersicht in Cardinal *et al.*, 2002a). Cardinal *et al.* (2003) nimmt daher an, dass eine wichtige Aufgabe des ACC darin besteht, in komplexen Lernsituationen die Diskriminierung belohnungsprädiktiver Stimuli zu verbessern<sup>1</sup>.

---

<sup>1</sup> *'disambiguation'* s. Cardinal *et al.* (2003).

Der ACC scheint außerdem dann eine wichtige Rolle zu spielen, wenn ein Tier darüber entscheiden muss, ob es sich 'lohnt' ein bestimmtes Verhalten in Abhängigkeit von den dafür aufzuwendenden Kosten und den daraus resultierenden Nutzen durchzuführen. Dieses Verhalten wurde in einer T-Labyrinth-Aufgabe untersucht, in der Ratten die Wahl hatten, für eine höhere Belohnung über eine Barriere zu klettern ('hohe Kosten - hoher Nutzen') oder im anderen Zielarm eine niedrigere Belohnung ohne Aufwand ('niedrige Kosten - niedriger Aufwand') zu erhalten (Cousins *et al.*, 1996; Denk *et al.*, 2005; Salamone *et al.*, 1994; Walton *et al.*, 2003; Walton *et al.*, 2002; Walton *et al.*, 2005). Während unbehandelte Ratten fast immer die hohen Kosten für die hohe Belohnung in Kauf nahmen, zeigten sich postoperativ bei Ratten mit ACC-Läsionen eine Veränderung in der Präferenz in Richtung niedrige Kosten - niedriger Aufwand. Der ACC scheint demnach in Kosten-Nutzen-abhängigen Entscheidungsprozessen eine Rolle zu spielen, wenn die Ratte eine Entscheidung treffen muss, welche instrumentelle Verhaltensweise hinsichtlich ihres Aufwandes und Nutzens 'lohnender' ist (Rushworth *et al.*, 2004).

### ***5.5 Dopamin: ein wichtiger Neurotransmitter des anterioren cingulären Cortex***

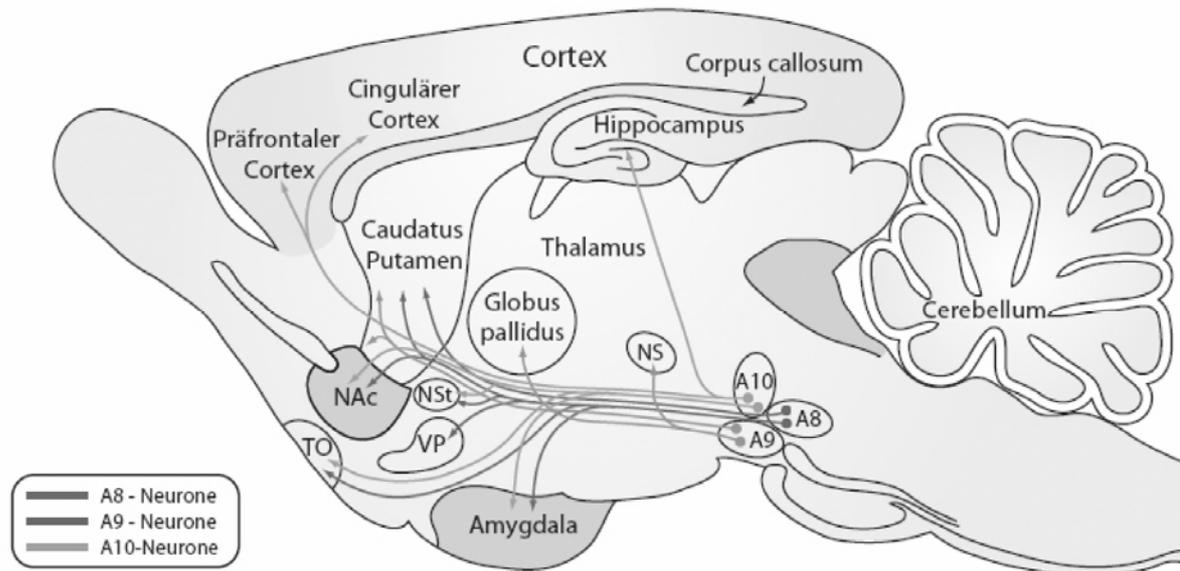
In dieser Arbeit wurde nicht nur die Rolle des ACC bei Kosten-Nutzen-abhängigen Entscheidungsprozessen im Allgemeinen untersucht, sondern zusätzlich noch die Beteiligung von Dopamin, einem wichtigen Neurotransmitter des ACC, an diesen Verhaltensweisen. Daher möchte ich im folgenden Kapitel den Neurotransmitter Dopamin etwas näher vorstellen.

Zunächst werde ich verschiedene Dopaminsysteme des zentralen Nervensystems (ZNS) vorstellen. Danach möchte ich die Biosynthese des Neurotransmitters Dopamin und einige der Dopamin-Rezeptoren beschreiben. Abschließend werde ich Funktionen von Dopamin innerhalb des Motivationsschaltkreises darstellen.

#### **5.5.1 Dopaminerge Systeme des Vorderhirns**

Die dopaminerge Innervation des Vorderhirns hat ihren Ursprung in mehreren neuronalen Arealen des Mittelhirns (s. Abb. 5.9). Zwei der prominentesten Ursprungsgebiete sind die Substantia nigra pars compacta (SNc) und das Ventrale Tegmentale Areal (VTA) (Björklund und Lindvall, 1984). Es handelt sich dabei um 'aufsteigende' Dopaminsysteme (Fuxe *et al.*, 1985), weil die Axone der im Mittelhirn gelegenen Dopamin-Zellen über das mediale Vorderhirnbündel und die Capsula interna in unterschiedliche Teile des Vorderhirns projizieren. Wegen ihres Projekti-

onsverlaufes werden drei verschiedenen dopaminerge Systeme im Vorderhirn unterschieden (Cooper *et al.*, 2003; Fuxe *et al.*, 1985).



**Abbildung 5.8 Schematische Darstellung des Dopamin-Systems.**

Aufsteigende Projektionen der dopaminergen Neurone aus der Substantia nigra (A9) und des VTA (A8, A10). NAc - Nucleus Accumbens, NS - Nucleus Subthalamicus, NST - Interstitialkern der Stria Terminalis, TO - olfaktorisches Tuberkel, VP - ventrales Pallidum. Modifiziert nach Cooper *et al.* (2003) und Giertler (2003).

Die Projektion von der Substantia nigra zum Striatum wird als nigrostriatales System bezeichnet. Eine Degeneration von dopaminergen Neuronen in diesem System ist die Ursache der Parkinson-Krankheit. Das zweite dopaminerge System des Vorderhirns ist das mesolimbische System. Dieses umfasst vor allem dopaminerge Neurone des VTA, die zu Zielgebieten des limbischen Systems wie dem Nucleus accumbens, der Amygdala und dem Septum projizieren. Das mesocorticale System hat seinen Hauptursprung auch innerhalb des VTA. Das mesocorticale System innerviert Areale des Frontalcortex, wie den medialen Präfrontalcortex und den anterioren cingulären Cortex.

### 5.5.2 Biosynthese des Dopamins

Der Neurotransmitter Dopamin (Hydroxytyramin, 3,4-Dihydroxy- $\beta$ -phenylethylamin) gehört neben Adrenalin und Noradrenalin zur Gruppe der Catecholamine. Es ist einer der wichtigsten Neurotransmitter im zentralen Nervensystem.

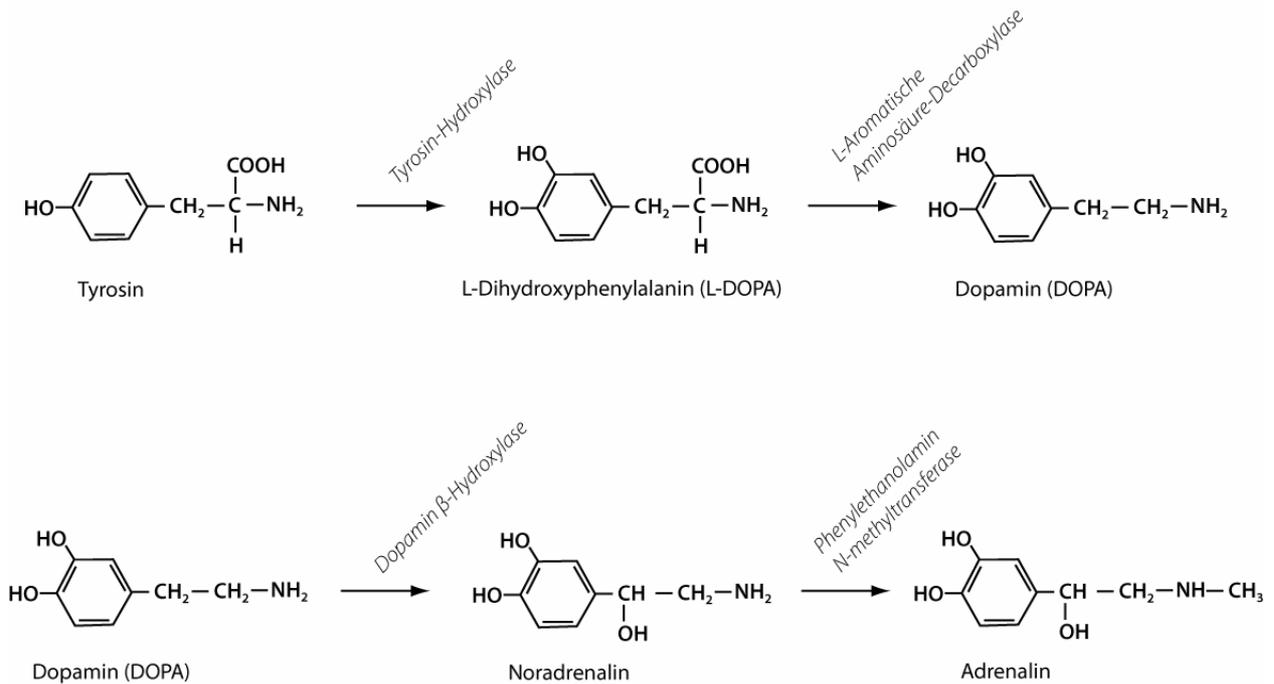
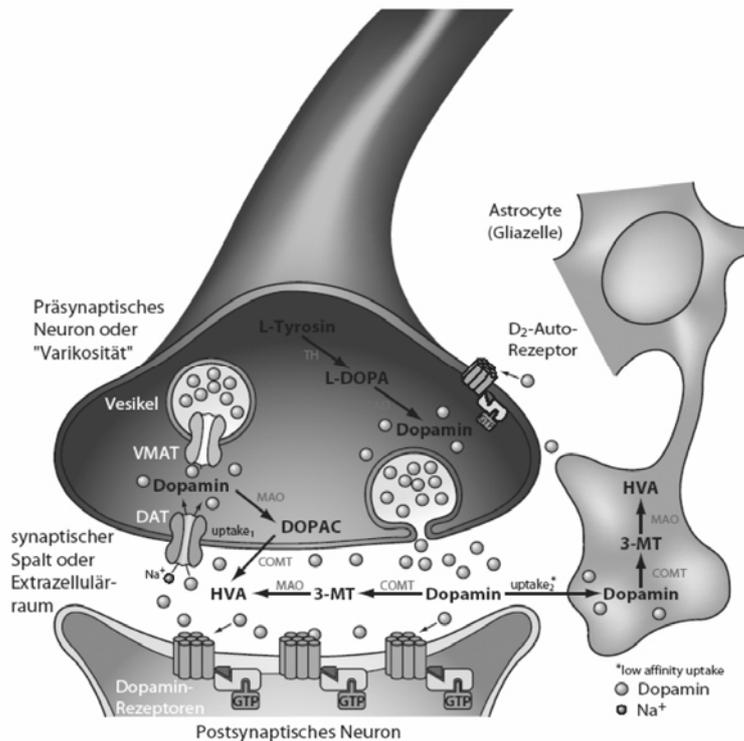


Abbildung 5.9 Dopamin-, Noradrenalin- und Adrenalin-Bioynthese.

Die Biosynthese des Dopamins findet im Cytoplasma von catecholaminergen Neuronen statt. Es wird aus der Aminosäure Tyrosin synthetisiert und hat einen ähnlichen Biosyntheseweg wie die Neurotransmitter Adrenalin und Noradrenalin. Bis in die 50er Jahre des 20. Jahrhunderts galt daher Dopamin auch nur als eine Vorstufe von Adrenalin und Noradrenalin. Der Biosyntheseweg des Dopamins (s. Abb. 5.10) wird durch zwei Enzyme gesteuert, die Tyrosinhydroxylase (TH) und die L-aromatische Aminosäure-Decarboxylase. Die TH, eine Oxidase, wandelt die Aminosäure L-Tyrosin und Sauerstoff in L-Dihydroxyphenylalanin (L-DOPA) um (s. Abb. 5.10). Dafür braucht die TH einen reduzierten Pteridin-Cofaktor (Pt-2H), welcher durch die Pteridin-Reduktase aus Pteridin gebildet wird. Anschließend wird in einem zweiten Schritt L-DOPA durch die L-aromatische Aminosäure-Decarboxylase in Dopamin und Kohlendioxid umgesetzt (Kandel *et al.*, 1995). Der Geschwindigkeit bestimmende Schritt bei der Synthese ist die Umwandlung des Tyrosins in L-DOPA. Der zweite Schritt geschieht so schnell, dass der L-DOPA-Spiegel im Gehirn unter Normalbedingungen sehr gering ist (Cooper *et al.*, 2003). In zwei weiteren Schritten kann Noradrenalin und Adrenalin gebildet werden. In noradrenergen Neuronen wird durch das Enzym Dopamin-β-Hydroxylase Dopamin in Noradrenalin umgewandelt. Und in adrenergen Neuronen wird Noradrenalin durch die Phenylethanolamin-N-methyltransferase zu Adrenalin methyliert.

### 5.5.3 Freisetzung, Wiederaufnahme und Abbau des Dopamins

Das cytoplasmatisch-synthetisierte Dopamin wird in den Neuronen über einen vesikulären Monoamintransporter (VMAT) in Vesikel aufgenommen und gespeichert. Eine neuronale Aktivierung durch Aktionspotentiale führt zu einer Öffnung von präsynaptischen, spannungsabhängigen Kanälen, durch die Calcium-Ionen einströmen. Diese bewirken eine Fusion der Dopamin-Vesikel mit der präsynaptischen Membran und die Freisetzung von Dopamin in den extrazellulären Spalt.



**Abbildung 5.10 Dopaminmetabolismus in einer Synapse.**

Beschreibung siehe Text. Abkürzungen: COMT - Catechol-O-Methyltransferase, DAT - Dopamin-Transporter, DOPAC - Dihydroxyphenylethylsäure, GTP - Guanosintriphosphat, HVA - Homovanillinsäure, MAO - Monoaminoxidase, 3-MT - Methoxytyramin, VMAT - vesikulärer Monoamintransporter. Modifiziert nach Black (1993), Feldman et al. (1997) und Giertler (2003).

Die Dopaminsynthese und die Dopaminfreisetzung werden von Autorezeptoren an der Präsynapse reguliert. Die zeitliche Begrenzung der Dopaminfreisetzung kann auf verschiedene Weisen kontrolliert werden. Zum einen kann das extrazelluläre Dopamin durch einen Dopamintransporter (DAT) in die Präsynapse wieder aufgenommen werden (Reuptake) oder es wird enzymatisch abgebaut. Aber auch Diffusion spielt hierbei eine Rolle. Das durch DAT wieder aufgenommene extrazelluläre Dopamin wird erneut mit Hilfe von VMAT in Vesikel eingeschlossen und kann so wieder verwendet werden.

Der Abbau von Dopamin wird durch zwei Enzyme verursacht: erstens die Monoaminoxidase (MAO) und zweitens die Catecholamin-O-methyltransferase (COMT). Die Monoaminoxidase ist in der äußeren Membran der Mitochondrien lokalisiert und liegt in zwei Isoformen vor, MAO-A und MAO-B, die sich in ihrer Substratspezifität hinsichtlich anderer Monoamine unterscheiden. Die COMT ist ein cytoplasmatisches Enzym.

Nach der Wiederaufnahme des Dopamins in die Präsynapse wird dieses mit Hilfe von der MAO in Dihydroxyphenylethylsäure (DOPAC) katalysiert, und danach durch die COMT zu Homovanillinsäure (HVA) methyliert (Kruk und Pycock, 1991). Im Rattenhirn ist DOPAC der Hauptmetabolit, sowohl DOPAC als auch HVA kommen in einer Sulfat-konjugierten Form oder als freier Metabolit häufig vor. Beim Menschen und anderen Primaten ist die HVA der Hauptmetabolit, welche aber nur in kleinen Mengen in der konjugierten Form vorkommt (Cooper *et al.*, 2003). Sowohl DOPAC als auch HVA liegen in relativ hohen Konzentrationen extrazellulär vor und sind mit Hilfe neurochemischer Verfahren messbar.

#### 5.5.4 Dopamin-Rezeptoren

Dopamin-Rezeptoren gehören zu den G-Protein-gekoppelten Rezeptoren. Diese steuern als metabotrope Rezeptoren Ionenkanäle und andere Effektoren indirekt, in dem sie G-Proteine aktivieren, welche im Neuron eine Second-Messenger-Kaskade in Gang setzen. Die Dopamin-Rezeptoren sind integrale Membranproteine mit sieben Membran-durchspannenden  $\alpha$ -Helices. Die Bindungsstelle für das Dopamin befindet sich auf der extrazellulären Seite des Rezeptors. Auf der cytoplasmatischen Seite befindet sich die Bindungsregion für das jeweilige G-Protein. Die Bindung eines Liganden bewirkt eine Konformationsänderung des Rezeptors, was zu der Aktivierung des G-Proteins führt.

Man unterscheidet je nach Lokalisierung zwei Gruppen von Dopamin-Rezeptoren. Rezeptoren, welche sich auf nicht-dopaminergen Zellen befinden, bezeichnet man allgemein als postsynaptische Rezeptoren. Denn sie befinden sich auf Neuronen, die den Dopamin-freisetzenden Neuronen nachgeschaltet sind. Zweitens gibt es Rezeptoren, die sich auf den Axonen und Dendriten von Dopamin-Neuronen befinden. Diese befinden sich meist präsynaptisch auf Dopamin-Neuronen und werden als Autorezeptoren bezeichnet.

Autorezeptoren sind Teil eines Feedback-Mechanismus der Dopamin-Transmission. Sie entwickeln eine erhöhte Sensitivität nach wiederholter Gabe von Dopamin-



nylatcyclase. Dieses führt zu einer erhöhten Synthese von cyclischen Adenosinmonophosphat (cAMP) und einer Stimulation des intrazellulären Phosphoinositid-Turnovers (Cooper *et al.*, 2003). Die Gruppe der D2-Rezeptoren umfasst die D2-, D3- und D4-Rezeptoren. Eine Aktivierung der D2-Rezeptoren, welche mit einem inhibitorischen G<sub>i</sub>-Protein gekoppelt sind, bewirkt eine Hemmung der Adenylatcyclase. Dadurch erfolgt eine Hemmung spannungs-sensitiver Calcium-Kanäle. Gleichzeitig wird die Kalium-Leitfähigkeit erhöht und der Metabolismus von Phosphoinositid moduliert (Cooper *et al.*, 2003).

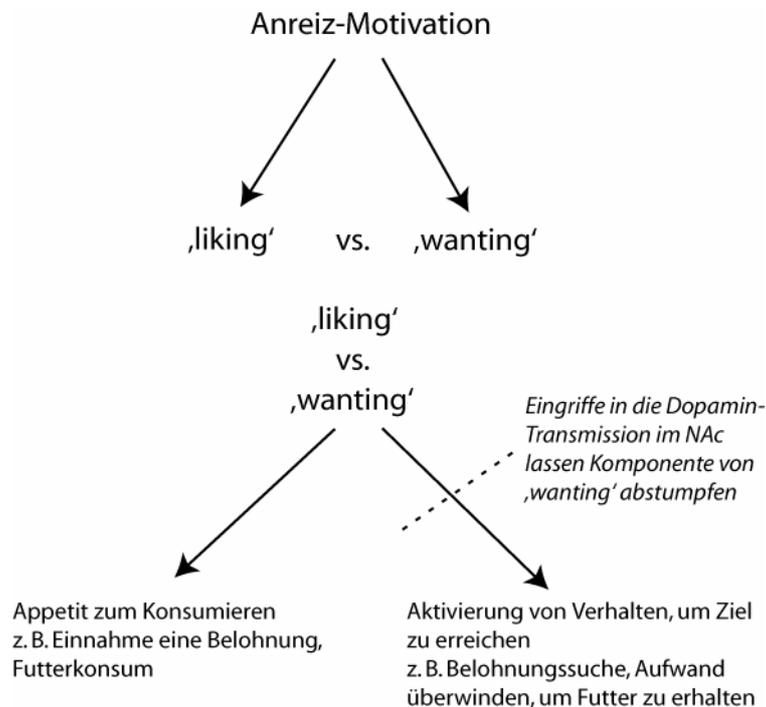
### ***5.6 Die Funktion von Dopamin im Nucleus accumbens***

Die Funktion des mesolimbischen Dopamins bei belohntem Verhalten und der Motivation ist bislang nur ansatzweise verstanden. Es gibt verschiedene Theorien, welche nicht immer mit einander korrespondieren.

Roy Wise stellte (1982) die umstrittene 'Anhedonie-Hypothese' auf. Wise behauptete, dass die mesolimbische Dopaminausschüttung bei der Nahrungsaufnahme, elektrischer Selbststimulation und der Einnahme von Suchtmitteln hedonische Gefühle auslöst. Diese Hypothese beruht vor allem auf Beobachtungen, dass die Gabe von Dopaminantagonisten den belohnenden Effekt von Futter, Wasser oder Suchtmitteln unterdrückten und die Tiere dadurch in einen Zustand der Anhedonie (Unlust) gerieten (Robbins und Everitt, 1996; Salamone, 1991; Wise, 1982).

Allerdings gab es in letzter Zeit vermehrt Hinweise darauf, dass diese Hypothese so nicht stimmt. Denn Ratten, die mit Dopamin-Antagonisten behandelt wurden oder bei denen die Dopamin-Transmission im Nucleus Accumbens unterbrochen wurde, waren durchaus noch in der Lage, Futterarten mit unterschiedlich belohnenden Effekten zu unterscheiden, und sie drückten auch einen Hebel, um an bevorzugtes Futter zu gelangen (Salamone *et al.*, 1991). Hatten Ratten die Wahl zwischen bevorzugtem Futter, welches mit einem hohen Aufwand (wiederholte Hebelbewegungen für ein Futterstück oder das Überqueren einer hohen Barriere) verbunden war, oder Futter mit geringerem Wert aber ohne Aufwand, verursachte eine Blockade von Dopaminrezeptoren eine Verhaltensänderung in Richtung der Handlungsoption niedrige Belohnung - niedriger Aufwand (Salamone *et al.*, 1994; Salamone *et al.*, 1991). Salamone (1994) stellte daraufhin die Hypothese auf, dass eine Unterbrechung der mesolimbischen Dopamintransmission im Nucleus accumbens nicht Anhedonie oder einen generellen Verlust der Motivation zu fressen auslöst. Vielmehr beein-

trächtigt ein Eingriff in das dopaminerge System die Verhaltensaktivierung, welches Salamone als 'Anergie' bezeichnet.



**Abbildung 5.11 Incentive-Motivation-Modell.**

Nach dem Modell von Berridge und Robinson (1998) und Salamone und Correa (2002) kann die Anreiz-Motivation (*incentive motivation*)<sup>2</sup> in zwei Aspekte '*liking*' und '*wanting*' geteilt werden. Eingriffe in die Dopamin-Neurotransmission im Nucleus Accumbens oder eine systemische Dopaminblockade verändern einen Teil des 'wantings' und bewirken eine veränderte Verhaltensaktivierung, z.B. in Kosten-Nutzen-abhängigen Entscheidungsaufgaben gegenüber einem höheren Aufwand. Modifiziert nach Salamone und Correa (2002).

Eine weitere sehr interessante Hypothese über die Funktion von Dopamin bei belohntem Verhalten ist die von Berridge und Kollegen (Berridge, 2004; Berridge und Robinson, 1998, 2003). Dopamin steuert demnach Aspekte der Anreiz-Motivation. Sie umfasst die zwei Bereiche '*liking*' und '*wanting*'. '*Liking*' ist im Wesentlichen ein hedonischer Effekt. Damit ist eine Reaktion im Gehirn gemeint, welche von einem sensorischen Reiz ausgelöst wird, wie z.B. das Schlecken mit der Zunge nach der Applikation einer süßen Flüssigkeit.

'*Wanting*' oder auch '*incentive-saliency*' meint die anziehende Motivationswirkung, die von der gleichen Belohnung ausgeht und einen Organismus zu der Belohnung

<sup>2</sup> Anreiz-Motivation ist der Versuch den englischen Begriff *incentive motivation* zu übersetzen, für den es keinen feststehenden deutschen Begriff gibt.

hinführt (Berridge, 2004). Auf Grundlage dieser Definitionen und der Bewertung von vielen früheren Untersuchungen meinen Berridge und Robinson (1998), dass das dopaminerge System essentiell für das '*wanting*', aber nicht für das '*liking*' der Belohnung oder auch das Lernen von Geschmackspräferenzen.

Salamone und Correa (2002) haben diese Theorie noch erweitert. Denn durch Eingriffe in die Dopamin-Neurotransmission wurde weder die Menge an konsumierten Futter, noch das Wahlverhalten zwischen zwei Futterarten oder zwei unterschiedlich großen Futtermengen beeinflusst (Denk *et al.*, 2005; Salamone *et al.*, 1994; Salamone *et al.*, 1991; Walton *et al.*, 2005), sondern vielmehr wird die Steuerung der Verhaltens, welche zur Nahrungsaufnahme führt, gestört. Daraus folgerten sie, dass Dopamin vor allem die Ausführung von Verhaltensweisen steuert, die einen Organismus zu Belohnungen führt, insbesondere wenn ein hoher Aufwand dafür zu leisten ist.

Es ist sehr schwer diese Hypothesen vergleichend zu beurteilen, denn keine kann die vorliegenden Daten widerspruchsfrei erklären. Daher ist es wichtig, die Funktionen von Dopamin im Gehirn weiter zu untersuchen, um vielleicht dadurch ein besseres Verständnis über die Dopamin-Funktion bei belohntem Verhalten zu erreichen.

### ***5.7 Dopamin im anterioren cingulären Cortex und im medialen Präfrontalcortex***

Im Präfrontalcortex gibt es sowohl Dopamin-Rezeptoren des D1- als auch des D2-Subtyps (Gaspar *et al.*, 1995). Eine optimale Dopamin-Transmission im Präfrontalcortex spielt eine wichtige Rolle bei der Verarbeitung von kognitiven Prozessen. Bis heute wurden vor allem Untersuchungen zur Funktion von Dopamin im Präfrontalcortex, die im Zusammenhang mit dem Arbeitsgedächtnis stehen, gemacht (Arnsten, 1997; Arnsten und Li, 2005; Arnsten, 1998; Floresco und Magyar, 2006; Granon *et al.*, 2000; Seamans *et al.*, 1998; Zahrt *et al.*, 1997). Dabei scheint insbesondere der D1-Rezeptor eine wichtige Rolle zu spielen. Dopaminsignale, die über den D2-Rezeptor vermittelt werden, scheinen bei solchen Aufgaben kaum eine Rolle zu spielen.

Neuere Untersuchungen zeigen allerdings, dass andere über den Präfrontalcortex vermittelte Prozesse wie die Verhaltensflexibilität nicht nur durch D1-Rezeptorvermittelte Signale gesteuert werden, sondern offenbar auch durch D2-Rezeptorvermittelte Signale (Floresco und Magyar, 2006; Floresco *et al.*, 2006).

Der ACC erhält eine relativ dichte Innervation von dopaminergen Fasern aus dem Mittelhirn (Berger *et al.*, 1991). Bisher gibt es nur wenige Untersuchungen zur Rolle der Dopamin-Innervation des ACC bei der Verhaltenssteuerung (Übersicht in

Ragozzino, 2000). Excitotoxische Läsionen des ACC induzieren Defizite bei Kosten-Nutzen-abhängigen Entscheidungen (Walton *et al.*, 2003). Daher wäre es interessant zu untersuchen, inwieweit die Dopamin-Transmission im ACC eine Rolle bei Kosten-Nutzen-anhängigen Entscheidungen spielt.

### ***5.8 Ziele der vorliegenden Arbeit***

Der ACC spielt als Schlüsselstruktur des Motivationsschaltkreises eine wichtige Rolle bei der Steuerung zielgerichteter Verhaltensweisen. Insbesondere beim Lernen von Verknüpfungen zwischen Umweltsignalen und Belohnungen scheint der ACC maßgeblich beteiligt zu sein. Auch bei Entscheidungsprozessen, welche von mehreren zu Disposition stehenden zielgerichteten Verhaltensweisen ein Organismus wählen soll, scheint der ACC beteiligt zu sein, wenn Kosten-Nutzen-bezogene Aspekte wichtig sind.

Insgesamt sind diese Erkenntnisse zur Funktion des ACC noch sehr lückenhaft. Vor allem ist unverständlich, welche Kategorien von zielgerichteten Verhaltensweisen der ACC steuert und welche nicht. Außerdem ist unklar, welchen Beitrag Dopamin, ein wichtiger Neurotransmitter des ACC, dabei leistet.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war, mit Hilfe von neurochemischen Methoden und Verhaltenstests die Rolle des ACC, einer Teilstruktur des Motivationsschaltkreises, bei zielgerichteten Verhaltensweisen und bei Entscheidungsverhalten zu untersuchen.

Folgende Punkte wurden in dieser Arbeit untersucht:

1. Trägt der ACC zum Erlernen der Verknüpfung von Umweltsignalen und Belohnungen bei (Experiment 1)
2. Spielt der ACC bei der Steuerung einfacher Kosten-Nutzen-abhängiger Entscheidungen eine Rolle? Dabei müssen Ratten in einer Skinnerbox entweder für bevorzugtes Futter einen Hebel drücken oder reguläres Laborfutter ohne Aufwand konsumieren. (Experiment 2)
3. Steuert der ACC komplexe Kosten-Nutzen-abhängige Entscheidungen? Dabei müssen Ratten in einer T-Labyrinth-Aufgabe entweder in dem einen Zielarm für eine hohe Belohnung über eine Barriere klettern oder in dem anderen Zielarm eine geringere Belohnung ohne Aufwand konsumieren? (Experiment 3)
4. Welchen Einfluss hat die Dopamin-Innervation des ACC bei der Kosten-Nutzen-abhängigen Wahlaufgabe im T-Labyrinth? (Experiment 4)

5. Ist der D1- oder der D2-Subtyp des Dopamin-Rezeptors an dieser Art von Entscheidungsverhalten beteiligt? (Experiment 5)

## 6 Methoden

Im folgenden Abschnitt werden die in dieser Arbeit verwendeten Methoden etwas ausführlicher als in den Publikationen beschrieben.

### 6.1 Versuchstiere und Haltung

Die Versuche wurden mit männlichen Sprague-Dawley Ratten (Charles River, Sulzfeld) durchgeführt, die bei Versuchsbeginn ein Gewicht von 200 bis 250 g aufwiesen. Die Tiere wurden in Gruppen von vier bis sechs Tieren in Standard Typ VI Makrolon-Käfigen bei konstanten Bedingungen (Temperatur:  $20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , Luftfeuchtigkeit 40-60%; zwölfständiger Licht-Dunkelwechsel: entweder 8:00 bis 20:00 Uhr oder bei umgekehrten Tag-Nacht-Rhythmus 20:00 bis 8:00 Uhr) gehalten. Den Tieren stand Wasser *ad libitum* zur Verfügung, gefüttert wurde restriktiv (15g Futter/Tag/Tier, Haltungsfutter, Altromin, Lage).

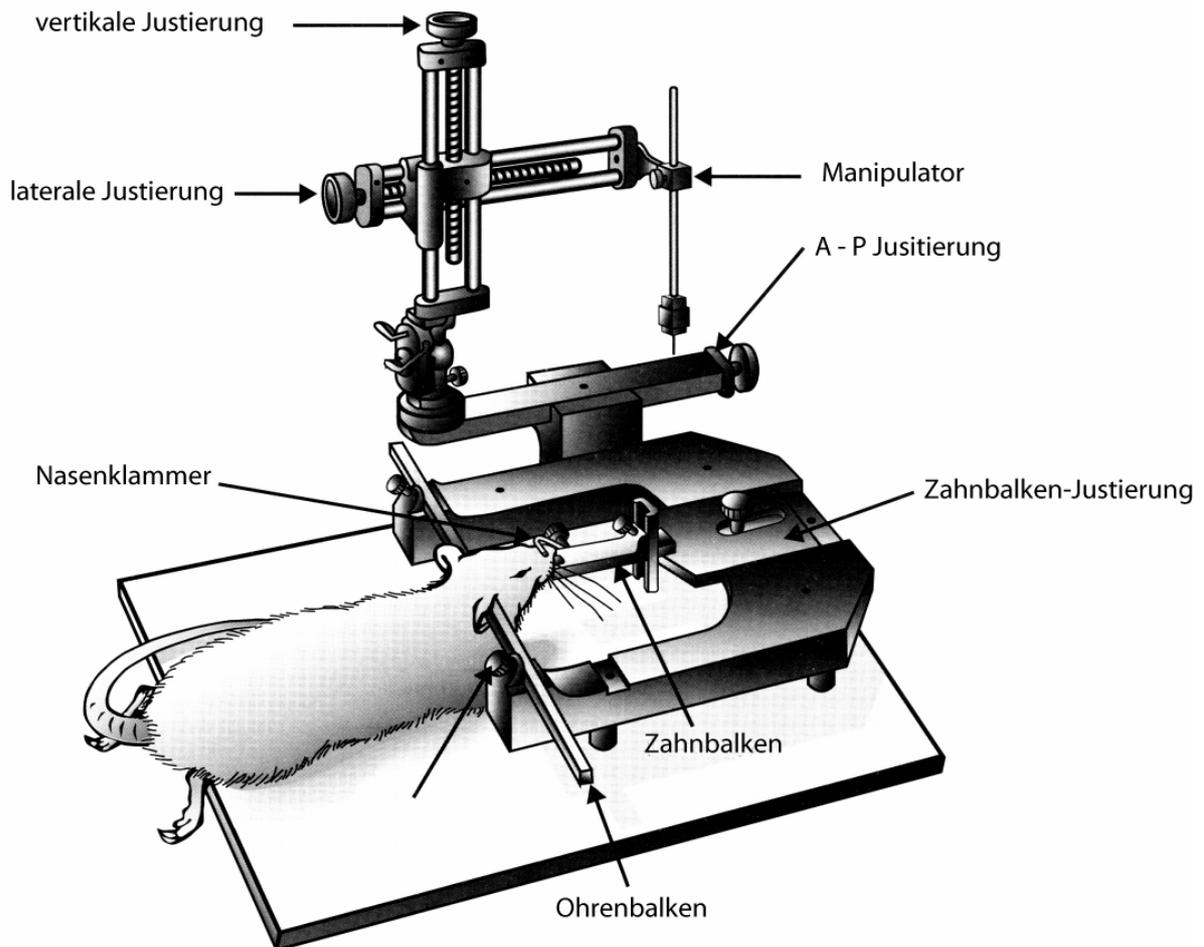
Die Versuche wurden unter Einhaltung des deutschen Tierschutzgesetzes (TSchG) durchgeführt und waren vom Regierungspräsidium Stuttgart genehmigt.

### 6.2 Stereotaktische Operationen und Substanzinfusionen

#### 6.2.1 Excitotoxische Läsionen

Die excitotoxischen Läsionen wurden mit 0,9 M Chinolinsäure (Sigma-Aldrich, Taufkirchen), gelöst in 0,1 M Phosphatpuffer, durchgeführt. Dafür wurde zunächst der Phosphatpuffer nach folgendem Rezept angesetzt: 0,07 M  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (Merck, Darmstadt) und 0,028 M  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  (Carl Roth, Karlsruhe) wurden in 100 ml bidestilliertem Wasser gelöst und die Lösung vor Gebrauch steril filtriert. Danach wurde Chinolinsäure in Phosphatpuffer gelöst und mit Natronlauge auf einen pH-Wert zwischen 7,2 und 7,4 eingestellt. Die Kontrolltiere bekamen Injektionen mit dem Phosphatpuffer.

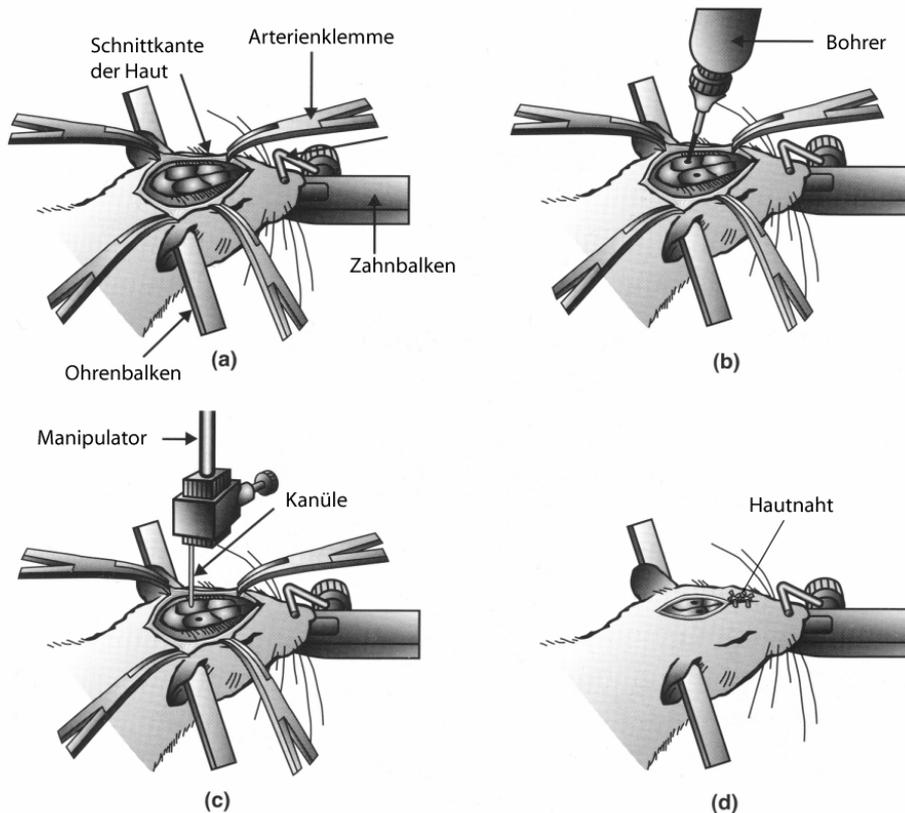
Nach einer Prämedikation mit Atropinsulfat (0.5 mg/kg i.p., WDT, Garbsen) zur Kreislauf-Stabilisierung wurden die Tiere mit Natrium-Pentobarbital (50-60 mg/kg i.p., Sigma-Aldrich, Taufkirchen) narkotisiert. Wenn die Narkose eingetreten war, wurde das Fell der Kopfdecke rasiert (Rasierer: Aesculap Favorita II, Aesculap, Tuttlingen) und anschließend die Haut mit 70% Alkohol desinfiziert. Dann wurde die Narkosetiefe nochmals durch den Zwischenzehenreflex überprüft; gegebenenfalls wurde nochmals Narkosemittel nachgespritzt (etwa 1/3 der Initialdosis in einer geringeren Verdünnung von 30 mg/ml).



**Abbildung 6.1** Schematische Darstellung eines Stereotaktischen Apparates.

Modifiziert nach Remie (2000).

Der Kopf des Tieres wurde mittels Ohrbalken in den stereotaktischen Apparat (David Kopf Instruments, Tujunga, CA, USA) eingespannt (s. Abb. 6.1), danach wurde die Schnauze des Tieres am Zahnstange (Position nach Paxinos und Watson 1997 - 3,3 mm) mit der Nasenklammer fixiert. Die Hornhaut des Tieres wurde mit einem Gel (Vidisic, Dr. Mann Pharma, Berlin) vor dem Austrocknen geschützt. In die Kopfhaut im Operationsbereich wurde zusätzlich 0,1 ml Lokalanästhetikum (Lidocainhydrochlorid, Xylolneural forte, Strathmann, Hamburg) injiziert und danach die Haut mit einem Schnitt beginnend zwischen den Augen bis hinter die Ohren geöffnet. Das Operationsfeld wurde mit Hilfe von an den Wundrändern befestigten Arterienklemmen offen gehalten (s. Abb. 6.2). Die Knochenhaut wurde entfernt und der Schädelknochen anschließend mit Wasserstoffperoxidlösung (10%) entfettet. Durch die Peroxidlösung sind auch kleinere Blutungen gestillt worden.



**Abbildung 6.2 Darstellung der einzelnen Operationsteilschritte.**

(a) Die narkotisierte Ratte ist durch die Zahn- und Ohrenbalken im Stereotaktischen Apparat eingespannt. Die Kopfhaut ist geöffnet, der Schädel freigelegt und die Knochennähte sind gut erkennbar. (b) Mit einem Bohrer werden die verschiedenen Löcher für die Injektionen bzw. Führungskanülen und Knochenschrauben in die Schädeldecke gebohrt. Modifiziert nach Remie (2000).

Vor der Operation wurde eine Mikroliterspritze (Modell 7001KH 1  $\mu$ l SYR (25s/2.75"/3), Hamilton Company, Reno, NV, USA) in einen Mikromanipulator (Micro Injection Unit, Modell 5000 und 5001, David Kopf Instruments, Tujunga, CA, USA) am Stereotaktischen Apparat eingespannt. Mit der Kanüle der Spritze wurde das Bregma bestimmt. Anschließend wurden die vorher berechneten Zielkoordinaten (s. Tab. 6.1) eingestellt und mit einem Rosenbohrer (1RF 007, Hager & Meisinger, Neuss) der Knochen über den sechs Zielpunkten durchbohrt. Die Dura wurde mit einer sterilen Kanüle vorsichtig durchstoßen und mögliche Blutungen durch eine Verletzung des *Sinus sagittalis superior* mit Hilfe von Gelastypt (Aventis Pharma, Frankfurt am Main) gestillt.

Die Kanüle wurde zuerst 0,1 mm unter den unteren Zielpunkt absenkt, um eine Gewebetasche zu bilden, die eine verbesserte Substanzaufnahme und Diffusion der Substanz im Zielgebiet ermöglicht. Danach injizierte man am eigentlichen Zielpunkt

langsam die Substanz. Nach der Injektion wurde die Kanüle noch zwei Minuten in der Position belassen, damit die Substanz in das umliegende Gewebe diffundieren konnte.

Danach wurde die Kanüle am oberen Zielpunkt positioniert und erneut Substanz injiziert. Anschließend wurde eine Minute gewartet, damit die Substanz Zeit zur Diffusion hatte. Die weiteren Injektionen verliefen nach dem gleichen Muster. Die Bohrlöcher im Schädelknochen wurden nach den Injektionen mit Knochenwachs verschlossen. Die Kopfhaut wurde mit chirurgischen Nahtmaterial (Ethilon, Stärke 4/0, Johnson&Johnson, Brüssel, Belgien) genäht. Zum Ausgleich des Flüssigkeitsverlustes während der Operation bekam das Tier zum Ende der Operation prophylaktisch 2,5 ml isotone Kochsalzlösung *subcutan* verabreicht.

Das Tier wurde während der Aufwachphase in einen mit Zellstoff ausgelegten Käfig gelegt und unter dem Käfig ein Heizkissen zur Vermeidung einer Hypothermie platziert.

Operationsmethode	AP	ML	DV	Volumen pro Injektion	Infusionsdauer	Diffusionsdauer
Läsionen	+ 1.2	+ 0.5	- 3.0	0.5 µl	1 min	1min
	+ 1.2	- 0.5	- 2.2			(ventrale Koordinaten);
	+ 0.5	+ 0.5	- 2.8			2 min
	+ 0.5	- 0.5	- 2.0			(dorsale Koordinaten)
	- 0.2	+ 0.5	- 2.5			
	- 0.2	- 0.5	- 2.0			
Implantierung von intracranialen Kanülen	+ 2.2	± 1.6 20° Winkel	- 2.5	-	-	-

**Tabelle 6.1 Koordinaten der Läsionen und Führungskanülen im ACC.**

Anterior-posteriore (AP), mediolaterale (ML) und dorsoventrale (DV) Zielkoordinaten relativ zum Bregma. Nach Paxinos und Watson (1997) mit der Zahnbalckenposition bei - 3,3 mm.

### 6.2.2 Läsionen catecholaminerger Afferenzen im ACC

Die Läsionen der catecholaminergen Afferenzen im ACC wurden mit 6-Hydroxydopamin (6-OHDA) durchgeführt. Dafür wurden 6 mg 6-OHDA-Hydrobromid (Reinheit mind. 97%, Sigma-Aldrich, Taufkirchen) in 1 ml eiskalter Saline mit 0,01 % Ascorbinsäure (Sigma-Aldrich, Taufkirchen) gelöst. Das Gemisch wurde vor der Operation frisch angesetzt. Bis kurz vor der Injektion wurde die Substanz vor Licht geschützt und auf Eis aufbewahrt.

Ein Tier wurde zunächst mit Desipramin (20 mg/kg, i.p., Sigma-Aldrich, Taufkirchen) vorbehandelt, nach 20 min bekam es zur Kreislaufstabilisierung 0,2 mg Atropinsulfat (WDT, Garbsen) *subcutan* verabreicht. Die Narkose wurde 10 min später mit Pentobarbital (40 - 45 mg/kg, Narcoren, Merial, Hallbergmoos) eingeleitet. Die weitere stereotaktische Operation verlief wie oben beschrieben.

Bei der kombinierten Behandlung mit Desipramin und Pentobarbital war eine verstärkte Überwachung der Vitalfunktionen und der Narkosetiefe geboten. Denn die Gefahr von schweren Nebenwirkungen bei dieser Behandlung war erhöht.

### 6.2.3 Implantierung chronischer intracranialer Kanülen

#### 6.2.3.1 Herstellung von Kanülen und Stilett

Die Führungskanülen wurden aus Einmalkanülen (Typ 'Supra', 0,8 x 60 mm, Eberhardt und Söhne, Geislingen) hergestellt. Dafür wurden 12 mm lange Abschnitte mit einer Trennscheibe abgetrennt. Die Schnittkanten wurden begradigt und abgerundet, anschließend wurde die Kanüleninnenseite mit einer kleineren Kanüle gereinigt. Anschließend wurde die Kanülenaußenseite mit Hilfe der Trennscheibe angeraut, damit der Zahnzement besser haftet. Die Kanülen wurden in Gussformen mit Zahnprothesenzement (Paladur, Hereaus Kulzer GmbH, Wehrheim) umgossen. Nachdem der Zahnzement ausgehärtet war, wurde dieser noch etwas abgeschliffen.

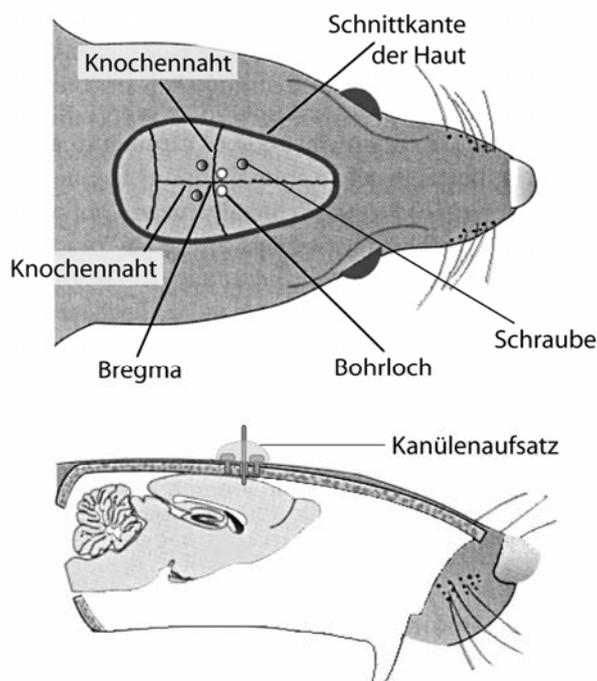
Zum Schutz der Führungskanülen vor Schmutz und Verstopfen wurden so genannte Stilett verwendet. Diese Stilett wurden aus dünnen Einmalkanülen (0,45 x 25 mm, B. Braun, Melsungen) hergestellt, damit diese nach der Operation in die implantierten Kanülen eingesetzt werden konnten. Dafür wurde die Spitze der Kanüle abgerundet, anschließend wurde sie in einen Führungskanülenrohling eingeführt und das Stilett oben um etwa 80° abgebogen und gekürzt.

Die Injektionskanülen wurde aus den gleichen dünnen Einmalkanülen (0,45 x 25 mm, B. Braun, Melsungen) wie die Stilett hergestellt. Dazu wurde die Kunststoffkappe teilweise entfernt und die Kanülen auf eine Länge von 13,0 mm gekürzt, die Schnittkante begradigt und die Kanüleninnenseite mit einer anderen Kanüle gereinigt. Führungskanülen, Stilett und Injektionskanülen wurden vor der Verwendung mit 70% Ethanol desinfiziert.

#### 6.2.3.2 Implantierung der Führungskanülen

Für die Implantierung der Führungskanülen wurden die Tiere mit einem Ketamin/Xylazin-Gemisch i.p. narkotisiert [80 mg Ketamin (Ceva Tiergesundheit,

Düsseldorf) / 9 mg Xylazinhydrochlorid (Rompun, Bayer, Leverkusen)]. Danach verlief die OP bis zur Ausmessung des Bregmas gleich wie bei den oben besprochenen Operationen. Die Führungskanülen wurden in einem Winkel von  $20^\circ$  zur Mittellinie implantiert, daher musste das Bregma für jede Winkelposition des Manipulatorarms separat ausgemessen werden. Für die Ausmessung des Bregmas wurde der Rohling einer Injektionskanüle (im Folgenden Injektionskanüle genannt) verwendet, der am Manipulatorarm des Stereotaktischen Apparates befestigt war. Zunächst wurde der Manipulatorarm in die korrekte Winkelposition für die linke Kanüle positioniert und das Bregma ausgemessen, der Zielpunkt berechnet und das zugehörige Loch dafür gebohrt (Rosenbohrer, US1HP 008, Hager & Meisinger, Neuss). Dann wurde der Manipulatorarm für die rechte Führungskanüle positioniert, das Bregma aus diesem Winkel ausgemessen, die Zielpunkt berechnet und das zweite Loch gebohrt. An beiden Injektionslöchern wurde die Dura mit einer sterilen Kanüle durchstochen.



**Abbildung 6.3 Dorsale und laterale Ansicht des Rattenkopfes bei der Implantierung von Führungskanülen.**

Dargestellt sind die Positionen der Bohrlöcher und der Schrauben in der dorsalen Ansicht und der Kanülenaufsatz in der Lateral-Ansicht. Modifiziert nach Remie (2000).

Anschließend wurden noch drei weitere Löcher für die Knochenschrauben (Small Part Inc., Miami Lakes, FL, USA) gebohrt (Rosenbohrer, 1RF 007, Hager & Meisinger, Neuss), von denen zwei hinter den Injektionslöchern und eine vor der

linken Zielkoordinate platziert wurden (s. Abb. 6.3). Die Schrauben wurden eingesetzt, damit später der Kanülenaufsatz aus Zahnprothesenzement (Paladur) am Schädel stabil verankert werden konnte.

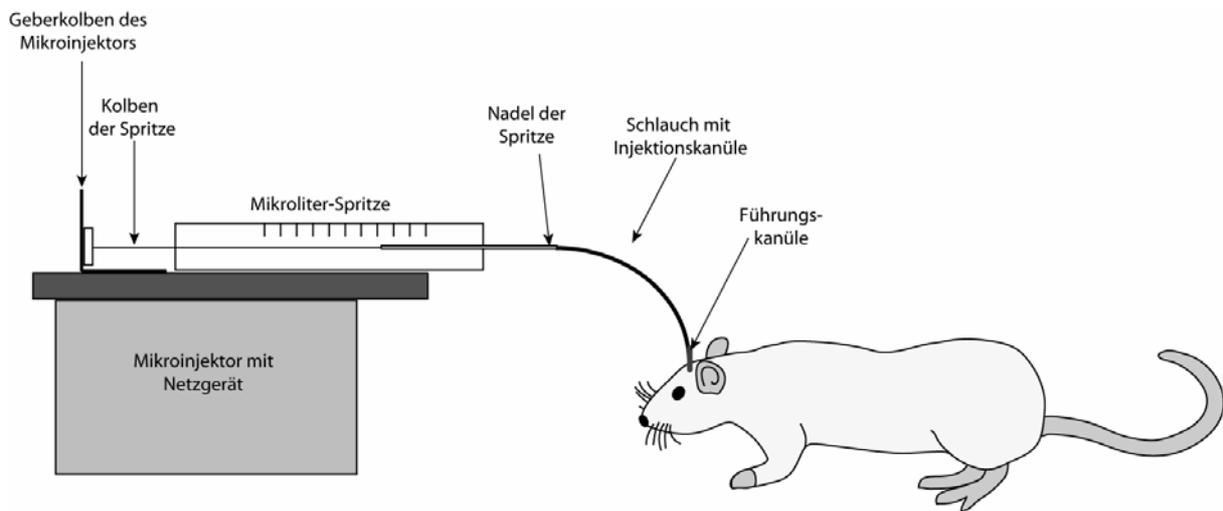
Danach wurde eine Führungskanüle über die am Manipulatorarm befestigte Injektionskanüle gesteckt. Die Injektionskanüle wurde am linken Zielpunkt positioniert und die Führungskanüle und mindestens eine Schraube mit Zahnzement umgossen. Nach Aushärten des Zahnzements wurde die Injektionskanüle am Manipulator hochgefahren, der Winkel des Manipulatorarms neu positioniert, eine weitere Führungskanüle auf die Injektionskanüle gesteckt und der rechte Zielpunkt angepeilt. Anschließend wurde die zweite Kanüle ebenfalls mit Paladur befestigt und der Kanülenaufbau modelliert. Nach Aushärten des Zahnzements wurde die Injektionskanüle wieder entfernt und die Kopfhaut über dem Aufbau zugenäht. Stilettts wurden als Schutz gegen Verunreinigungen der Führungskanüle eingesetzt. Zum Ausgleich des Flüssigkeitsverlustes während der Operation bekam das Tier zum Ende der Operation prophylaktisch 2,5 ml isotonische Kochsalzlösung *subcutan* verabreicht.

#### 6.2.3.3 Durchführung der Mikroinjektionen

Für die lokale Applikation von Substanzen vor den Verhaltenstests in Experiment 5 wurde ein elektronisch gesteuertes Mikroinfusionssystem verwendet, welches aus einer Mikroinfusionspumpe (PHM-100VS, Med Associates, Georgia, VM, USA) und zwei 5 µl - Mikroliterspritzen (SGE GmbH, Weiterstadt) bestand. Die Geschwindigkeit des Vortriebs der Mikroinfusionspumpe war auf 3,3 Umdrehungen/Minute eingestellt.

Die Injektionskanülen waren über Schläuche (Tygon, R3603, Innendurchmesser 0,44 mm, ca. 20 cm lang, VWR, Bruchsal) mit den Mikroliterspritzen verbunden. Die Schläuche mit den Injektionskanülen wurden zunächst luftblasenfrei mit destilliertem Wasser befüllt, anschließend wurden die Schläuche auf die Kanülen der Mikroliterspritzen gesteckt. In die Mikroliterspritzen wurde 1 µl Luft aufgezogen, so dass diese Luftblase einen Puffer zwischen dem destilliertem Wasser und der anschließend aufgezogenen Substanz bildet. Danach wurde die Substanz aufgezogen; dabei wurden die Mikroliterspritzen bis zum Anschlag aufgezogen und der Geberkolben der Mikroinfusionspumpen an die Kolbenenden der Spritzen geschoben. Dann wurde die Mikroinfusionspumpe kurz angestellt bis ein wenig Substanz aus beiden Injektionskanülen kam. Die Pumpe wurde daraufhin angehalten und der Tropfen Substanz vorsichtig mit einem Tuch entfernt.

Ein Tier wurde für die Mikroinfusion entweder in der Hand oder in einem Handtuch leicht fixiert. Daraufhin wurden die Stiletts entfernt und die Führungskanüle mit einer abgewinkelten Reinigungskanüle (0,45 x 25 mm, B. Braun, Melsungen) gesäubert. Anschließend wurden die Injektionskanülen eingesetzt und die Substanz in einem Volumen von 0,5  $\mu$ l pro Injektionsstelle über einem Zeitraum von 50 sec appliziert (s. Abb. 6.4). Danach blieben die Injektionskanülen noch eine Minute in den Führungskanülen, um eine ausreichende Diffusion zu gewährleisten. Die Stiletts wurden erst nach dem Verhaltenstest wieder eingesetzt.



**Abbildung 6.4** Schematische Darstellung der Mikroinfusionsprozedur.

Zwei Mikroliterspritzen (nur eine skizziert) sind über Schläuche mit den Injektionskanülen verbunden, welche in die Führungskanülen am Rattenkopf eingeführt sind. Durch den Mikroiinjektor werden die Kolben der Spritzen kontinuierlich bewegt, sodass die Substanz langsam und gleichmäßig in das Zielgebiet injiziert werden kann.

### 6.3 *Verwendete Wirkstoffe*

In Abbildung 6.5 sind die Strukturformeln der verwendeten Wirkstoffe gezeigt.

#### 6.3.1 Chinolinsäure

Die Chinolinsäure, oder 2,3-Pyridin-Dicarbonsäure, ist ein Produkt des Tryptophan-Metabolismus über den Kynurenin-Stoffwechselweg. Es ist ein spezifischer Agonist für den R2-Subtyp des NMDA-Rezeptors. Die neurotoxischen Eigenschaften beruhen auf einer Übererregung des Rezeptors, welche zu einem überhöhten Einstrom von  $\text{Ca}^{2+}$ -Ionen in die Zelle führt und somit den Zelltod auslöst. Eine excitotoxische Läsion mit Chinolinsäure hat gegenüber elektrolytischen oder anderen nicht-excitotoxischen Läsionen den Vorteil, dass vorrangig Zellkörper im Injektionsgebiet

betroffen sind, Fasertrakte jedoch weitgehend erhalten bleiben (Cardinal *et al.*, 2002b).

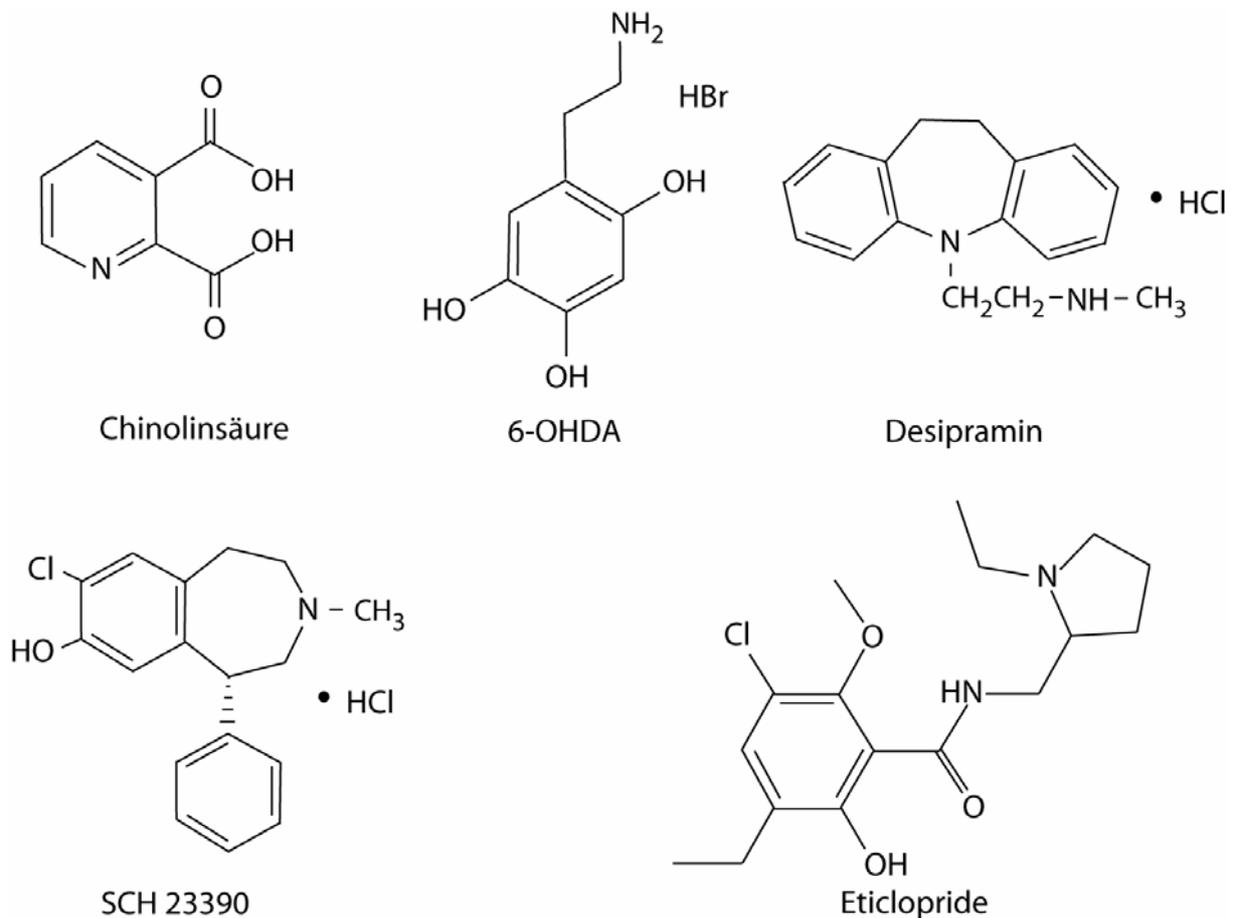


Abbildung 6.5 Strukturformeln der verwendeten Wirkstoffe.

### 6.3.2 6-Hydroxydopamin

6-Hydroxydopamin (6-OHDA), oder 2,4,5-Trihydroxyphenethylamin Hydrobromid, ist ein Neurotoxin, welches selektiv über den Wiederaufnahme-Mechanismus in catecholaminerge Zellen aufgenommen wird. Dort verursacht es die Degeneration dieser Neurone. Die Wirkweise von 6-OHDA ist noch weitgehend unbekannt, aber es wird angenommen, dass es die Atemkette innerhalb der Mitochondrien unterbricht. Es ist nicht sehr spezifisch, denn es werden sowohl Dopamin-, Noradrenalin-, und teilweise auch Serotonin-haltige Neurone zerstört.

### 6.3.3 Desipramin

Desipramin oder Desmethylimipramin gehört zu den trizyklischen Antidepressiva. Es hemmt sehr selektiv die Wiederaufnahme von Noradrenalin in die Neurone. Dadurch

bleibt der Neurotransmitter länger im synaptischen Spalt und kann nicht in den Neuronen abgebaut werden (Horowski, 1999).

In Experiment 2 wurde eine Behandlung mit Desipramin vor den Injektionen mit 6-OHDA durchgeführt, um eine relativ spezifische Zerstörung der Dopamin-Neurone im ACC hervorzurufen. Allerdings schützt diese Behandlung die Noradrenalin-Neurone nur beschränkt (Bubser und Schmidt, 1990; Ravard *et al.*, 1989).

#### **6.3.4 SCH 23390**

SCH 23390 (R(+)-7-Chloro-8-hydroxy-3-methyl-1-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1H-3-benzazepine) ist ein hochpotenter und selektiver Dopamin-D1-Rezeptor-Antagonist (Seeman und Ulpian, 1988). SCH 23390 ist gut in Saline löslich.

#### **6.3.5 Eticlopride**

Eticlopride ist ein selektiver und potenter Dopamin-D2-Rezeptor-Antagonist. Neben Raclopride ist das hier verwendete Eticlopride der selektivste D2-Rezeptor-Antagonist (Seeman und Ulpian, 1988). Die Löslichkeit von Eticlopride in Saline ist sehr gut.

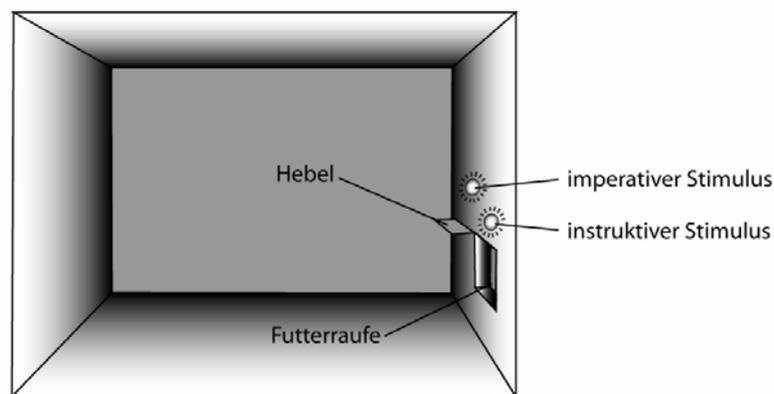
### **6.4 *Verhaltensexperimente***

#### **6.4.1 Aufbau der Skinnerboxen**

Experiment 1 und 2 wurden in Skinnerboxen (Med Associates Inc. Georgia, VM, USA) durchgeführt (s. Abb. 6.6). In der Skinnerbox gab es auf der Stirnseite einen einziehbaren Hebel (linke Seite), darüber befand sich eine Hinweislampe, die den imperativen Stimulus erzeugte. Mittig befand sich eine Futteröffnung, welche mit einem Futterspender verbunden war. Über der Futteröffnung befand sich eine weitere Hinweislampe, die den instruktiven Stimulus darbot und in zwei verschiedenen Helligkeitsstufen dargestellt werden konnte. Außerdem gab es noch eine allgemeine Beleuchtung der Skinnerbox, das Hauslicht. Die Steuerung der Boxen sowie die Datenaufnahme erfolgte über eine Steuerungseinheit und einen Computer, wofür eine spezielle Software zu Verfügung stand (MedPC, wmpc 1.15, Med Associates Inc.). Als Belohnung dienten kleine Präzisions-Futterstückchen (Pellets) aus Casein (45 mg *dustless precision pellets*, Bioserv, Frenchtown, NJ, USA). Die Steuerungsprogramme für die jeweiligen Aufgabenstellungen sind im Anhang dieser Arbeit zu finden.

### 6.4.2 Reaktionszeitaufgabe

In der Reaktionszeitaufgabe sollten die Tiere lernen, die unterschiedlichen Intensitäten des instruktiven Lichtstimulus, die mit zwei unterschiedlich großen Belohnungen verknüpft waren, zu unterscheiden. Bei dieser Aufgabe war die Reaktionszeit ein Maß der Belohnungserwartung. Der helle instruktive Stimulus kündigte für die eine Hälfte der Tiere die hohe Belohnung (5 Pellets) und der gedimmte instruktive Stimulus die niedrige (1 Pellet) Belohnung an; für die andere Hälfte der Tiere war die Stimulus-Belohnungs-Beziehung umgekehrt. Dieses wurde gemacht, um einen Einfluss der unterschiedlichen Wahrnehmbarkeit der Stimuli auszuschließen.



**Abbildung 6.6 Ratte bei der Durchführung der Reaktionszeitaufgabe**

Schematische Darstellung der Skinnerbox (oben). Kopfseite mit imperativem und instruktivem Stimulus, dem Hebel und der Futterraufe. Unten links, Ratte wartet auf instruktiven Stimulus und den Hebel. Rechts Ratte drückt den Hebel, instruktiver Stimulus zeigt die zu erwartende Belohnungsstärke an und imperativer Stimulus gibt das Signal zum Loslassen des Hebels.

Ein Versuchsdurchgang lief folgendermaßen ab. Nach einem kurzen Intertrial-Intervall wurde der instruktive Stimulus angezeigt, dessen Helligkeitsstufe durch das Steuerungsprogramm pseudorandomisiert ausgewählt wurde, so dass eine Helligkeitsstufe maximal zwei Mal hintereinander präsentiert wurde. Zeitgleich wie der

instruktive Stimulus wurde der Hebel dargeboten. Daraufhin musste die Ratte den Hebel spontan drücken und gedrückt halten (s. Abb. 6.6). Nach 300 ms ging der imperative Stimulus über dem Hebel an. Dieser war für die Ratte das Signal, den Hebel loszulassen, um eine Futterbelohnung zu erhalten. Die Zeit, vom Aufleuchten des imperativen Stimulus bis die Ratte den Hebel losließ, wurde als Reaktionszeit gemessen. Damit eine Belohnung gegeben wurde, musste der Hebel in einem Zeitfenster zwischen 100 und 2000 ms nach Präsentation des imperativen Stimulus losgelassen werden. Wurde der Hebel zu früh oder zu spät losgelassen, gab es keine Futterbelohnung. Solche Versuchsdurchgänge wurden als frühe, bzw. verspätete Versuchsdurchgänge bezeichnet und separat ausgewertet. Alle Lampen in der Skinnerbox wurden für eineinhalb Sekunden ausgeschaltet und der Versuchsdurchgang wiederholt. Der Zeitrahmen für die als "korrekt" gewerteten Reaktionszeiten bezieht sich auf frühere Untersuchungen (Amalric und Koob, 1987; Brown und Bowman, 1995; Hauber *et al.*, 2000; Hauber *et al.*, 2001). Neben der Reaktionszeit wurde auch noch die Bewegungszeit gemessen, definiert als Zeit vom Loslassen des Hebels bis zum Abholen der Belohnung. Die Messung erfolgte durch eine Lichtschranke am Futterloch.

Eine Sitzung bestand aus 60 belohnten Versuchsdurchgängen, 30 pro Helligkeitsstufe, wobei die Reihenfolge der dargebotenen Stimuli pseudorandomisiert war. Die nicht belohnten frühen und späten Versuchsdurchgänge wurden registriert, um zusammen mit den belohnten, korrekten Versuchsdurchgängen als Gesamtzahl der benötigten Versuchsdurchgänge pro Einheit verrechnet.

#### 6.4.2.1 *Habituation*

Die Tiere wurden zunächst an die Skinnerboxen und schrittweise an die Aufgabe habituiert. Damit die Motivation der Tiere für eine Futterbelohnung zu arbeiten gegeben war, wurde die Futtermenge während des gesamten Versuchs rationiert, so dass ein Tier pro Tag maximal 15 g Futter, inklusive der Belohnungen, bekam. Falls die Motivation bzw. der Lernerfolg nicht zufrieden stellend war, wurde die Futtermenge kurzzeitig auf 12 g pro Tier und Tag verringert.

Die Habituationsprozedur war in drei unterschiedliche Teilschritte aufgeteilt, welche in Tabelle 6.2 näher beschrieben sind. Falls ein Tier ein Kriterium nicht erreichte, wurde einen Teilschritt so lange wiederholt, bis er erfolgreich absolviert wurde. Nachdem die Habituationsprozedur erfolgreich abgeschlossen wurde, wurden die

Tiere operiert und hatten anschließend mindestens fünf Tage Zeit zur Regeneration, bevor das Experiment weitergeführt wurde.

#### 6.4.2.2 Akquisition

Die Akquisitionsphase fing nach der Operation an und bestand aus vierzehn aufeinander folgenden Testtagen. Pro Versuchstag mussten je 30 korrekte Antworten pro Stimulus gemacht werden bzw. das Programm wurde nach einer Stunde beendet. Die Gesamtzahl der Versuchsdurchgänge (korrekte, frühe und späte), die dazugehörigen Reaktionszeiten und die Bewegungszeiten nach den Belohnungen wurden registriert und später ausgewertet.

\	Programm <sup>3</sup>	Durchführung
1	KOND1 mind. 2 x	<b>Assoziation von Futteröffnung und Belohnung</b> Instruktiver Stimulus über der Futteröffnung zeigte Gabe der Belohnungen an. Die Ratte erhielt 20 einzelne Pellets in einem Abstand von 5 sec.
2	KOND2	<b>Assoziation von Drücken des Hebels mit der Belohnung</b> Ratte musste lernen, den Hebel zu drücken, um ein Futterpellet zu erhalten. Um das Drücken des Hebels zu beschleunigen, wurde der Hebel mit Erdnussbutter bestrichen. Falls die Ratte den Hebel länger als 10 sec drückte, bekam sie ein weiteres Pellet. Wie zuvor endete das Programm nach dem 20. Pellet. Der instruktive Stimulus war während des gesamten Durchgangs an.
3	KOND2	Wie Tag 2, nur ohne Erdnussbutter auf dem Hebel
4	KOND3	<b>Habituation an den imperativen Stimulus</b> Instruktiver Stimulus ging bei Programmstart an. Sobald der Hebel gedrückt wurde, ging auch der imperative Stimulus an, gleichzeitig wird ein Pellet als Belohnung gegeben und imperativer Stimulus erlischt wieder.
5	KOND3	Wie Tag 4

**Tabelle 6.2 Habitationsprozedur für Reaktionszeitaufgabe aus Experiment 1**

#### 6.4.2.3 Umkehr der Stimulus-Belohnungs-Beziehungen (Reversal-Lernen)

Beim Reversal-Lernen wurden die Stimulus-Belohnungsbeziehungen der Akquisitionsphase umgekehrt. D.h. Tiere für die vorher der helle instruktive Stimulus prädikativ für die hohe Belohnung war, repräsentierte nun die geringe Belohnung und umgekehrt. Die Phase des Reversal-Lernens betrug 10 konsekutive Testtage.

---

<sup>3</sup> Die einzelnen Computerprogramme sind im Anhang dieser Schrift zu finden

### 6.4.3 Kosten-Nutzen-abhängige Entscheidungen in der Skinnerbox

Bei dieser Aufgabe handelt es sich um eine *Progressive Ratio*-Aufgabe in der Skinnerbox. In dieser steigt die geforderte Anzahl von Hebelbewegungen für eine konstante Belohnung progressiv innerhalb einer Sitzung an. Das Antwortverhalten eines Tieres ist bei dieser Aufgabenstellung ein Maß dafür, wie viel Arbeit ein Tier für eine bestimmte Belohnung zu investieren bereit ist (Bowman und Brown, 1998; Eagle *et al.*, 1999; Hodos, 1961). Das Kriterium ist die maximale Anzahl von Hebelbewegungen pro Belohnung. Diesen Punkt nennt man '*breaking point*'.

#### 6.4.3.1 Habituation

Für die Habituation der *Progressive Ratio*-Aufgabe wurden die Tiere mit KOND1 und KOND2 (s.o.) trainiert. An den drei folgenden Tagen wurde ein Tier für je 30 min mit einem *continuous reinforcement schedule* (CRF) getestet, d.h. pro Hebeldruck bekam die Ratte ein Pellet. Dieses wurde durch ein Lichtsignal über dem Futterloch angekündigt. Das reguläre Haltungsfutter wurde an diesen Tagen so reduziert, dass ein Tier maximal 15 g Futter pro Tag bekam.

#### 6.4.3.2 Akquisition

Für die Akquisition der *Progressive-Ratio*-Aufgabe stieg die geforderte Anzahl der Hebelbewegungen pro Pellet nach folgendem Schema in fünfer Schritten an: 1, 1, 1, 5, 5, 5, 10, 10, 10, usw. Dieses Versuchsdesign stammt aus Studien von Eagle und Kollegen (1999) und Baunez und Kollegen (2002). Die Anzahl der Hebelbewegungen wurde per Computer registriert. Jedes Mal, wenn die geforderte Hebeldruckzahl erreicht wurde, zeigte das Lichtsignal über dem Futterloch die Gabe der Belohnung an. Das Signal blieb solange an, bis die Ratte das Pellet gefressen hatte. Die nach Aufleuchten des Lichtsignals ausgeführten Hebelbewegungen wurden als zusätzliche 'perseverative' Hebelbewegungen registriert. Diese hatten aber keine Auswirkung auf die nächste Belohnung. Eine Sitzung dauerte entweder 90 min oder endete, wenn fünf Minuten keine Hebelbewegung registriert worden war. Für die Auswertung wurden der Wert der letzten Hebeldruckstufe, die Anzahl der gegebenen Belohnungen, die 'perseverativen' Hebelbewegungen und die Dauer der einzelnen Sitzungen registriert.

### 6.4.3.3 Wahlaufgabe

Für diese Aufgabe wurde eine leicht veränderte Version eines Verhaltenstests von Salamone und Kollegen (1991), der auf Kosten-Nutzen-abhängigen Prinzipien beruht, verwendet.

Zunächst wurde die Präferenz der Tiere für die verwendeten Futterarten untersucht. Dafür wurden die hungrigen Tiere für 30 Minuten einzeln in die Skinnerboxen gesetzt, in denen jeweils ein Schälchen Pellets und ein Schälchen gewöhnliches Laborfutter stand. Beide Schälchen wurden vor und nach dem Test gewogen und die gefressenen Futtermengen pro Futterart registriert<sup>4</sup>.

Der eigentliche Verhaltenstest fand am nächsten Tag statt. In diesem Verhaltenstest hatten die Tiere die Wahl, entweder einen Hebel für bevorzugtes Futter zu drücken oder gewöhnliches Laborfutter, das in einem Tonschälchen in der Skinnerbox frei zugänglich war, zu fressen. Dabei stiegen die Kosten für das bevorzugte Futter, also die Hebelbewegungen, während einer Versuchseinheit progressiv an wie in der *Progressiv-Ratio*-Aufgabe. Gleichzeitig war in der Skinnerbox ein Tonschälchen mit vorher abgewogenem Laborfutter an der gegenüberliegenden Seite des Hebels aufgestellt worden. Ermittelt wurde der *'breaking point'*, d.h. die maximale Hebeldruckrate bei der die Ratte das Drücken des Hebels einstellte, die Menge an gefressenen Laborfutter, die Anzahl gefressenen der Pellets, die Anzahl der 'perseverativen Hebelbewegungen und die Dauer der Versuchseinheit. Das Programm dauerte entweder 90 min oder wurde beendet, wenn 5 min keine Hebelbewegung mehr registriert wurde. Abschließend wurden die Ergebnisse mit dem letzten Tag der Akquisition der *Progressiv-Ratio*-Aufgabe verglichen. Es wurden die trainierten Tiere aus der Akquisitionsphase der *Progressiv-Ratio*-Aufgabe verwendet.

### 6.4.4 Kosten-Nutzen-abhängige Entscheidungen im T-Labyrinth

Vor Beginn dieses Versuchs wurden die Tiere auf eine Futtermenge von 15 g pro Tag und Tier eingestellt. Diese Menge konnte bis zu 12 g/Tag/Tier reduziert werden, falls das die Trainingsresultate erforderten. Der Versuchsaufbau und das Trainingsprotokoll orientierten sich nach Angaben von Walton und Kollegen (2002).

---

<sup>4</sup> Ergebnisse des Vortests sind in Abb. 9.1 im Anhang zu finden.

#### 6.4.4.1 Versuchsaufbau

Das T-Labyrinth (s. Abb. 6.7) bestand aus einem Start- und zwei Zielarmen und war aus laminiertem Sperrholz gefertigt<sup>5</sup>. Es stand auf einem 80 cm hohen Tisch. Der Start- und beide Zielarme waren 70 cm lang und waren 17 cm breit. An das Ende der jeweiligen Zielarme war ein Tonschälchen für das Futter ca. 2 cm weit von der Wand gestellt worden. Diese Schälchen sind mit Klebeband am Boden befestigt worden. Wenn ein Zielarm blockiert werden sollte, wurde ein Holzblock (17 cm breit, 30 cm hoch) aus dem gleichen Material wie das Labyrinth in den jeweiligen Arm gestellt. Die Barrikaden waren alle aus isoliertem Maschendraht in Form eines dreidimensionalen Dreiecks selbst angefertigt. Es wurden verschiedene Barrieren verwendet, deren Höhe zwischen 15 cm und 30 cm lag. Die Tiere mussten an der vertikalen Seite der Barrikade hinaufklettern und konnten über die Rampe absteigen.

#### 6.4.4.2 Habituation an das T-Labyrinth

Die Tiere wurden zunächst in Gruppen von zwei bis drei Tieren in den Startarm gesetzt und durften das Labyrinth für 10 min explorieren. Die Tonschälchen in den Zielarmen waren mit reichlich Futterpellets (45 mg *dustless precision pellets*, Bioserv, Frenchtown, NJ, USA) gefüllt. Am nächsten Tag wurden die Tiere einzeln habituiert. In jedem Tonschälchen befanden sich etwa 20 Pellets. Ziel dieser Versuchseinheiten war, dass jedes Tier beide Zielarme explorierte und die angebotenen Belohnungen in den Armen fraß. Nach der abgeschlossenen Habituation wurden die Tiere in Teilgruppen von vier bis maximal sechs Tiere eingeteilt und in diesen Teil-Gruppen getestet.

#### 6.4.4.3 Diskriminierung der Belohnungsstärken in den Zielarmen

Für jedes Tier wurden zufällig die Belohnungsstärken für die Zielarme festgelegt. Die hohe Belohnung betrug 4 Pellets, die niedrige 2 Pellets. Für die Hälfte der Tiere befand sich die hohe Belohnung im rechten, für die andere im linken Zielarm. Diese Zuordnung blieb für den ganzen Versuch erhalten. Für die nächsten ein bis zwei Tage wurde jedes Tier in zehn Versuchsdurchgängen mit freier Armwahl getestet. Ein Tier durfte dabei beide Arme explorieren und wurde erst aus dem Labyrinth entfernt, wenn entweder beide Futterschälchen geleert oder max. 10 min vergangen waren. Dabei wurden die Tiere in den Teilgruppen getestet, damit zwischen den einzelnen

---

<sup>5</sup> In Experiment 3 wurde eine anderes, kleineres Labyrinth verwendet, s. 7.1.

Läufen ein Intertrial-Intervall von mindestens 90 Sekunden eingehalten werden konnte.

Auf die Versuchseinheiten mit der freien Armwahl folgten zwei Sitzungen mit jeweils zehn forcierten Läufen, d.h. jeweils ein Zielarm wurde durch den Holzblock versperrt, so dass ein Tier 'gezwungen' war, nur einen bestimmten Zielarm aufzusuchen. Es gab jeweils fünf Läufe pro Zielarm. Damit ein Tier maximal zweimal hintereinander in die gleiche Richtung laufen konnte, war die Reihenfolge der Laufrichtungen für die einzelnen Tiere pseudorandomisiert.

Als nächste Stufe folgten zwei weitere Sitzungen zur Diskriminierung der Belohnungsstärken in den Zielarmen. Dabei gab es pro Tag zwölf Durchläufe. Zehn Läufe waren mit freier Armwahl. In den Läufen 6 und 12 wurde der Holzblock in den Zielarm gestellt, welchen das Tier in dem vorangegangenen Lauf gewählt hatte, um eine verfrühte Bevorzugung des einen Zielarmes zu verhindern. Das heißt, wenn ein Tier in Lauf 5 den rechten Zielarm gewählt hatte, wurde es im nächsten Lauf 'gezwungen' den linken Zielarm aufzusuchen, unabhängig davon, in welchem Zielarm sich die hohe Belohnung befand.

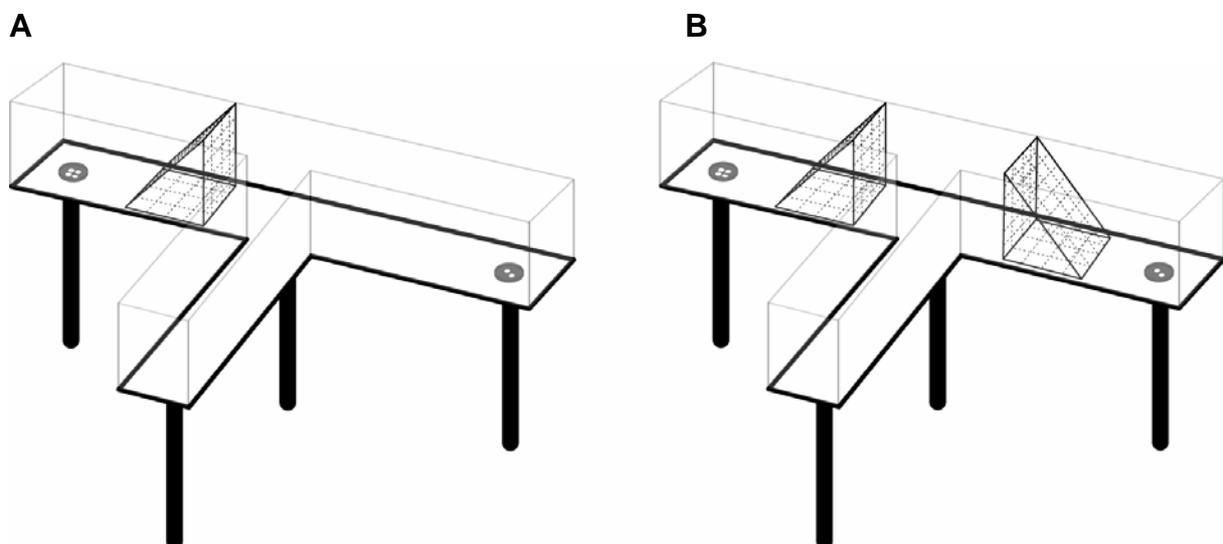
Ein Tier wurde aus dem Labyrinth entfernt, sobald es sich für den einen Zielarm entschieden hatte und die Futterbelohnung gefressen hatte. Falls es nicht alle Futterstücke auf dieser Seite gefressen hatte, wurde es trotzdem entfernt, damit es nicht den anderen Zielarm aufsuchte. Dieses Training dauert zwischen drei und fünf Sitzungen. Einzelnen Tiere wurden nachtrainiert, wenn der gewünschte Lernerfolg nicht eintrat.

#### *6.4.4.4 Barrieren-Training*

Sobald alle Tiere in mehr als 80 % der Läufe den hoch belohnten Arm wählten, wurde in diesen Arm zunächst eine 15 cm hohe Barriere eingeführt. Die Barriere-Sitzungen umfassten zwölf Durchläufe. Die ersten beiden Läufe waren forciert, damit ein Tier einmal jeden Zielarm besuchte. Danach hatte das Tier in den nächsten zehn Läufen eine freie Armwahl. Am ersten Tag des Barrieren-Trainings wurde ein Tier während der ersten fünf Wahl-Durchgänge erst dann aus dem Labyrinth entfernt, wenn es über die Barrikade geklettert war. Darauf folgten fünf weitere Läufe, in denen das Tier aus dem Labyrinth entfernt wurde, sobald es sich für einen Zielarm entschieden hatte und die Belohnung in diesem konsumiert hatte. An den folgenden Tagen wurde ein Tier immer nach der ersten Armwahl aus dem Labyrinth genommen.

Die Tiere wurden drei Tage mit der 15 cm hohen Barriere trainiert, bis die Mehrheit der Tiere für die hohe Belohnung über die Barriere kletterte. Tiere, die das Kriterium von mindestens 70 % Präferenz für den hoch belohnten Arm nicht erfüllten, wurden nachtrainiert bis sie dieses Kriterium erfüllten.

Danach wurde in Drei-Tagesschritten die Barrikade um jeweils 5 cm erhöht, bis die Höhe von 30 cm erreicht wurde. Bei dem letzten Schritt gab es kein Nachtraining mehr. Tiere, welche nach drei Tagen mit der 30 cm hohen Barriere, das Kriterium "mindestens 60 % Präferenz für den hoch belohnten Arm" nicht erfüllten wurden vom weiteren Experiment ausgeschlossen. Das war nur ausnahmsweise der Fall. Nach diesem Trainings-Programm wurden die Tiere der stereotaktischen Operation unterzogen.



**Abbildung 6.7 Schematische Ansicht des T-Labyrinths.**

**A** Ein-Barriere-Situation. Die Ratte hatte die Wahl, entweder für die hohe Belohnung über die Barriere zu klettern oder in dem anderen Zielarm die niedrigere Belohnung zu erhalten.

**B** Zwei-Barrieren-Situation. Die Ratte hat die Wahl zwischen der hohen und der niedrigen Belohnung, allerdings ist der Aufwand in beiden Zielarmen durch identische Barriere gleich.

#### 6.4.4.5 Experiment

Das Experiment umfasste verschiedene Teilstücke, die nacheinander absolviert wurden. Es bestand aus verschiedenen Testblöcken, die jeweils aus drei aufeinander folgenden Testtagen bestanden. Pro Testtag wurden wie im Barriere-Training zwölf Läufe absolviert, wobei die ersten beiden forciert wurden. In den Testblöcken A, B, und D war der hoch belohnte Zielarm mit einer Barriere versehen, der andere Zielarm ohne Barriere. In Testblock C waren in beiden Zielarmen identische Barrieren aufgestellt. Diese Sequenz der Testblöcke wurde für Experiment 1 und 2 gewählt. In

Experiment 3 wurde die Wirkung von Mikroinfusionen anstelle von Läsionen untersucht, daher wurde ein verkürztes Programm gewählt und der Block D weggelassen. Der Testblock A wurde bei allen drei Experimenten vor der stereotaktischen Operation durchgeführt, die anderen Testblöcke folgten nach der Operation.

## 6.5 *Histologische Auswertung*

### 6.5.1 Lösungen für die Gewebefixierung und die Perfusion

Für die Fixierung des Gehirngewebes wurden folgende Lösungen benötigt:

#### *Phosphat-gepufferte Saline (PBS) – Stammlösung*

80,0 g	NaCl	(Chemikalienausgabe)
11,4 g	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> (oder 14,42 g Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> x 2 H <sub>2</sub> O)	(Merck, Darmstadt)
2,0 g	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	(Carl Roth, Karlsruhe)
2,0 g	KCl	(Merck, Darmstadt)
1l	bidestilliertes Wasser	

Die PBS-Lösung wurde mit 1 M Natronlauge (NaOH) auf den pH-Wert 7,4 eingestellt und vor Gebrauch mit bidestilliertem Wasser im Verhältnis 1:10 verdünnt.

Zur Fixierung des Gehirngewebes wurde eine 4 % Formalinlösung verwendet. Dafür wurden zunächst 500 ml PBS auf Eis gestellt. Weitere 500 ml PBS wurden auf 60-70°C erwärmt, in diese wurden 40 g Paraformaldehyd (Merck, Darmstadt) gegeben, und vermischt bis eine klare Lösung entstand. Diese Paraformaldehyd-Lösung wurde in die eisgekühlte Phosphat-gepufferte Saline filtriert. Die Lösung wurde weiter gekühlt, bis sie Raumtemperatur erreicht hatte.

Die 4 % Formalinlösung wurde sowohl für die Fixierung des Gehirngewebes als auch für die Perfusion verwendet. Für die Perfusion der Tiere wurde zusätzlich eine 0,01 % Heparin-Lösung zur Hemmung der Blutgerinnung verwendet. Dafür wurde Heparin-Natriumsalz (Carl Roth, Karlsruhe) in PBS gelöst.

Für die Perfusion wurden pro Tier (ca. 250 bis 350 g Körpergewicht) etwa 250 ml Formalinlösung und 400 ml Heparin-Lösung verwendet. Für die Nachfixierung des Gehirngewebes (*ex vivo*) brauchte man zusätzlich pro Gehirn etwa 10 ml Formalin- und 10 ml 30%ige Saccharose-Lösung.

### 6.5.2 Durchführung der Perfusion

Nach Abschluss von Experiment 1 bis 4 wurden die Ratten perfundiert. Dafür wurden die Tiere entweder mit Ethrane oder mit Isofluran (Abbott, Wiesbaden) bis zum Atemstillstand narkotisiert. Anschließend wurde der Bauchraum mit einem Längs-

schnitt geöffnet, und entlang der Linea alba bis zum Sternum geschnitten. Nach Durchtrennung des Zwerchfells wurden die Rippen seitlich bis zur Clavicula durchgeschnitten und der entstehende Lappen wurde hochgeklappt und mit einer Pinzette an den Vorderbeine fixiert, um das Herz freizulegen. Das Perikard wurde vorsichtig entfernt. Danach wurde eine Schmetterlingskanüle, welche über einen Schlauch mit der Heparin-Lösung verbunden war, in die linke Herzkammer eingeführt. Mit einer kleinen Schere wurde der rechte Vorhof geöffnet und gleichzeitig die Flüssigkeitspumpe eingeschaltet. Nun konnte der Blutkreislauf mit der Heparin-Lösung gespült werden, bis das Tier entblutet war. Anschließend wurde das Gewebe durch eine Spülung mit der Formalinlösung fixiert und danach das Gehirn präpariert. Bevor man das nächste Tier perfundieren konnte, musste das Schlauchsystem nochmals kurz mit Heparin-Lösung gespült werden. Das präparierte Gehirn wurde über Nacht bei 4°C in Formalinlösung nachfixiert und anschließend für mindestens 2 Tage in Saccharose-Lösung überführt, bevor Schnittpräparate mit dem Gefriermikrotom hergestellt werden konnten.

Die Tiere mit intracranialen Kanülen aus Experiment 5 wurden nicht perfundiert, sondern das Gehirn nach der Tötung des Tieres präpariert und direkt in der Formalinlösung fixiert und am nächsten Tag in die Saccharose-Lösung überführt. Dies hat sich allerdings nicht bewährt. Auch hier wäre eine Perfusion empfehlenswert gewesen. Da die Infusionsstellen im ACC sehr nah an der Gehirnoberfläche waren, konnte es trotz sehr vorsichtiger Präparation der Gehirne teilweise zu größeren Gewebeverletzungen kommen. Dies hätte durch eine vorherige Fixierung des Gewebes vermindert werden können.

### 6.5.3 Beschichtung der Objektträger

Die Objektträger, auf welche die Gefrierschnitte aufgebracht wurden, mussten zunächst beschichtet werden. Dadurch wurde vermieden, dass die Schnitte sich während der Färbebehandlung vom Objektträger lösten. Zur Beschichtung wurde eine Gelatinelösung verwendet, die nach folgendem Rezept hergestellt wurde:

1,4 mg	Gelatine	(Merck, Darmstadt)
140 mg	Chrom(III)-Kaliumsulfat-Dodecahydrat	(Merck, Darmstadt)
5 mg	Thymol	(Carl Roth, Karlsruhe)
200 ml	bidestilliertes Wasser	

Das Gemisch wurde auf ca. 80°C erwärmt, bis sich die Bestandteile vollständig aufgelöst hatten. Anschließend wurden Objektträger in die Lösung getaucht und im

Wärmeschrank (40° C) getrocknet. Dieser Vorgang wurde nochmals wiederholt. Danach wurden die beschichteten Objektträger bis zum Gebrauch bei 4°C gelagert.

#### 6.5.4 Anfertigung der Gehirnschnitte

Aus den fixierten Gehirnen wurden im Bereich des anterioren cingulären Cortex 40 bis 50 µm dicke Frontalschnitte mit einem Gefriermikrotom (Jung Frigocut 2800 N, Leica, Nussloch) hergestellt. Jeder zweite (Exp. 5) bis dritte (Exp. 1 bis 4) Schnitt wurde je nach Färbemethode entweder direkt auf die Objektträger aufgezogen (Nissl-Färbung) oder in einer Pufferlösung zwischengelagert (Immunhistochemische Färbung).

#### 6.5.5 Nisslfärbung mit Cresylechtviolett

Die Färbelösung für die Nissl-Färbung wurde wie folgt hergestellt:

##### *Färbe-Puffer:*

5,4 g	Natriumacetat	(Merck, Darmstadt)
10 ml	Eisessig	(Riedl-de Haen, Seelze)
mit destilliertem Wasser auf 1 l auffüllen		

##### *Färbelösung:*

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

Bei der Färbelösung handelt es sich um eine Suspension, die zunächst eine Woche gerührt werden muss. Vor jedem Gebrauch muss die Lösung mindestens 2 Tage gerührt werden, um eine optimale Vermengung zu garantieren.

##### *Färbeprotokoll*

3 - 5 min	96 % Ethanol
3 - 5 min	80 % Ethanol
3 - 5 min	70 % Ethanol
10 min	destilliertes Wasser
10 - 15 min	Färbelösung
3 x eintauchen	Färbepuffer
5 min	Isopropanol I
5 min	Isopropanol II
mind. 1 h	Xylol

Die Schnitte wurden anschließend mit DePeX (Serva, Heidelberg) eingebettet und getrocknet.

### 6.5.6 Immunhistochemische Färbung von TH-positiven Zellen und Fasern

Für die immunhistochemische Färbung wurden die Gehirne innerhalb von einer Woche nach der Fixierung des Gewebes durchgeführt. Dafür wurden 40 µm dicke Gefrierschnitte zunächst in Tris-gepufferter Saline (TBS) aufgefangen und nach einem Protokoll für freischwimmende Schnitte weiterbehandelt:

3 x 10 min	TBS
10 - 20 min	90 % TBS + 10 % Methanol + 2 % H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
3 x 10 min	TBS
20 min	4 % <i>natural horse serum</i> (NHS) in TBS mit 0,2 % Triton-X (TBS-T)
36 h bei 4°C	Primär-Antikörper ( <i>mouse, anti-TH, antibody code LNC1, Diasorin, Stillwater, MN, USA, 1:7500</i> in TBS-T mit 4 % NHS)
3 x 10 min	TBS-T
90 min RT	Sekundär-Antikörper ( <i>horse, anti-mouse IgG, Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA, 1:200</i> in TBS-T mit 4 % NHS)
3 x 10 min	TBS-T
60 min RT	ABC-Komplex ( <i>Phycoerxthin, Vectastain Elite ABC Kit, Vector, 1:500</i> in TBS-T)
10 min	TBS-T
2 x 10 min	TBS
Entwicklung in	DAB (Meerrettich-Peroxidase Chromogen) mit 0,3 % H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
3 x 10 min	TBS

Die Waschschritte wurden in *6-well-plates*, die Inkubierungen mit Antikörpern und Färbeschritte in *24-well-plates* durchgeführt, wobei jeweils 6 bis 10 Gehirnschnitte pro *Well* zusammengefügt waren. Die *6-well-plates* wurden auf einem großen Schüttler (Edmund Bühler, Tübingen) in Bewegung gehalten, die *24-well-Plates* auf einem kleinen Schüttler (IKA Works, Wilmington, NC, USA). Die mit DAB in Berührung gekommenen Utensilien wurden über Nacht in einem Wasserbad mit Natriumhypochlorid (NaOCl) neutralisiert, die stark konzentrierte DAB-Lösung in den *24-well-plates* wurden mit ein paar Tropfen Natriumhypochlorid direkt neutralisiert und dann erst ins Wasserbad überführt.

Die Gehirnschnitte wurden aus der Puffer-Lösung auf beschichtete Objektträger aufgezogen und über Nacht getrocknet, anschließend wie folgt entwässert und eingedeckelt:

3 - 5 min	70 % Ethanol
3 - 5 min	80 % Ethanol
3 - 5 min	90 % Ethanol
3 - 5 min	100 % Ethanol
15 min	Terpineol : Xylol (1:1)
15 min	Xylol I
15 min	Xylol II
1 h	Xylol III

Die Schnitte wurden mit DePeX (Serva, Heidelberg) eingedeckelt.

*Rezepte für die in der immunhistologischen Färbung verwendeten Lösungen:*

*Tris-gepufferte Saline (TBS, 0,05 M, pH 7,6)*

6,1 g Tris Base (Carl Roth, Karlsruhe) und 9 g NaCl (Chemikalienausgabe) wurden in etwas destilliertem Wasser gelöst, mit Salzsäure auf pH 7,6 eingestellt und anschließend mit destilliertem Wasser auf 1 l aufgefüllt.

*Triton X-Stammlösung*

100 g Triton X-100 (MP Biomedical, Eschwege) in 1 l TBS lösen (am Tag vorher ansetzen). TBS-T wurde aus dieser Stammlösung auf 0,2 % verdünnt.

*Tris-Hydrochlorid (0,05 M) für DAB-Färbung*

0,303 g Tris Base (Carl Roth, Karlsruhe) wurden in etwas destilliertem Wasser gelöst und mit Salzsäure auf pH 7,4 eingestellt und anschließend mit destilliertem Wasser auf 50 ml aufgefüllt. Um eine optimale Färbung zu erreichen, verwendete man zwischen 16 bis 18 ml Tris-Hydrochlorid-Lösung pro DAB-Tablette. Weil die DAB-Lösung stark Licht empfindlich ist, wurde diese erst kurz vor Gebrauch angesetzt und filtriert.

## **7 Durchgeführte Experimente**

### ***7.1 Experiment 1-3: Involvement of the rat anterior cingulate cortex in control of instrumental responses guided by reward expectancy***

Veröffentlicht in *Learning & Memory* (2005), Vol. 12; S. 334–342

Seite 65-73

### ***7.2 Experiment 4: Involvement of Catecholamine Neurotransmission in the Rat Anterior Cingulate in Effort-Related Decision Making***

Veröffentlicht in *Behavioral Neuroscience* (2005), Vol. 119, Nr. 6; S. 1687-1692

Seite 74-79

### ***7.3 Experiment 5: Dopamine D1 but not D2 Receptors in the Anterior Cingulate Cortex Regulate Effort-Based Decision Making***

Unter Begutachtung in *Cerebral Cortex* (Mai 2006)

Seite 80-100

### ***7.4 Weitere Experimente***

Seite 101-111

## Research

# Involvement of the rat anterior cingulate cortex in control of instrumental responses guided by reward expectancy

Judith Schweimer and Wolfgang Hauber<sup>1</sup>

*Department of Animal Physiology, Institute of Biology, University of Stuttgart, Stuttgart D-70550, Germany*

The anterior cingulate cortex (ACC) plays a critical role in stimulus-reinforcement learning and reward-guided selection of actions. Here we conducted a series of experiments to further elucidate the role of the ACC in instrumental behavior involving effort-based decision-making and instrumental learning guided by reward-predictive stimuli. In Experiment 1, rats were trained on a cost-benefit T-maze task in which they could either choose to climb a barrier to obtain a high reward (four pellets) in one arm or a low reward (two pellets) in the other with no barrier present. In line with previous studies, our data reveal that rats with quinolinic acid lesions of the ACC selected the response involving less work and smaller reward. Experiment 2 demonstrates that breaking points of instrumental performance under a progressive ratio schedule were similar in sham-lesioned and ACC-lesioned rats. Thus, lesions of the ACC did not interfere with the effort a rat is willing to expend to obtain a specific reward in this test. In a subsequent task, we examined effort-based decision-making in a lever-press task where rats had the choice between pressing a lever to receive preferred food pellets under a progressive ratio schedule, or free feeding on a less preferred food, i.e. lab chow. Results show that sham- and ACC-lesioned animals had similar breaking points and ingested comparable amounts of less-preferred food. Together, the results of Experiment 1 and 2 suggest that the ACC plays a role in evaluating how much effort to expend for reward; however, the ACC is not necessary in all situations requiring an assessment of costs and benefits. In Experiment 3 we investigated learning and reversal learning of instrumental responses guided by reward predictive stimuli. A reaction time (RT) task demanding conditioned lever release was used in which the upcoming reward magnitude (five vs. one food pellet) was signalled in advance by discriminative visual stimuli. Results revealed that rats with ACC lesions were able to discriminate reward magnitude-predictive stimuli and to adapt instrumental behavior to reversed stimulus-reward magnitude contingencies. Thus, in a simple discrimination task as used here, the ACC appears not to be required to discriminate reward magnitude-predictive stimuli and to use the learned significance of the stimuli to guide instrumental behavior.

The rat anterior cingulate cortex (ACC) is an integral part of the prefrontal cortex (Paxinos and Watson 1997) lying on its medial surface caudal to the genu of the corpus callosum with interconnections to numerous regions including the caudate nucleus (McGeorge and Faull 1989), nucleus accumbens (ACB) (Berendse et al. 1992; Brog et al. 1993), ventral tegmental area (VTA), mediodorsal nucleus of the thalamus (Uylings and van Eden 1990), and amygdala (Divac and Diemer 1980).

The ACC has been implicated in learning to discriminate multiple visual stimuli on the basis of the association of these stimuli with reward. Accordingly, lesions of the ACC impaired performance of rats preferentially in complex tasks including eight-pair concurrent visual discrimination (Bussey et al. 1997b), a two-stimulus temporally discriminated approach task (Cardinal et al. 2003), and autoshaping (Bussey et al. 1997a; Parkinson et al. 2000; Cardinal et al. 2002, 2003). In contrast, lesions of the ACC did not interfere with performance in simpler tasks such as one-pair concurrent visual discrimination (Bussey et al. 1997b), and even improved performance in some tasks (Bussey et al. 1996). From these and other studies it has been concluded that the ACC plays an important role in mediating instrumental behaviors that depend on stimulus-reinforcer contingencies and require discrimination of relatively similar stimuli. In particular, the ACC

<sup>1</sup>Corresponding author.

E-mail hauber@bio.uni-stuttgart.de; fax 49 711-685-5090.

Article and publication are at <http://www.learnmem.org/cgi/doi/10.1101/lm.90605>.

could represent a 'disambiguating' structure enhancing stimulus discrimination, if stimuli share common elements, i.e., are in the same sensory modality and are similar (Cardinal et al. 2003).

In addition, the ACC has been implicated in effort-based decision-making. Rats with ACC lesions tested in a cost-benefit T-maze task no longer preferred the effortful high-reward action, rather they preferred the less effortful low-reward action (Walton et al. 2003). Thus, ACC functions might be essential for decisions regarding whether it is worth making effortful actions given the value of the expected outcome (Rushworth et al. 2004). On the other hand, lesions of the ACC did not impair the high preference of rats for large, delayed rewards over immediate, low rewards in a delayed reinforcement choice task (Cardinal et al. 2001). These findings raise the possibility that the ACC is not necessary in all decisions involving cost-benefit analysis. Major variables influencing effort-based decisions are only partially known, and their impact is not fully understood. For instance, it is likely that response costs may include not only force requirements or caloric expenditure, but probably also skill or temporal requirements (Salamone et al. 2003). Thus, it remains to be further specified which kind of effort-based decisions depend on the ACC.

The aim of the present study was to characterize the role of the ACC (including the Cg1 and Cg2 fields of the ACC) in stimulus-reward learning and effort-based decision-making in more detail. In Experiment 1, rats were trained in a T-maze cost-benefit task (Walton et al. 2003) in which they could either choose to climb a barrier (25 cm) to obtain a high reward (four pellets) in

one arm of the maze or a low reward (two pellets) in the other arm with no barrier present. In Experiment 2, the same rats were tested in a modified lever-press task (Salamone et al. 1991) in which they had the choice between pressing a lever to receive preferred food pellets on a progressive ratio (PR) schedule, or free feeding on a less preferred food, i.e., lab chow. If the ACC plays a general role in effort-based decisions, rats with ACC lesions should be impaired in both kinds of cost-benefit tasks. In Experiment 3, another group of rats was examined in a reaction time (RT) task demanding conditioned lever release in which the upcoming reward magnitude (five vs. one food pellet) was signalled in advance by discriminative stimuli. Usually, intact rats rapidly discriminate reward magnitude-predictive stimuli and respond faster for expected high reward within a few days (e.g., Bohn et al. 2003a; Giertler et al. 2003). In this task, visual stimuli which predict reward magnitudes differ only in their brightness, i.e., they are in the same modality and not easy to discriminate. If the ACC is involved to facilitate discrimination of similar conditioned stimuli, rats with ACC lesions should be impaired in this discrimination task.

### Experiment 1: The role of the ACC in effort-based decision making in a T-maze task

#### Results

##### Histology

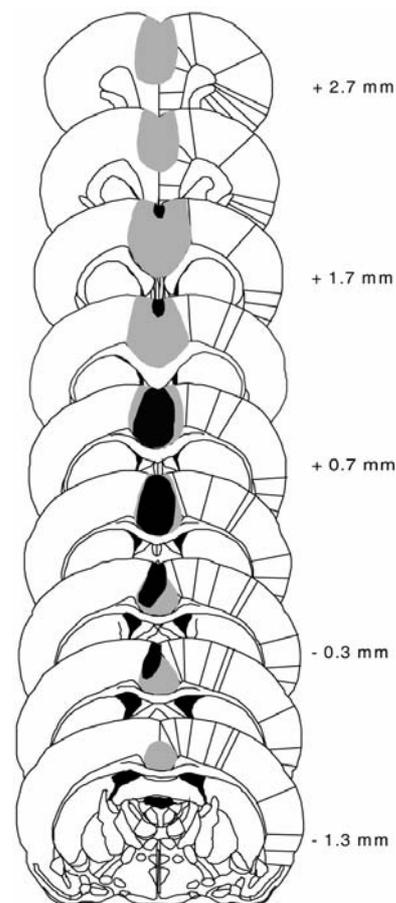
In sham-lesioned animals ( $n = 9$ ) we observed minimal damage caused by the injection cannulae during vehicle microinfusion. In animals with quinolinic acid (QA) lesions of the ACC ( $n = 8$ ), neuronal loss and gliosis was prominent in fields Cg1 and 2 with a maximum extension from  $\square 2.7$  mm anterior to bregma to 1.3 mm posterior to bregma (Fig. 1). Lesions included predominantly pregenual and perigenual parts of the ACC; minor damage of the prelimbic cortex was detected occasionally, and the corpus callosum was generally spared. One animal was excluded from analysis as the lesion was too small.

##### Behavior

In the pre-lesion testing block, all animals exhibited a strong preference to surmount the barrier to obtain the high reward (HR) with an average of  $\sim 90\%$  of the choices for the HR (Fig. 2). This preference was reduced postoperatively in QA-lesioned rats, when tested in the one-barrier situation, but not when tested in the two-barrier situation. Repeated measures three-way ANOVA revealed significant effects of treatment [ $F_{(1,15)} = 7.35, P < 0.05$ ] (between-subjects factor) as well as testing blocks [ $F_{(3,45)} = 9.96, P < 0.001$ ] and days [ $F_{(2,30)} = 5.00, P < 0.05$ ] (within-subjects factors). Furthermore, there was a significant treatment  $\times$  block interaction [ $F_{(3,45)} = 5.26, P < 0.01$ ]. In the pre-lesion testing block, no performance differences in animals to be sham- or QA-treated were determined by means of post hoc analysis [ $F_{(1,15)} = 0.024, P = 0.87$ ]. In post-lesion testing blocks, ACC- as well as sham-lesioned animals were able to climb the barrier on forced trials, indicating the absence of sensorimotor impairments. Most importantly, ACC-lesioned animals exhibited a reduced preference for the HR with barrier [ $F_{(1,15)} = 5.96, P < 0.05$ ] in the one-barrier situation. However, when the second barrier was introduced into the low-reward condition (LR), all rats chose the HR [ $F_{(1,15)} = 0.55, P = 0.47$ ]. After the barrier in the LR was removed in the next testing block, the ACC-lesioned animals no longer preferred the HR [ $F_{(1,15)} = 7.96, P < 0.05$ ].

##### Discussion

The histological and behavioral results of Experiment 1 confirm earlier findings (Walton et al. 2003) and demonstrate that rats

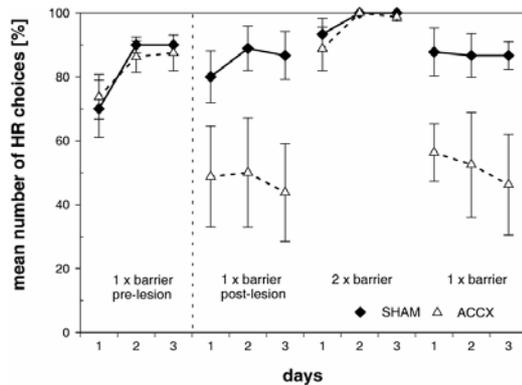


**Figure 1.** Schematic representation of the minimum (black shading) and maximum (gray shading) extension of ACC lesion in rats used in Experiments 1 and 2 ( $n = 8$ ). Adapted with permission from Elsevier © 1997, Paxinos and Watson (1997). Scales are relative to bregma.

with ACC lesions were impaired in effort-based decision-making in a T-maze cost-benefit task. ACC-lesioned animals had a reduced preference for the HR option and preferentially selected the LR without a barrier. However, if ACC-lesioned rats had to surmount a barrier for either reward, they preferred the HR arm.

The placement and size of ACC lesions in the present experiment is in keeping with a study of Walton et al. (2003), who used the same dosing regimen of QA. Likewise, we observed that ACC-lesioned rats no longer preferred climbing the barrier for a higher reward in the one-barrier condition, but were still capable of climbing a barrier and remembering the HR location in the two-barrier condition. The reduced preference of the HR in the one-barrier condition was a reproducible effect, as removal of the barrier in the LR reinstated the LR preference in ACC-lesioned animals. Minor differences between both studies are also discernible. ACC lesions in our rats extended to more posterior parts of the ACC. In addition, in our experiment sham-lesioned rats still displayed a preference for the HR in the one-barrier condition, whereas those in the study of Walton et al. (2003) performed at chance level. Moreover, in our experiment ACC-lesioned animals had a higher preference for the HR arm in the two-barrier condition compared to those in the Walton et al. (2003) study. It is likely that the lower barrier (25 cm instead of 30 cm) used in our protocol accounts for these differences.

The impairment in ACC-lesioned animals could reflect an impaired ability to integrate expected costs and benefits of an



**Figure 2.** Effects of ACC lesions in a T-maze cost-benefit task. Mean ( $\pm$  SEM) percentage of HR choices per day in sham-lesioned ( $n = 9$ , filled rectangles) and ACC-lesioned ( $n = 8$ , open triangles) rats are given. Testing block 1 was pre-lesion, blocks 2–4 post-lesion. Each testing block consisted of three consecutive test days. On blocks 1, 2, and 4, a 25-cm barrier was placed in the HR; on block 3 identical 25-cm barriers were placed in the HR and LR, respectively.

action rather than an insensitivity to different reward quantities, failure to remember the size or position of a reward, or a motor impairment to climb the barrier (Walton et al. 2002, 2003). Our data confirm this view, as animals with ACC lesions were not insensitive to costs and benefits and modified their choice behavior in the two-barrier condition. It appears that a hypothetical decision criterion or value function underlying the cost-benefit analysis may have been shifted in ACC-lesioned animals. However, the variables influencing effort-based decisions as tested here are not well understood. For instance, it is likely that response costs may include not only force requirements or caloric expenditure, but probably also skill and temporal requirements or cognitive aspects influencing perceived task difficulty (Salamone et al. 2003). Despite these limitations, the results of Experiment 1 correspond with the view that the ACC is critically involved in evaluating how much effort to expend for a specific reward. This notion is supported by primate electrophysiological studies demonstrating that neurons in the ACC play a role in processing reward information for motor selection (Shima and Tanji 1998). In addition, ACC lesions, while not interfering with visual discrimination learning or performance, impaired selection of responses associated with different rewards (Hadland et al. 2003).

## Experiment 2: The role of the ACC in effort-based decision-making in a lever-press task

### Results

#### Behavior

Rats used in Experiment 1 were subsequently tested in lever-press tasks in operant boxes involving a progressive ratio (PR) schedule. The highest ratio of responding (lever presses per reward) achieved in a PR schedule is termed the “breaking point.” As shown in Figure 3, rats with ACC lesions reached a breaking point similar to that of the sham-lesioned animals, i.e., about 60 lever presses per pellet. ANOVA showed a significant main effect of days [ $F_{(9,135)} = 7.78, P < 0.001$ ], but not of treatment [ $F_{(1,15)} = 0.29, P = 0.60$ ] and no treatment  $\times$  testing day interaction [ $F_{(9,135)} = 0.43, P = 0.91$ ]. Likewise, the latency to achieve the breaking point and the number of perseverative lever presses, i.e., extra lever presses after reward was signalled, was not altered in

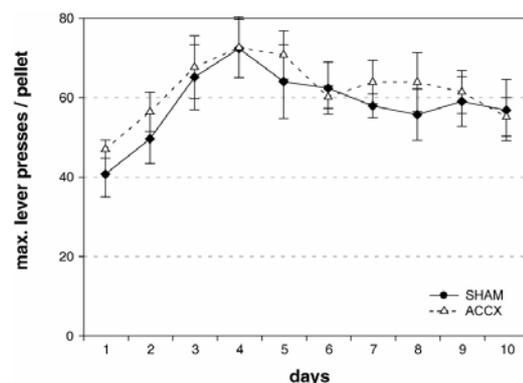
ACC-lesioned rats. An ANOVA for either condition revealed no significant effects (data not shown). Thereafter, animals were examined in a cost-benefit test in which they had the choice to work under a PR schedule for preferred food or obtain freely available lab chow. A free choice test revealed that sham- and ACC-lesioned animals had a preference for food pellets over lab chow (data not shown). In sham- and ACC-lesioned animals, breakpoints were decreased to about 10 lever presses per pellet in the choice test relative to the preceding test with a PR schedule without access to lab chow (Fig. 4). ANOVA revealed no effect of treatment [ $F_{(1,30)} = 0.21, P = 0.65$ ], but a significant effect of test condition (lab chow available vs. not available) [ $F_{(1,30)} = 41.74, P < 0.001$ ]. In addition, sham- and ACC-lesioned animals ingested a similar amount of lab chow [ $t_{(15)} = -1.25, P = 0.23$ ] in the choice test.

### Discussion

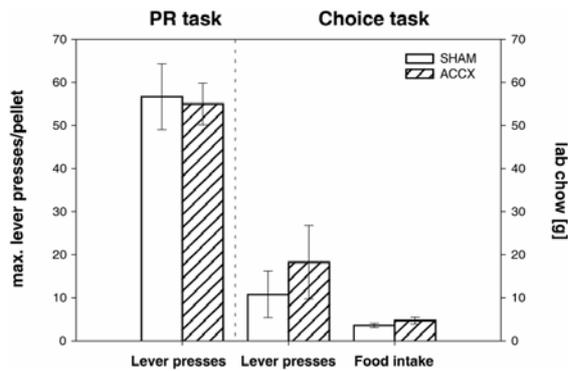
Experiment 2 reveals that lesions of the ACC did not interfere with the animals’ motivation to work for food as indicated by their intact performance on a PR schedule. In addition, effort-based decision-making was not impaired in a cost-benefit task with the options to get preferred food pellets under a PR schedule or freely available but less preferred lab chow.

In the instrumental task involving a PR schedule without access to lab chow, sham- and ACC-lesioned animals had similar breaking points. The breaking point is generally thought to represent a measure of how much effort an animal is willing to expend for a certain reward (e.g., Hodos 1961; Bowman and Brown 1998; Baunez et al. 2002). Therefore, ACC-lesioned animals were not insensitive to evaluating increasing costs relative to a constant benefit in general, as already noted in the two-barrier condition in Experiment 1. However, these tasks are difficult to compare, as instrumental performance on a PR schedule does not include a choice between two response options as in the T-maze task.

In a subsequent test using a cost-benefit choice test with lab chow freely available, breaking points in sham- and ACC-lesioned animals were reduced to about the same extent, and they ingested similar amounts of lab chow. This result was unexpected, as it indicates that ACC functions are not essential for intact cost-benefit choice behavior in this task. Together, the results of Experiment 1 and 2 suggest that the ACC is apparently not necessary for all decisions involving cost-benefit analysis. This view is also supported by findings that lesions of the ACC did not impair the high preference for large delayed rewards over



**Figure 3.** Effects of ACC lesions on instrumental responding under a progressive ratio schedule. Breaking points, i.e., mean lever presses per pellets ( $\pm$ SEM) of highest ratio during daily sessions from sham- ( $n = 9$ , filled rectangles) and ACC-lesioned ( $n = 8$ , open triangles) rats are given.



**Figure 4.** Effects of ACC lesions on instrumental responding for food pellets under a progressive ratio (PR) schedule with or without concurrent access to less-preferred lab chow. Breaking points, i.e., mean lever presses per pellets ( $\pm$ SEM) of highest ratio during daily sessions as well as the amount of ingested lab chow are depicted. The *left* panel shows breaking points on Day 10, when rats were tested under a PR schedule without access to lab chow. The *right* panel shows breaking points when rats were tested under a PR schedule with access to lab chow and the amount of lab chow ingested. Open bars, sham-lesioned animals ( $n = 9$ ); hatched bars, ACC-lesioned rats ( $n = 8$ ).

immediate low rewards in a delayed reinforcement choice test (Cardinal et al. 2001). From our experiments it is difficult to identify attributes of those effort-based decisions that depend on the ACC, as the tasks in Experiments 1 and 2 differ in various aspects. For instance, the T-maze test requires a decision between two instrumental actions, i.e., crossing a barrier or running an alley, whereas the operant-box task requires a decision between an instrumental behavior, i.e., lever pressing, and chow consumption, which might represent consummatory rather than instrumental behavior (Salamone et al. 1997). In addition, other variables covary such as the type and attractiveness of food reward. Moreover, the choice behavior in Experiment 1 was tested in repeated sessions over subsequent days, whereas in Experiment 2 only a single test session was used.

### Experiment 3: ACC and discrimination of reward-predictive stimuli in a reaction time task

#### Results

##### Histology

As in Experiment 1, sham-lesioned animals ( $n = 14$ ) used in this experiment exhibited little damage caused by the injection cannulae. In contrast, neuronal loss and gliosis in ACC-lesioned animals ( $n = 14$ ) was prominent, with a maximum extent of ~2.7 mm anterior to bregma to 1.3 mm posterior to bregma (Fig. 5). Lesions included pregenual and perigenual parts of the ACC, and occasionally there was small damage of the prelimbic cortex; the corpus callosum was generally spared.

##### Behavior: Acquisition

On completion of postoperative acquisition, RTs were significantly shorter for expected high compared to low reward. An ANOVA revealed significant main effects of reward magnitude [ $F_{(1,26)} = 47.28, P < 0.001$ ] and days [ $F_{(13,338)} = 3.44, P < 0.001$ ], but not of treatment [ $F_{(1,26)} = 0.06, P = 0.81$ ]. Furthermore, there was a significant days  $\times$  reward magnitude interaction [ $F_{(13,338)} = 2.78, P < 0.001$ ]. Sham-lesioned animals exhibited significant shorter RTs from Day 2 on, ACC-lesioned animals on Day 2 and on Day 5 and beyond (Fig. 6). Accuracy of performance increased during the course of acquisition, in particular if

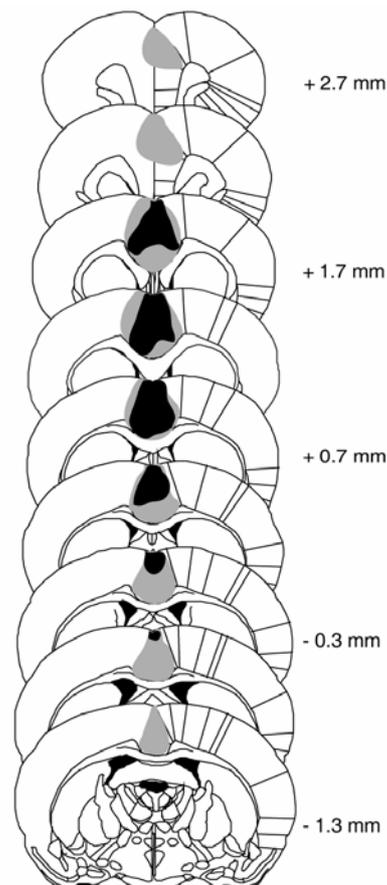
high reward was expected (data not shown). The ANOVA on accuracy of performance showed significant main effects of reward magnitude [ $F_{(1,26)} = 24.79, P < 0.001$ ] and days [ $F_{(13,338)} = 4.98, P < 0.001$ ], but not of treatment.

##### Behavior: Reversal

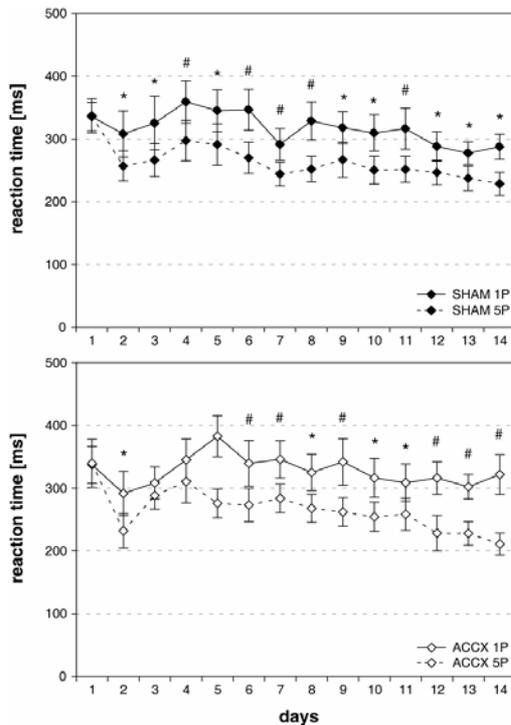
After a shift of the original stimulus-reward magnitude contingencies, the RTs of sham-lesioned and ACC-lesioned animals did not differ significantly (Fig. 7). Guidance of RTs by expected reward changed over a period of 9–10 d, and thereafter sham-lesioned animals and ACC-lesioned animals significantly discriminated the novel stimulus-reward magnitude contingencies. An ANOVA revealed no significant main effect of treatment [ $F_{(1,26)} = 0.02, P = 0.90$ ] and reward magnitude [ $F_{(1,26)} = 0.09, P = 0.77$ ], but a significant main effect of days [ $F_{(9,234)} = 4.94, P < 0.001$ ]. Furthermore, a significant day  $\times$  reward magnitude interaction was detected [ $F_{(9,234)} = 20.21, P < 0.001$ ].

##### Discussion

The result of Experiment 3 demonstrate that lesions of the ACC did not impair discriminative guidance of instrumental responses by reward magnitude-predictive stimuli. During initial learning and during reversal of original stimulus-reward magnitude contingencies, the RTs of ACC- and sham-lesioned rats were eventually guided by stimulus-reward magni-



**Figure 5.** Schematic representation of the minimum (black shading) and maximum (gray shading) extension of ACC lesion of rats ( $n = 14$ ) used in Experiment 3. Adapted with permission from Elsevier © 1997, Paxinos and Watson (1997). Scales are relative to bregma.



**Figure 6.** Effects of ACC lesions on discrimination of reward magnitude-predictive stimuli during acquisition of a reaction time (RT) task. Mean ( $\pm$ SEM) of RTs from correct trials for expected high (five pellets) and low reward (one pellet) in sham-lesioned animals ( $n = 14$ ) (A) and ACC-lesioned animals ( $n = 14$ ) (B) are given. Solid line, RTs for five pellets; dotted line, RTs for one pellet. \* $P < 0.05$ , # $P < 0.01$ : significant differences in RTs for expected high vs. low reward on individual days.

tude contingencies. Therefore, the ACC may not be necessary in simple discrimination problems involving only two reward predictive stimuli as used here. Other prefrontal subregions such as the orbitofrontal cortex appear to contribute to reversal learning in this task (Bohn et al. 2003b). Accordingly, Bussey et al. (1997b) found that rats with ACC lesions were not impaired in a one-pair concurrent discrimination task, but exhibited deficits in performing an eight-pair concurrent discrimination task.

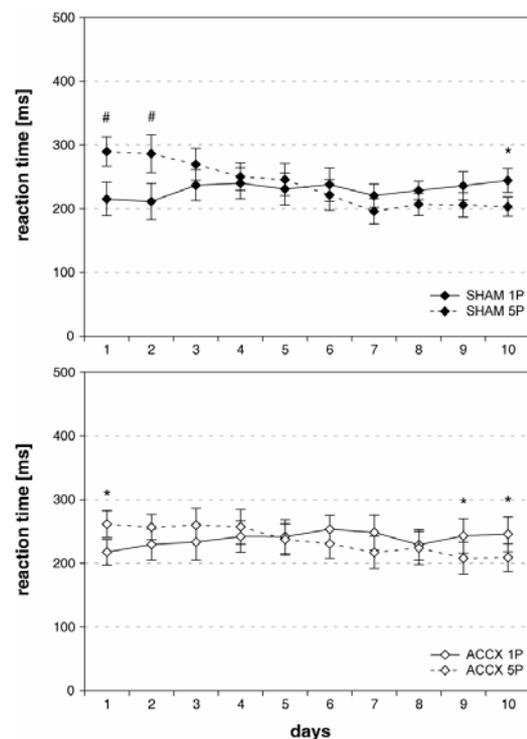
As ACC lesions impaired performance particularly in tasks with multiple conditioned stimuli, it has been suggested that the ACC 'disambiguates' conditioned stimuli and prevents stimulus generalization (Cardinal et al. 2002). However, ACC-lesioned animals were able to discriminate stimuli of different modalities and visual stimuli differing in a primary submodality such as color (Bussey et al. 1997b; Cardinal et al. 2002). Therefore, 'disambiguation' by the ACC might be particularly relevant if two conditioned stimuli to be discriminated share common elements (Cardinal et al. 2003). Our data are at variance with this assumption, because ACC-lesioned animals discriminated reward-predictive stimuli of the same modality that differ in brightness only. On the other hand, the ratio of stimulus-associated reward magnitudes was relatively high (5:1), which could facilitate stimulus discrimination. Furthermore, the relative simplicity of our task may contribute to the negative result observed here. Mice with ACC lesions were not impaired after a single reversal, but after serial reversals in a T-maze spatial discrimination task (Meunier et al. 1991). Thus, repeated reversals rather than a single reversal may be more appropriate to examine ACC functions. Taken together, our findings suggest that the ACC appears

not to be required to discriminate similar conditioned stimuli in a simple task as used here and to use the learned significance of cues to guide instrumental behavior.

#### Discussion

The ACC might not be crucial in stimulus-reward learning per se, but is required if multiple stimuli must be discriminated on the basis of their associations with reward (Cardinal et al. 2002). In support of this view, lesions of the ACC impaired discrimination of reward-predictive stimuli in autoshaping (Bussey et al. 1997a; Parkinson et al. 2000; Cardinal et al. 2002, 2003) and eight-pair concurrent discrimination (Bussey et al. 1997b), but not in Pavlovian instrumental transfer (Cardinal et al. 2003). Our present findings are in keeping with this notion, as rats with ACC lesions discriminated reward-predictive stimuli during acquisition and during reversal of the original stimulus-reward magnitude contingencies. Intact performance of ACC-lesioned animals in both conditions may reflect the relative simplicity of the task involving discrimination of two stimuli only, which probably does not require a contribution of the ACC. Other prefrontal regions such as the orbitofrontal cortex (OFC) may be involved in this condition, as lesions of or an NMDA receptor blockade within the OFC affected learning of a single reversal of stimulus-reward magnitude contingencies in the task used here (Bohn et al. 2003a,b).

Requirements of tasks that challenge ACC functions are only partially known. Task complexity alone seems to not be critical. Rats with ACC lesions exhibited no performance deficits



**Figure 7.** Effects of ACC lesions on discrimination of reward magnitude-predictive stimuli during reversal of the original stimulus-reward magnitude contingencies. Mean ( $\pm$ SEM) of RTs from correct trials for expected high (five pellets) and low reward (one pellet) in sham-lesioned animals ( $n = 14$ ) (A) and ACC-lesioned animals ( $n = 14$ ) (B) are given. Solid line, RTs for five pellets; dotted line, RTs for one pellet. \* $P < 0.05$ , # $P < 0.01$ : significant differences in RTs for expected high vs. low reward on individual days.

in difficult tasks demanding a choice among delayed highreward and immediate small reward (Cardinal et al. 2001), and they even improved their performance in a few tasks, for instance a conditional visual discrimination task (Bussey et al. 1996). From our data one can infer that ACC lesions did not impair discrimination of even related stimuli which differ only in brightness, at least in a two-stimulus discrimination condition as used here. Though this implies intact stimulus perception, recent data revealed that cholinergic denervation of the ACC can impair at least some aspects of processing of sensory information and task-related information in a visual conditional discrimination task (Winters et al. 2004).

The ACC might also be a crucial component of a neural network encoding whether an action is worth performing given the value of the expected outcome relative to the cost of performing the action (Rushworth et al. 2004), as rats with lesions of the ACC no longer chose effortful but high-reward action in a T-maze cost-benefit task (Walton et al. 2002, 2003). Our data confirm these findings but further indicate that the ACC may not be essential for all categories of decisions that rely on cost-benefit analysis: Lesions of the ACC did not interfere with the effort a rat is willing to expend to obtain a specific reward, as indicated by the intact performance on a PR schedule. Also, choice behavior was not affected in a cost-benefit task with the options to get preferred food pellets under a PR schedule or freely available but less preferred lab chow. Notably, lesions of the ACC did not alter the preference for delayed large reward over immediate small reward in a delayed reinforcement choice task (Cardinal et al. 2001). Therefore, it has been suggested that the ACC might not be necessary when evaluating delay-based costs (Walton et al. 2003). Our observation that rats with ACC lesions still preferred food pellets under a PR schedule over freely and immediately available lab chow could be due to the fact that this condition also requires an evaluation of delay-based costs that consequently does not depend on the ACC. Under a PR schedule as used in our study, not only response costs became increasingly higher, but also the delay until reward delivery. However, this interpretation is limited, as not only timing of reward delivery and reward size differed in our task, but also the preference for the rewards, i.e., subjects had the choice between delayed access to a preferred food pellet under a PR schedule and immediate free access to less-preferred lab chow available in a large amount.

The ACC projects to the ACB and VTA (Uylings and van Eden 1990; Berendse et al. 1992; Brog et al. 1993) and receives dopaminergic afferents from the VTA (Berger et al. 1991). Therefore, the ACC could interact with these subcortical regions to mediate effort-based decisions, in particular because dopamine depletions in the ACB produced a similar shift from the HR to LR response option in the T-maze cost-benefit task (Salamone et al. 1994; Cousins et al. 1996). The finding that effort-based decision-making in the lever-press task was not impaired by ACC lesions as shown here but was impaired by ACB dopamine depletions (Salamone et al. 1991) does not argue against this view, because a fixed ratio (FR) schedule instead of a PR schedule was used in the latter study. As already discussed, the increasing delay until reward delivery imposed by a PR schedule may account for the lack of effect of an ACC lesion seen here. Other prefrontal regions such as the OFC may interact with the ACB in controlling such delay-based costs relative to efforts (Cardinal et al. 2004).

In conclusion, the present study demonstrates that the ACC seems not to be required to discriminate reward magnitude-predictive stimuli in a simple discrimination task, even if the stimuli are relatively similar and difficult to discriminate. Furthermore, comparative analysis of lesion effects in two different cost-benefit choice tasks revealed that the ACC is probably not

necessary in all choice situations requiring an assessment of costs and benefits.

## Materials and Methods

Experiments were performed according to the German Law on Animal Protection and approved by the proper authorities in Stuttgart, Germany. Three experiments were conducted; housing conditions, surgery, and histological procedures used in all experiments are given below.

### Animals

Male Sprague-Dawley rats (Charles River) were used weighing 300–400 g at the time of surgery. They were housed in groups of up to four animals and maintained on a 12-h light/12-h dark cycle (lights on at 7:00 a.m.). Water was available ad libitum; food was restricted to 15 g per animal each day (Altromin).

### Stereotaxic surgery

Following pretreatment with atropine sulfate (0.5 mg/kg i.p.; Sigma-Aldrich), animals were anesthetized with sodium pentobarbital (50 mg/kg i.p., Sigma-Aldrich) and placed in a stereotaxic frame with blunt ear bars (Kopf Instruments). Standard stereotaxic methods were used for bilateral lesions at the following coordinates with reference to the atlas of Paxinos and Watson (1997): AP +1.2 mm, ML  $\pm$ 0.5 mm and DV -3.0 and -2.2 mm; AP +0.5 mm, ML  $\pm$ 0.5 mm and DV -2.8 and -2.0 mm; AP -0.2 mm, ML  $\pm$ 0.5 mm and DV -2.5 and -2.0 mm from the skull surface at bregma with the tooth bar -3.3 mm below the interaural line. The coordinates were adapted from previous studies (Bussey et al. 1997b; Cardinal et al. 2002, 2003), and the targeted region of the ACC was the cingulate areas 1 and 2.

Fiber-sparing excitotoxic lesions were made by infusions of quinolinic acid (Sigma-Aldrich) dissolved in 0.1 M phosphate buffer (0.07 M  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 0.028 M  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  in bi-distilled water, sterilized by filtration) adjusted with NaOH to a final pH of 7.2–7.4. Sham lesions were made by infusing the phosphate buffer only. Infusions were made with a 1- $\mu\text{L}$  Hamilton syringe through a 25-gauge injection cannula. Infusion volume per injection was 0.5  $\mu\text{L}$  at each site. Infusion time was 1 min; the injector was left in place to allow diffusion for 1 min at the lower injections sites and 2 min at the upper injections sites. After surgery, rats received a subcutaneous injection of 2.5 mL saline. Animals were allowed to recover for at least 7 d.

### Histology

After completion of behavioral tests, animals were killed by an overdose of Ethrane (Abbott) and perfused transcardially with 0.01% heparin sodium salt in phosphate buffered saline (PBS) followed by 4% paraformaldehyde in PBS. The brains were removed and post-fixed in paraformaldehyde overnight and dehydrated in 30% sucrose for cryoprotection. The brains were sectioned coronally (60  $\mu\text{m}$ ) with a cryostat (Reichert Jung). Every third section was mounted on coated slides and stained with cresyl violet.

## Experiment 1

### Subjects

Eighteen rats were used for this experiment; one animal was discarded due to a small lesion.

### Apparatus

A T-maze task involving effort-based decision-making (Salamone et al. 1994; Walton et al. 2002, 2003) was employed. The maze consisted of a start arm and two goal arms (17 cm wide and 60 cm long); the walls were 25 cm high and a food well was placed at the end of each goal arm. On “forced” trials, a solid block prevented the rat from entering one goal arm. The maze and the block were made of plastic; the maze color was a uniform gray, and the block color was bright red. The barriers that the animals had to surmount were made of wire mesh in the shape of a three-dimensional right-angled triangle. The rats had to climb

## Schweimer and Hauber

the vertical side of the triangle and descend down the slope to attain the reward. The height of the barrier was increased during training from 15 cm at the beginning to a final height of 25 cm ( $\alpha \sim 50^\circ$ ).

**Training**

On the first day of training, rats were placed in the start arm of the T-maze in groups of three and were allowed to explore the maze for 10 min. The food wells were completely filled with pellets (45-mg precision pellets, Bioserv). On the second day, the rats were allowed to explore the maze individually under the same conditions as on the previous day, until all rats ingested pellets in each goal arm. Thereafter, the rats had to learn to discriminate a high-rewarded (HR, four pellets) and a low-rewarded goal arm (LR, two pellets). The position of the HR was counter-balanced for the animals, meaning that for half the animals the HR was on the right side, for the other half on the left. For the first 2 d, the animals were allowed to sample both arms on each trial. There was an intertrial interval of at least 5 min, and five trials per animal and day. For the next 2 d, the access of one goal arm was prevented by placing the solid block at its entrance on each trial in a pseudorandom order, so that the rats were forced to sample one particular arm on that trial. There were 10 trials per day, five in each direction. For the next 3 d, the rats were allowed to choose the goal arm, but were removed immediately after sampling one of the food wells (ingesting the pellets). Twelve trials per day were given; on trials 6 and 12 the block was placed in the previously chosen arm to prevent turn biases interfering with discrimination training.

After rats were choosing the HR in >80% of the trials, a barrier of 15 cm height was placed in the HR arm. For this and every subsequent session, each rat ran at first one forced trial in each direction and 10 trials of free choice. The height of the barrier was increased in two steps of 5 cm every 3 d, to a final height of 25 cm.

**Experimental procedure**

A testing block comprised three sessions conducted on three consecutive days. The entire experiment consisted of one pre-lesion testing block and three post-lesion testing blocks. The pre-lesion block and the first and last post-lesion blocks were executed in the same manner, with one 25-cm barrier in the HR arm. During the second post-lesion block, an identical second barrier was placed in the LR arm. The intertrial interval was at least 4 min.

**Data analysis and statistics**

Choices of the HR arm on each testing day were counted and are presented as means  $\pm$  standard error of the mean (SEM). The data were subjected to a repeated-measures ANOVA with two within-subject factors (days of testing, three and testing blocks, four) and one between-subject factor (treatment, sham vs. lesion). For post hoc comparisons of days or blocks, we used simple contrasts. All statistical computations were carried out with STATISTICA (version 5.5, StatSoft). The level of statistical significance ( $\alpha$ -level) was set at  $P < 0.05$ .

**Experiment 2**

Thereafter animals ( $n = 17$ ) used in Experiment 1 were subjected to Experiment 2. They were tested first on a progressive ratio (PR) schedule and thereafter in a test in which they had the choice between pressing a lever on a PR schedule to obtain preferred food pellets or free feeding on less-preferred lab chow.

**Progressive ratio (PR)**

Behavioral testing was conducted in six operant test chambers (Med Associates). Each chamber was equipped with a retractable lever, a food dispenser with receptacle, an overhead house light, and two stimulus lights, one above the lever and the other above the food receptacle. An infrared photocell beam detected nose-pokes into the food receptacle. The chambers were fitted in sound attenuated boxes with fans providing air circulation and a constant low-level background noise. The apparatus was con-

trolled by a computer system (SmartControl-Interface and MedPC-software, Med Associates). The light above the food receptacle indicated the delivery of a food pellet in the receptacle. Subjects were habituated to a conditioned reinforcement (CRF) schedule in the operant chambers. Rats were trained for three sessions on the CRF schedule for 30 min. Next was six sessions of an increasing fixed ratio (FR) schedule in increments of five, with three repetitions of each step (i.e. 1-1-1; 5-5-5; 10-10-10; ...) as described previously (Baunez et al. 2002). When the required FR value of each trial was achieved, the light above the food receptacle indicated the delivery of a single food pellet (45 mg, Bioserv). The light remained on until the rat poked its nose into the receptacle. Lever presses while the light was on were counted as perseverative lever presses; they were counted but had no programmed consequences. A session lasted for 90 min or was ended when a rat failed to press the lever for consecutive 5 min. For each session, the value of the last completed ratio (breaking point) was recorded, as well as the amount of received rewards, the perseverative lever presses, and the duration of the session.

**Cost-benefit choice test**

In this task the rats had the choice between working for their preferred food (Bioserv pellets) by pressing the lever on a PR schedule as described above or obtaining lab chow (about 15 g) being freely available in a dish within the operant chamber. The food receptacle and the lever were positioned on the same wall of the operant chamber, and the dish containing the lab chow was situated in a corner on the opposite side of the operant chamber. A session lasted for 90 min or ended when a rat failed to press the lever for consecutive 5 min. Thereafter the amount of lab chow ingested was calculated.

**Data analysis and statistics**

PR test data were analyzed using a repeated-measures ANOVA with breaking point (perseverative lever presses or duration of session) and days as within-subject factors and treatment as between-subject factor (sham vs. lesion). When significant effects were detected, post hoc comparisons were made using simple contrast analysis. Data from the cost-benefit choice task were analyzed separately. The breaking points from the choice task and breaking points from the last day of the progressive ratio task were compared. Lever presses were subjected to an ANOVA with treatment and test condition as between-subject factors. Ingested amounts of lab chow were analyzed by a *t*-test for independent samples.

**Experiment 3**

Twenty-eight rats were used in Experiment 3.

**Reaction time task**

Behavioral testing was conducted in the operant test chambers described above. This experiment uses a reaction time task (Giessler et al. 2003) demanding conditioned lever release with instructive stimuli indicating the reward magnitude to be obtained after a subsequent imperative stimulus. A rat had to press the lever and wait for the imperative stimulus that was provided by the stimulus light above the lever after a period of 0.3 sec. The imperative stimulus signaled the rat to release the lever quickly and to respond to the food receptacle in which the food pellets were delivered (45-mg pellets, Bioserv). On each correct trial, a rat received either one or five food pellets. The number of pellets for each trial was pseudo-randomly determined in advance and signaled to the rat by two distinct brightness levels of the cue lights, which provided the instructive stimuli. After the intertrial interval of 3 sec, the instructive stimulus was turned on at the beginning of each trial 3 sec before lever insertion and remained present until delivery of the food reward. To check for equal perception of instructive stimuli of the two different brightness levels, for 50% of the rats, a bright stimulus was associated with delivery of five pellets, and a dim stimulus was associated with delivery of one pellet. For the other 50% of the rats, the opposite pattern was used.

Reaction time (RT) was defined as latency from the onset of the imperative stimulus to lever release and was recorded with an accuracy of <10 msec. For a correct trial, animals had to release the lever within RT <2 sec after presentation of the imperative stimulus. Responses before onset of the imperative stimulus presentation were defined as "early" responses, and responses with RT ≥2 sec were defined as "late" responses. A daily individual session demanded 60 correct trials, i.e., 30 correct trials for each reward magnitude (one and five pellets).

## Experimental procedure

### Preoperative habituation

Initially, rats were habituated to the operant chamber with access to food pellets in the food receptacle, followed by a habituation program on a CRF schedule conducted until all rats attained the criterion of 20 consecutive lever presses within a session. Afterwards, rats were subjected to surgery.

### Acquisition

Rats were trained for 14 sessions on the RT task. During acquisition, responses were guided by stimulus-associated reward magnitudes, i.e., mean RTs of responses associated with low reward were significantly longer than those associated with high reward.

### Reversal

Learning a reversal of original stimulus-reward magnitude contingencies was tested for another 10 sessions, i.e., rats had to learn that the stimulus formerly associated with high reward was now predicting low reward, and vice versa.

### Data analysis and statistics

Brightness levels of the instructive stimulus were perceived equally, as shown in earlier studies (Bohn et al. 2003b): For a given reward magnitude level, mean accuracy and RT values obtained with a bright or a dim stimulus did not differ significantly (data not shown). Therefore, response measures for a given reward magnitude obtained with bright and dim instructive stimuli were pooled. Accuracy of performance was determined by the proportion of correct trials from the overall number of trials (early + correct + late) necessary to reach the criterion of 30 correct responses for each stimulus-reward magnitude relationship ( $[(\text{correct responses}/\text{early} + \text{correct} + \text{late responses}) \times 100]$ ).

The calculations on RT performance were conducted with data from correct trials (RT < 2 sec). When averaging RT data, a geometric mean was calculated for each rat for each session, as the geometric mean is less influenced by outlying data points than is the arithmetic mean. Overall, RT means of responses associated with the high- and low-reward magnitude represent the arithmetic average of the geometric means of individual rats (Brasted et al. 1997).

Treatment effects on accuracy of performance, early and late responses, and RT of correct responses were assessed by between-subjects comparisons of groups treated with vehicle or QA. Data were analyzed using an ANOVA with treatment as between-subjects factor, reward magnitude and days as within-subjects (repeated measures) factors, followed by planned contrast analyses. Accuracy of performance, early and late responses, and RTs of correct responses during reversal were compared using a separate ANOVA followed by planned contrast analyses.

## Acknowledgments

This research was supported by the Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG Ha2340/5-1).

## References

Baunez, C., Amalric, M., and Robbins, T.W. 2002. Enhanced food-related motivation after bilateral lesions of the subthalamic nucleus. *J. Neurosci.* **22**: 562–568.

Berendse, H.W., Galis-de Graaf, Y., and Groenewegen, H.J. 1992. Topographical organization and relationship with ventral striatal compartments of prefrontal corticostriatal projections in the rat. *J. Comp. Neurol.* **316**: 314–347.

Berger, B., Gaspar, P., and Verney, C. 1991. Dopaminergic innervation of the cerebral cortex: Unexpected differences between rodents and primates. *Trends Neurosci.* **14**: 21–27.

Bohn, I., Gierler, C., and Hauber, W. 2003a. Orbital prefrontal cortex and guidance of instrumental behaviour in rats under reversal conditions. *Behav. Brain Res.* **143**: 49–56.

Bohn, I., Gierler, C., and Hauber, W. 2003b. NMDA receptors in the rat orbital prefrontal cortex are involved in guidance of instrumental behaviour under reversal conditions. *Cereb. Cortex* **13**: 968–976.

Bowman, E.M. and Brown, V.J. 1998. Effects of excitotoxic lesions of the rat ventral striatum on the perception of reward cost. *Exp. Brain Res.* **123**: 439–448.

Brasted, P.J., Humby, T., Dunnett, S.B., and Robbins, T.W. 1997. Unilateral lesions of the dorsal striatum in rats disrupt responding in egocentric space. *J. Neurosci.* **17**: 8919–8926.

Brog, J.S., Salyapongse, A., Deutch, A.Y., and Zahm, D.S. 1993. The patterns of afferent innervation of the core and shell in the accumbens part of the rat ventral striatum—Immunohistochemical detection of retrogradely transported fluoro-gold. *J. Comp. Neurol.* **338**: 255–278.

Bussey, T.J., Muir, J.L., Everitt, B.J., and Robbins, T.W. 1996. Dissociable effects of anterior and posterior cingulate cortex lesions on the acquisition of a conditional visual discrimination: Facilitation of early learning vs. impairment of late learning. *Behav. Brain Res.* **82**: 45–56.

Bussey, T.J., Everitt, B.J., and Robbins, T.W. 1997a. Dissociable effects of cingulate and medial frontal cortex lesions on stimulus-reward learning using a novel Pavlovian autoshaping procedure for the rat: Implications for the neurobiology of emotion. *Behav. Neurosci.* **111**: 908–919.

Bussey, T.J., Muir, J.L., Everitt, B.J., and Robbins, T.W. 1997b. Triple dissociation of anterior cingulate, posterior cingulate, and medial frontal cortices on visual discrimination tasks using a touchscreen testing procedure for the rat. *Behav. Neurosci.* **111**: 920–936.

Cardinal, R.N., Pennicott, D.R., Sugathapala, C.L., Robbins, T.W., and Everitt, B.J. 2001. Impulsive choice induced in rats by lesions of the nucleus accumbens core. *Science* **292**: 2499–2501.

Cardinal, R.N., Parkinson, J.A., Lachenal, G., Halkerston, K.M., Rudarakanchana, N., Hall, J., Morrison, C.H., Howes, S.R., Robbins, T.W., and Everitt, B.J. 2002. Effects of selective excitotoxic lesions of the nucleus accumbens core, anterior cingulate cortex, and central nucleus of the amygdala on autoshaping performance in rats. *Behav. Neurosci.* **116**: 553–567.

Cardinal, R.N., Parkinson, J.A., Marbini, H.D., Toner, A.J., Bussey, T.J., Robbins, T.W., and Everitt, B.J. 2003. Role of the anterior cingulate cortex in the control over behavior by pavlovian conditioned stimuli in rats. *Behav. Neurosci.* **117**: 566–587.

Cardinal, R.N., Winstanley, C.A., Robbins, T.W., and Everitt, B.J. 2004. Limbic corticostriatal systems and delayed reinforcement. *Ann. NY Acad. Sci.* **1021**: 33–50.

Cousins, M.S., Atherton, A., Turner, L., and Salamone, J.D. 1996. Nucleus accumbens dopamine depletions alter relative response allocation in a T-maze cost/benefit task. *Behav. Brain Res.* **74**: 189–197.

Divac, I. and Diemer, N.H. 1980. Prefrontal system in the rat visualized by means of labeled deoxyglucose—Further evidence for functional heterogeneity of the neostriatum. *J. Comp. Neurol.* **190**: 1–13.

Gierler, C., Bohn, I., and Hauber, W. 2003. The rat nucleus accumbens is involved in guiding of instrumental responses by stimuli predicting reward magnitude. *Eur. J. Neurosci.* **18**: 1993–1996.

Hadland, K.A., Rushworth, M.F., Gaffan, D., and Passingham, R.E. 2003. The anterior cingulate and reward-guided selection of actions. *J. Neurophysiol.* **89**: 1161–1164.

Hodos, W. 1961. Progressive ratio as a measure of reward strength. *Science* **134**: 943–944.

McGeorge, A.J. and Faull, R.L. 1989. The organization of the projection from the cerebral cortex to the striatum in the rat. *Neuroscience* **29**: 503–537.

Meunier, M., Jaffard, R., and Destrade, C. 1991. Differential involvement of anterior and posterior cingulate cortices in spatial discriminative learning in a T-maze in mice. *Behav. Brain Res.* **44**: 133–143.

Parkinson, J.A., Willoughby, P.J., Robbins, T.W., and Everitt, B.J. 2000. Disconnection of the anterior cingulate cortex and nucleus accumbens core impairs Pavlovian approach behavior: Further evidence for limbic cortical-ventral striatopallidal systems. *Behav. Neurosci.* **114**: 42–63.

Paxinos, G. and Watson, C. 1997. The rat brain in stereotaxic coordinates, 3rd ed. Academic Press, Inc., San Diego, CA.

Rushworth, M.F., Walton, M.E., Kennerley, S.W., and Bannerman, D.M. 2004. Action sets and decisions in the medial frontal cortex. *Trends Cogn. Sci.* **8**: 410–417.

Salamone, J.D., Steinpreis, R.E., McCullough, L.D., Smith, P., Grebel, D.,

## Schweimer and Hauber

- and Mahan, K. 1991. Haloperidol and nucleus accumbens dopamine depletion suppress lever pressing for food but increase free food consumption in a novel food choice procedure. *Psychopharmacology (Berl.)* **104**: 515-521.
- Salamone, J.D., Cousins, M.S., and Bucher, S. 1994. Anhedonia or anergia? Effects of haloperidol and nucleus accumbens dopamine depletion on instrumental response selection in a T-maze cost/benefit procedure. *Behav. Brain Res.* **65**: 221-229.
- Salamone, J.D., Cousins, M.S., and Snyder, B.J. 1997. Behavioral functions of nucleus accumbens dopamine: Empirical and conceptual problems with the anhedonia hypothesis. *Neurosci. Biobehav. Rev.* **21**: 341-359.
- Salamone, J.D., Correa, M., Mingote, S., and Weber, S.M. 2003. Nucleus accumbens dopamine and the regulation of effort in food-seeking behavior: Implications for studies of natural motivation, psychiatry, and drug abuse. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **305**: 1-8.
- Shima, K. and Tanji, J. 1998. Role for cingulate motor area cells in voluntary movement selection based on reward. *Science* **282**: 1335-1338.
- Uylings, H.B. and van Eden, C.G. 1990. Qualitative and quantitative comparison of the prefrontal cortex in rat and in primates, including humans. *Prog. Brain Res.* **85**: 31-62.
- Walton, M.E., Bannerman, D.M., and Rushworth, M.F. 2002. The role of rat medial frontal cortex in effort-based decision making. *J. Neurosci.* **22**: 10996-11003.
- Walton, M.E., Bannerman, D.M., Alterescu, K., and Rushworth, M.F. 2003. Functional specialization within medial frontal cortex of the anterior cingulate for evaluating effort-related decisions. *J. Neurosci.* **23**: 6475-6479.
- Winters, B.D., Robbins, T.W., and Everitt, B.J. 2004. Selective cholinergic denervation of the cingulate cortex impairs the acquisition and performance of a conditional visual discrimination in rats. *Eur. J. Neurosci.* **19**: 490-496.

Received December 8, 2004; accepted in revised form March 29, 2005.

# Involvement of Catecholamine Neurotransmission in the Rat Anterior Cingulate in Effort-Related Decision Making

Judith Schweimer, Simone Saft, and Wolfgang Hauber  
University of Stuttgart

This study examined whether catecholamine-mediated signals in the anterior cingulate cortex (ACC) contribute to effort-based decision making. Rats were tested after 6-hydroxydopamine or vehicle infusions into the ACC in a T maze cost–benefit task in which the rats could choose either to climb a barrier to obtain a high reward in one arm or run into the other arm without a barrier to obtain a low reward. Results demonstrate that infusions of 6-hydroxydopamine induced a near total loss of tyrosine hydroxylase–positive fibers in the ACC. Unlike sham-lesioned rats, 6-hydroxydopamine-lesioned rats exhibited a reduced preference for the high-cost–high-reward response option when given the choice of obtaining a low reward with little effort. Thus, catecholamine-mediated signals in the ACC could play a role in effort-based decision making.

*Keywords:* anterior cingulate cortex, dopamine, cost–benefit, reward magnitude, rat

The anterior cingulate cortex (ACC), a crucial component of the limbic cortico-striatal circuitry, has been implicated in a variety of cognitive and executive processes (Botvinick, Cohen, & Carter, 2004; Holroyd & Coles, 2002; Rushworth, Walton, Kennerley, and Bannerman, 2004). For instance, the ACC might serve to encode whether an action is worth performing in view of the expected benefit and the cost of performing the action (Rushworth et al., 2004). Evidence in favor of this notion is provided by findings that rats with excitotoxic ACC lesions selected the low-cost–low-reward option in a T maze cost–benefit task when given the choice between climbing a barrier to obtain a large reward in one arm or running for a low reward into the other arm with no barrier present (Walton, Bannerman, Alterescu, & Rushworth, 2003). Notably, rats tested in a similar T maze cost–benefit task after a systemic dopamine (DA) receptor blockade or DA depletion of the nucleus accumbens also no longer chose the effortful, high-reward action but chose the less effortful, low-reward action (Cousins, Atherton, Turner, & Salamone, 1996; Salamone, Cousins, & Bucher, 1994).

These findings suggest that DA neuromodulation, for example, in the nucleus accumbens, plays a prominent role in effort-related decision making. Because the ACC receives a significant DA innervation (Berger, Gaspar, & Verney, 1991) and exhibits a dense expression of the DA transporter (Sesack, Hawrylak, Matus, Guido, & Levey, 1998), DA-mediated signals in the ACC could be crucial for effort-based decision making as well. To date, the role of DA neuromodulation in the ACC in guiding behavior, in particular, choice behavior thought to rely on cost–benefit analysis,

has been examined in very few studies (Walton, Crosson, Rushworth, & Bannerman, 2005). Therefore, we investigated the effects of infusions of the catecholamine neurotoxin 6-hydroxydopamine (6-OHDA) into the Cg1 and Cg2 fields of the ACC in rats tested in a T maze cost–benefit task (Walton et al., 2003). In this task, subjects could choose either to climb a barrier (30 cm) to obtain a high reward (four pellets) in one arm or enter the other arm without a barrier to obtain a low reward (two pellets). We analyzed 6-OHDA lesions using tyrosine hydroxylase (TH) immunoreactivity to determine the exact location and extent of the lesions and possible damage of catecholamine fibers in adjacent cortical areas, such as the prelimbic cortex.

## Method

### Subjects

Male Sprague-Dawley rats (*Rattus norvegicus*; Charles River, Sulzfeld, Germany) weighing between 300 and 400 g at the time of surgery were used. They were housed in transparent Macrolon cages (type IV; 35 x 55 x 10 cm; Ebeco, Castrop-Rauxel, Germany) in a 12:12-hr light–dark cycle (lights on at 7:00 a.m.) with ad libitum access to water; food was restricted to 15 g per animal a day (standard maintenance chow; Altromin, Lage, Germany). Temperature ( $20^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) and humidity ( $50\% \pm 10\%$ ) were kept constant in the animal house. Experiments were performed according to the German Law on Animal Protection and approved by the proper authorities in Stuttgart, Germany.

### Surgery

For stereotaxic surgery, animals were anesthetized with sodium pentobarbital (Narcoren, 40 mg/kg, intraperitoneal; Merial, Hallbergmoos, Germany) following pretreatment with atropine sulfate (0.2 mg, subcutaneous; WDT, Garbsen, Germany) and secured in a stereotaxic apparatus with atraumatic ear bars (David Kopf Instruments, Tujunga, California). In addition, animals received systemic injections of the noradrenaline reuptake inhibitor desipramine (20 mg/kg; Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Germany) 30 min before the administration of anesthesia. The skull was exposed, and standard stereotaxic methods were used for bilateral injec-

---

Judith Schweimer, Simone Saft, and Wolfgang Hauber, Department of Animal Physiology, Biological Institute, University of Stuttgart. This research was supported by the Deutsche Forschungsgemeinschaft (Ha2340/5-1).

Correspondence concerning this article should be addressed to Wolfgang Hauber, Universität Stuttgart, Biologisches Institut, Abteilung Tierphysiologie, Pfaffenwaldring 57, Stuttgart D-70550, Germany. E-mail: hauber@bio.uni-stuttgart.de

tions into the ACC at the following coordinates from the skull surface at bregma: AP +1.2 mm, ML  $\pm$ 0.5 mm, and DV -3.0 and -2.2 mm; AP +0.5 mm, ML  $\pm$ 0.5 mm, and DV -2.8 and -2.0 mm; AP -0.2 mm, ML  $\pm$ 0.5 mm, and DV -2.5 and -2.0 mm (tooth bar at -3.3 mm below the interaural line) with reference to the atlas of Paxinos and Watson (1997). The targeted regions of the ACC were cingulate areas 1 and 2.

Lesions were made by infusions of 6-OHDA hydrobromide (Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Germany) dissolved in isotonic saline with 0.01% ascorbate; sham lesions were made by infusions of saline with ascorbate. All infusions were given by means of a 1- $\mu$ L syringe through a 25-gauge injection cannula. The 6-OHDA hydrobromide dose was 3  $\mu$ g per site injected in a volume of 0.5  $\mu$ L at each of the 12 sites; infusion time was 1 min at each site. The injector was left in place for 1 min at the lower injection sites and 2 min at the upper injection sites to allow for diffusion. On completion of surgery, rats received a subcutaneous injection of 2.5 ml saline. Animals were allowed to recover for at least 7 days.

## Apparatus

A T maze task involving effort-based decision making (Salamone et al., 1994; Walton, Bannerman, & Rushworth, 2002; Walton, Bannerman, Alterescu, & Rushworth, 2003) was used. The elevated T maze consisted of a start arm and two goal arms (each 17 cm wide and 70 cm long) made of laminated wood; the walls were 30 cm high. A food well was placed at the end of each goal arm. On "forced" trials, a solid block was used to prevent entering one goal arm. The barriers that the animals had to surmount were made of wire mesh in the shape of a three-dimensional right-angled triangle. The rats had to climb the vertical side of the triangle and to descend the slope to attain the reward. The height of the barriers was increased during training from 15 cm at the beginning to a final height of 30 cm (final steepness,  $\sim$ 50°).

## Training and Experimental Procedure

The experimental procedure corresponded to the schedule described by Walton et al. (2002). In brief, after habituation to the maze animals learned to discriminate a high-reward (HR) goal arm containing four food pellets (45 mg dustless precision pellets; Bioserv, Frenchtown, New Jersey) from a low-reward (LR) goal arm containing two food pellets. For one half of the group, the HR arm was on the right, and for the other half, it was on the left. The rats were trained until they chose the HR arm in at least 80% of the trials; then, a 15-cm barrier was introduced into the HR arm. When animals selected the HR arm in the majority of trials (>70%), the height of the barrier was increased in steps of 5 cm to a maximum of 30 cm. On the first two trials each day, the rats were forced to run in opposite directions. An animal had 10 choice trials each day with a minimum intertrial interval of 4 min.

The experiment consisted of four testing blocks on 3 consecutive testing days. During the prelesion block as well as the first and third postlesion blocks (blocks A, B and D), there was a 30-cm barrier in the HR arm only. During the second postlesion block (block C), identical 30-cm barriers were present in each goal arm to allow us to assess whether the lesions caused any motor or spatial deficits or an inability to remember the reward size in the goal arms.

## Data Analysis and Statistics

Choices of the HR arm on each testing day were counted and given as mean  $\pm$  standard error of the mean (SEM). The data were subjected to a repeated measures analysis of variance (ANOVA) with two within-subject factors (day of testing, three days; and testing block, four blocks) and one between-subjects factor (treatment, sham vs. 6-OHDA lesion). The results given were calculated using a Greenhouse-Geisser correction to compensate for problems caused by violations of the sphericity assumption

when using an *F* test. All statistical computations were carried out with STATISTICA (version 5.5; StatSoft, Tulsa, Oklahoma). The level of statistical significance ( $\alpha$  level) was set at  $p < .05$ .

## Histology

On completion of the behavioral experiment, rats were killed with enflurane (Ethrane; Abbott, Wiesbaden, Germany) and perfused transcardially with 0.1% heparin sodium solution followed by 4% formalin saline. The brains were removed, placed in formalin saline overnight, and stored in 30% sucrose. The brains were frozen and sectioned coronally (50  $\mu$ m); every third section was processed for TH immunohistochemistry. Initially, the sections were washed in 0.05 M Tris-buffered saline (TBS; 6.1 g Tris base and 9 g sodium chloride in 1 L of demineralized water, pH adjusted to 7.6 with hydrochloric acid), incubated for 15 min in 10% methanol and 2% hydrogen peroxide in TBS, and then blocked for 20 min in 4% natural horse serum (NHS) in TBS containing 0.2% Triton X-100 (TBS-T). Sections were incubated for 36 hr at 4°C in primary antibody (mouse, anti-TH, LNC1; DiaSorin, Stillwater, Minnesota; 1:7,500 in TBS-T containing 4% NHS), then for 90 min in secondary antibody (horse, anti-mouse IgG; Vector Laboratories, Burlingame, California; 1:200 in TBS-T containing 4% NHS) at room temperature, and finally for 1 hr in ABC complex (phycoerythrin; Vectastain Elite ABC kit, Vector; 1:500 in TBS-T). Finally, sections were reacted with DAB (horseradish peroxidase chromogen). Washing steps in TBS or TBS-T (3 x 10 min) were performed between each step. The sections were mounted on coated slides and coverslipped using DePeX (Serva, Heidelberg, Germany).

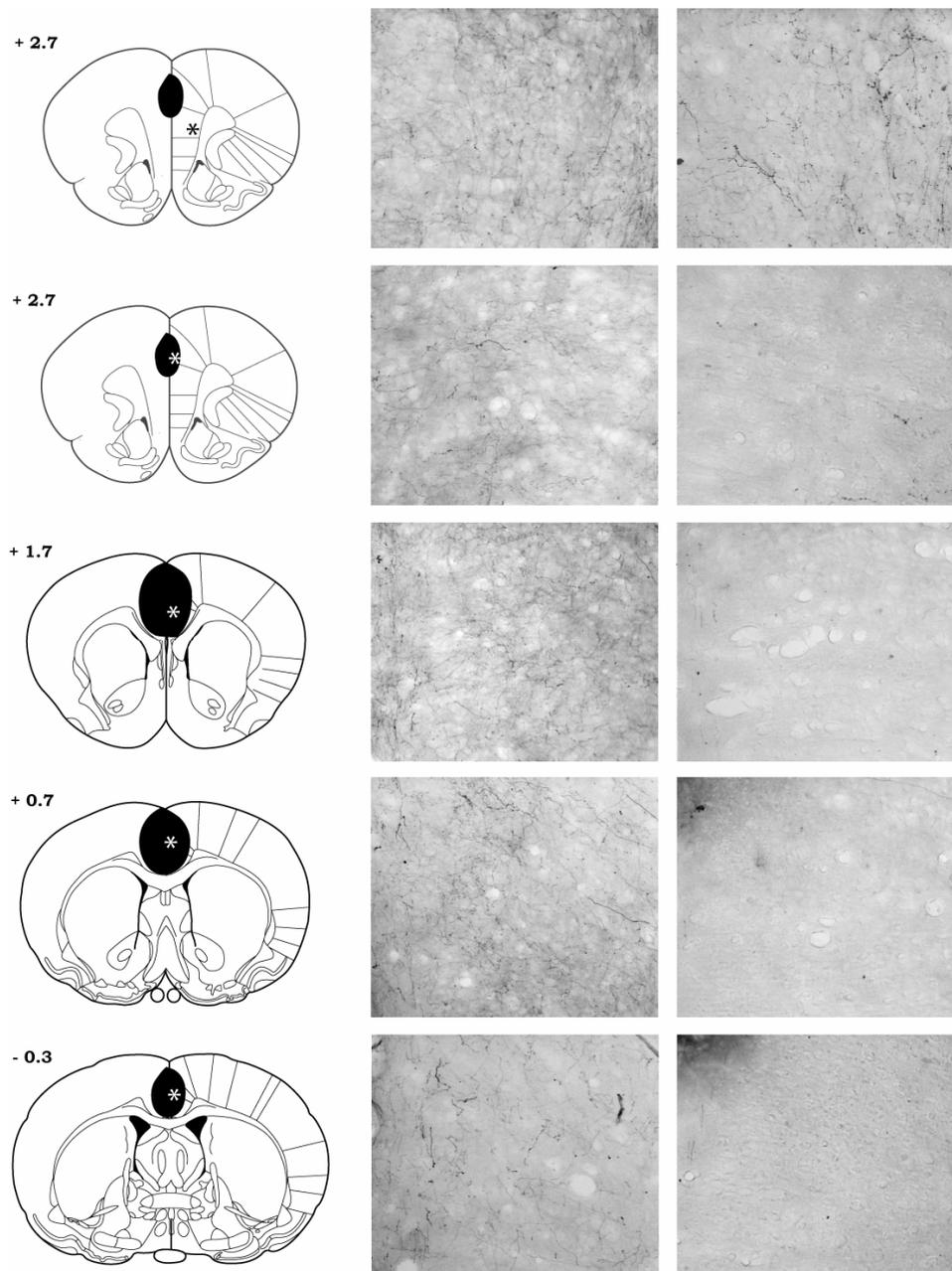
## Results

### Histology

TH-positive fibers in the Cg1 and Cg2 fields of the ACC were abundant in sham-lesioned rats ( $N = 13$ ) but rare in rats with 6-OHDA lesions ( $N = 9$ ), as shown in Figure 1. The loss of TH-positive fibers was relatively consistent across all rats with 6-OHDA lesions; the areas that were nearly devoid of TH immunoreactivity included the pregenual and perigenual parts of the ACC, with a maximum extension from approximately 2.2 mm anterior to bregma to 0.3 mm posterior to bregma. No evidence for a subcortical loss of TH-positive fibers was found.

### Choice Behavior

In the prelesion testing block, all the rats exhibited a strong preference for surmounting the barrier to obtain the large reward, with an average of approximately 80% of the choices for the HR arm (see Figure 2). This preference was reduced postoperatively in 6-OHDA-lesioned rats if tested in the one-barrier condition, but not if tested in the two-barrier condition. Repeated measures three-way ANOVA revealed significant effects of treatment,  $F(1, 20) = 4.49$ ,  $p < .05$ , and testing blocks,  $F(1.50, 29.91) = 16.78$ ,  $p < .0001$ , but not of days,  $F(2, 40) = 0.83$ , *ns*. Furthermore, there was a significant Treatment x Testing Block interaction,  $F(1.50, 29.91) = 4.53$ ,  $p < .05$ . For a detailed analysis, additional ANOVAs were run on data from single blocks. In prelesion testing block A (barrier in the HR arm), no significant main effects of group,  $F(1, 20) = 0.70$ , *ns*; days,  $F(2, 40) = 0.27$ , *ns*; or Group x Day interactions ( $F(2, 40) = 0.64$ , *ns*) were detected. By contrast, in the first postlesion block (block B, barrier in the HR arm), there was a clear, though not significant, tendency for a main effect of



*Figure 1.* Photomicrographs of tyrosine hydroxylase (TH)-immunoreactive catecholamine fibers in rats with 6-hydroxydopamine (6-OHDA) and vehicle infusions into the anterior cingulate cortex (ACC). The left column shows schematic coronal sections with a representation of ACC subregions (black shading) that were nearly devoid of TH-positive fibers in all rats with 6-OHDA lesions. Maximum extension of 6-hydroxydopamine lesions was from approximately -0.3 mm to +2.2 mm relative to bregma; 2.7 mm anterior to bregma, there was a loss of TH-immunoreactive fibers in the ACC but not in the prefrontal cortex (top). Photomicrographs of the areas indicated in the schematics (\*) are shown for representative rats with a vehicle infusion (left column) and a 6-hydroxydopamine infusion (right column). Scales are relative to bregma. *Note.* Plates are adaptations from the atlas of Paxinos and Watson (*The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*, 3rd ed., by G. Paxinos and C. Watson, Figures 9, 11, 15, and 19. Copyright 1997 by Elsevier. Reprinted with permission).

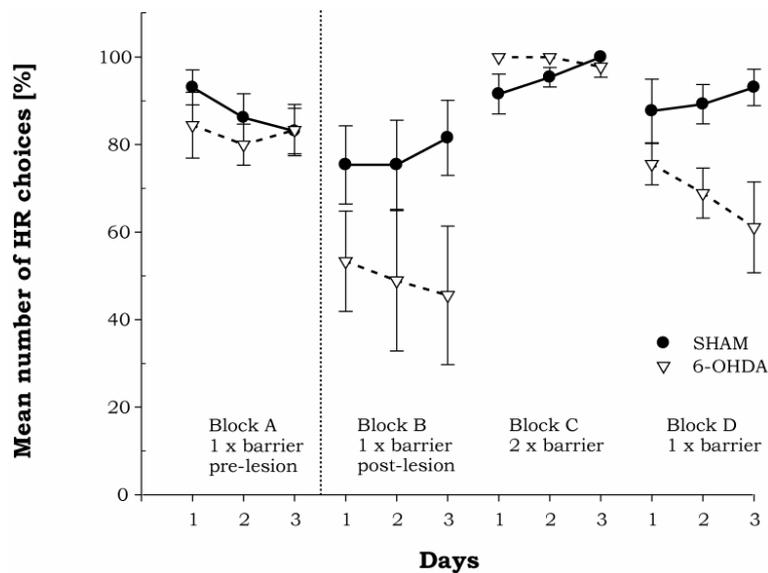


Figure 2. Effects of 6-hydroxydopamine (6-OHDA) lesions of the anterior cingulate cortex (ACC) in a T maze cost–benefit task. Mean ( $\pm$  SEM) percentages of high-reward (HR) arm choices per day in sham-lesioned ( $N = 13$ , filled circles) and 6-OHDA-lesioned ( $N = 9$ , open triangles) rats are given. Testing block A was prelesion; blocks B–D were postlesion. Each testing block consisted of 3 consecutive test days. On blocks A, B, and D, a 30-cm barrier was placed in the HR arm; on block C, identical 30-cm barriers were placed in each goal arm.

treatment,  $F(1, 20) = 3.71$ ,  $p = .069$ , *ns*, but no main effect of days,  $F(2, 40) = 0.89$ , *ns*, or Treatment  $\times$  Day interactions,  $F(2, 40) = 0.33$ , *ns*. In the subsequent postlesion block (block C barriers in the HR and LR arms), all the rats preferred the HR arm; no significant main effects of treatment,  $F(1, 20) = 3.11$ , *ns*; days,  $F(2, 40) = 0.78$ , *ns*; or Treatment  $\times$  Day interactions,  $F(2, 40) = 2.30$ , *ns*, were detected. After removal of the barrier in the LR arm in testing block D, the 6-OHDA-lesioned animals no longer preferred the HR arm. There was a significant main effect of treatment,  $F(1, 20) = 11.93$ ,  $p < .003$ , but not of days,  $F(2, 40) = 0.68$ , *ns*, and no Treatment  $\times$  Day interactions,  $F(2, 40) = 0.16$ , *ns*, were detected.

## Discussion

In this study, we demonstrated that rats with 6-OHDA-induced ACC lesions exhibited a reduced preference for the high-cost–high-reward response option when given the choice to obtain a low reward with little effort. These findings suggest that catecholamine-mediated signals in the ACC could play a role in effort-based decision making.

In the one-barrier condition, rats with 6-OHDA-induced ACC lesions less often preferred climbing a barrier to obtain a larger reward, more often selecting the low-effort–low-reward action. The reduced preference of 6-OHDA-lesioned rats compared with the preference of the sham-lesioned rats for the HR arm was significant in the second testing block, whereas in the first testing block there was a trend for a treatment effect ( $p = .069$ ) that failed to reach significance because of the relatively high interindividual variance. By contrast, in the two-barrier condition, 6-OHDA-lesioned and sham-lesioned rats preferred the HR arm, indicating

that 6-OHDA-induced lesions did not impair spatial or sensorimotor abilities and the memory for reward quantities. In line with previous reports (Schweimer & Hauber, 2005; Walton et al., 2003), the shift in the two-barrier condition toward HR arm responses was pronounced and was observed as early as Day 1.

At variance with these findings, in a very recent study ACC catecholamine depletions did not affect choice performance in the same task, even if barrier and reward sizes were modified (Walton et al., 2005). Probably, these discrepant results are due to methodological differences. First and most important was the finding that in our sham-lesioned rats, the preference for the HR arm in the one-barrier condition was markedly higher compared with that in the rats in the study by Walton et al. (2005). It seems, therefore, likely that this is one critical factor that accounts for the significant differences of choice behavior between sham- and 6-OHDA-lesioned rats seen here. Second, differences in choice performance between sham- and 6-OHDA-treated rats were most prominent in the second one-barrier testing block, a condition not examined in the study by Walton et al. (2005). Third, the dose of 6-OHDA used here (3  $\mu$ g at each of 12 sites) was markedly higher than the one used by Walton et al. (2005; 2  $\mu$ g at each of 8 sites), and we began behavioral testing after a shorter postsurgical recovery period (7 vs. 14 days). In addition, effort-related decision making in the T maze paradigm seems to be more sensitive to manipulations of DA in the rat strain (Sprague-Dawley) used in our study: Systemic administration of the DA receptor antagonist haloperidol at a dose of 0.1 mg/kg has already been found to produce a significant shift toward LR arm responses in Sprague-Dawley rats (Salamone et al., 1994) but not in Lister Hooded rats (Walton et al., 2005), in which higher doses were required. In sum, these factors could account for

the significant behavioral effects associated with 6-OHDA lesions observed in our study.

Our data further reveal that 6-OHDA infusions produced a near total loss of TH-positive fibers in the ACC, as also has been shown by Walton et al. (2005). The 6-OHDA lesions were confined to the pregenual and perigenual parts of the ACC; we found no evidence of a loss of TH-positive fibers in more anterior regions of the medial frontal cortex. Likewise, Pycock, Carter, and Kerwin (1980) showed that 6-OHDA infusions into distinct prefrontal regions—for example, the prelimbic–infralimbic region—had relatively restricted effects around the infusion site and did not affect adjacent areas, such as the ACC. The rat ACC receives a dense innervation by DA fibers from the ventral tegmental area and substantia nigra (Berger et al., 1991; Haber & Fudge, 1997). Furthermore, the ACC is projected on by noradrenaline (NA) fibers from the locus coeruleus; however, the density of NA axon terminals is low relative to that of other neocortical areas (Morrison, Molliver, Grzanna, & Coyle, 1979). Prefrontal 6-OHDA infusions destroy DA and NA terminals (Jonsson & Sachs, 1975); the latter are destroyed even with NA reuptake inhibition (e.g., Hauber, Bubser, & Schmidt, 1994; Ravard, Herve, Thiebot, Soubrie, & Tassin, 1989), as was used in the present study. Thus, our findings imply that changes in choice behavior are brought about by an impaired catecholamine transmission in the ACC. Because the results of TH immunohistochemistry provide the exact location and extent of catecholamine lesions but allow no quantification of the relative degrees of DA and NA depletion, we cannot delineate whether behavioral changes primarily are caused by DA or NA dysfunction. By contrast, a possible 6-OHDA-induced loss of ACC 5-hydroxytryptamine (5-HT) fibers (Cooper, Bloom, & Roth, 1991), though not examined here, is unlikely to underlie behavioral changes because systemic inhibition of 5-HT synthesis did not alter cost–benefit decisions (Denk et al., 2005).

The 6-OHDA-induced effects on choice behavior largely correspond to those induced by quinolinic acid lesions of the ACC (Schweimer & Hauber, 2005; Walton et al., 2003). However, the mechanisms affected by 6-OHDA lesions accounting for these behavioral changes are difficult to assess. DA signals in the ACC have been implicated in modulating the amplitude of reinforcement-related brain potentials generated in the ACC (Nieuwenhuis, Holroyd, Mol, & Coles, 2004). It is, therefore, conceivable that a loss of DA neuromodulation in the ACC produces abnormal reinforcement learning signals, thereby compromising the sensitivity to benefits (i.e., reward sizes) that guide effort-related decisions. However, as with animals with cell body lesions, it appears that 6-OHDA-lesioned rats were not insensitive to costs and benefits because they seemed to operate according to a cost–benefit analysis in the two-barrier condition. Thus, complex changes could have been present, such as a shift in a hypothetical utility function underlying economic decisions (see Glimcher & Rustichini, 2004, for a review) that caused 6-OHDA-lesioned rats to prefer less effortful, low-reward action in some conditions. Furthermore, one has to take into account that the ACC serves conflict monitoring (Botvinick et al., 2004) and coding of action outcomes (Rushworth et al., 2004). We cannot exclude the possibility that these functions normally contribute to behavioral choice as tested here but were compromised by ACC 6-OHDA lesions. Thus, although the exact contribution of DA signaling in the ACC to effort-related decisions remains unclear, our data suggest that

the DA projection to the ACC is involved in this type of decision making, in addition to the DA projection to the nucleus accumbens, as previously shown (Cousins et al., 1996; Salamone et al., 1994). However, in view of the negative results provided by Walton et al. (2005), this notion is preliminary. Further studies are required to elucidate in detail the neurochemical nature of the behavioral changes seen here—for example, by intra-ACC infusions of selective DA and NA receptor antagonists—and the extent to which they rely on task-related procedural features.

In summary, our present results provide preliminary evidence that catecholamine transmission in the ACC contributes to effort-related decisions.

## References

- Berger, B., Gaspar, P., & Verney, C. (1991). Dopaminergic innervation of the cerebral cortex: Unexpected differences between rodents and primates. *Trends in Neurosciences*, *14*, 21–27.
- Botvinick, M. M., Cohen, J. D., & Carter, C. S. (2004). Conflict monitoring and anterior cingulate cortex: An update. *Trends in Cognitive Sciences*, *8*, 539–546.
- Cooper, J. R., Bloom, F. E., & Roth, R. H. (1991). *The biochemical basis of neuropharmacology* (6th ed.). New York: Oxford University Press.
- Cousins, M. S., Atherton, A., Turner, L., & Salamone, J. D. (1996). Nucleus accumbens dopamine depletions alter relative response allocation in a T-maze cost/benefit task. *Behavioural Brain Research*, *74*, 189–197.
- Denk, F., Walton, M. E., Jennings, K. A., Sharp, T., Rushworth, M. F. S., & Bannerman, D. M. (2005). Differential involvement of serotonin and dopamine systems in cost-benefit decisions about delay or effort. *Psychopharmacology*, *179*, 587.
- Glimcher, P. W., & Rustichini, A. (2004, October 15). Neuroeconomics: The consilience of brain and decision. *Science*, *306*, 447–452.
- Haber, S. N., & Fudge, J. L. (1997). The primate substantia nigra and VTA: Integrative circuitry and function. *Critical Reviews in Neurobiology*, *11*, 323–342.
- Hauber, W., Bubser, M., & Schmidt, W. J. (1994). 6-Hydroxydopamine lesion of the rat prefrontal cortex impairs motor initiation but not motor execution. *Experimental Brain Research*, *99*, 524–528.
- Holroyd, C. B., & Coles, M. G. (2002). The neural basis of human error processing: Reinforcement learning, dopamine, and the error-related negativity. *Psychological Review*, *109*, 679–709.
- Jonsson, G., & Sachs, C. (1975). Actions of 6-hydroxydopamine quinones on catecholamine neurons. *Journal of Neurochemistry*, *25*, 509–516.
- Morrison, J. H., Molliver, M. E., Grzanna, R., & Coyle, J. T. (1979). Noradrenergic innervation patterns in three regions of medial cortex: An immunofluorescence characterization. *Brain Research Bulletin*, *4*, 849–857.
- Nieuwenhuis, S., Holroyd, C. B., Mol, N., & Coles, M. G. (2004). Reinforcement-related brain potentials from medial frontal cortex: Origins and functional significance. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, *28*, 441–448.
- Paxinos, G., & Watson, C. (1997). *The rat brain in stereotaxic coordinates* (3rd ed.). San Diego: Academic Press.
- Pycock, C. J., Carter, C. J., & Kerwin, R. W. (1980). Effect of 6-hydroxydopamine lesions of the medial prefrontal cortex on neurotransmitter systems in subcortical sites in the rat. *Journal of Neurochemistry*, *34*, 91–99.
- Ravard, S., Herve, D., Thiebot, M. H., Soubrie, P., & Tassin, J. P. (1989). Anticonflict-like effect of a prefrontal dopaminergic lesion in rats: Permissive role of noradrenergic neurons. *Behavioural Pharmacology*, *1*, 255–259.
- Rushworth, M. F., Walton, M. E., Kennerley, S. W., & Bannerman, D. M.

- (2004). Action sets and decisions in the medial frontal cortex. *Trends in Cognitive Sciences*, 8, 410–417.
- Salamone, J. D., Cousins, M. S., & Bucher, S. (1994). Anhedonia or anergia? Effects of haloperidol and nucleus accumbens dopamine depletion on instrumental response selection in a T-maze cost/benefit procedure. *Behavioural Brain Research*, 65, 221–229.
- Schweimer, J., & Hauber, W. (2005). Involvement of the rat anterior cingulate cortex in control of instrumental responses guided by reward expectancy. *Learning & Memory*, 12, 334–342.
- Sesack, S. R., Hawrylak, V. A., Matus, C., Guido, M. A., & Levey, A. I. (1998). Dopamine axon varicosities in the prelimbic division of the rat prefrontal cortex exhibit sparse immunoreactivity for the dopamine transporter. *Journal of Neuroscience*, 18, 2697–2708.
- Walton, M. E., Bannerman, D. M., Alterescu, K., & Rushworth, M. F. (2003). Functional specialization within medial frontal cortex of the anterior cingulate for evaluating effort-related decisions. *Journal of Neuroscience*, 23, 6475–6479.
- Walton, M. E., Bannerman, D. M., & Rushworth, M. F. (2002, December 15). The role of rat medial frontal cortex in effort-based decision making. *Journal of Neuroscience*, 22, 10996–11003.
- Walton, M. E., Croxson, P. L., Rushworth, M. F., & Bannerman, D. M. (2005). The mesocortical dopamine projection to anterior cingulate cortex plays no role in guiding effort-related decisions. *Behavioral Neuroscience*, 119, 323–328.

Received April 12, 2005

Revision received August 23, 2005

Accepted August 31, 2005

**Dopamine D1 but not D2 Receptors  
in the Anterior Cingulate Cortex Regulate  
Effort-Based Decision Making**

**Judith Schweimer and Wolfgang Hauber**

Abteilung Tierphysiologie, Biologisches Institut

Universitaet Stuttgart, D-70550 Stuttgart, Germany

**Corresponding author:** Dr. Wolfgang Hauber, Universitaet Stuttgart, Biologisches Institut,  
Abteilung Tierphysiologie, Pfaffenwaldring 57, D-70550 Stuttgart, Germany; Phone: ++49-  
711-685-65003; Fax: ++49-711-685-65090; E-Mail: [hauber@bio.uni-stuttgart.de](mailto:hauber@bio.uni-stuttgart.de)

**Abstract**

The anterior cingulate cortex (ACC) has been implicated in encoding whether or not an action is worth performing in view of the expected benefit and the cost of performing the action. Dopamine input to the ACC may be critical for this form of effort-based decision making, however, the role of distinct ACC dopamine receptors is yet unknown. Therefore, we examined in rats the effects of an intra-ACC D1 and D2 receptor blockade on effort-based decision making tested in a T-maze cost-benefit task. In this task, subjects could either choose to climb a barrier to obtain a high reward in one arm or a low reward in the other arm without a barrier. Unlike vehicle-treated rats, rats with intra-ACC infusion of the D1 receptor antagonist SCH 23390 exhibited a reduced preference for the high cost-high reward response option when having the choice to obtain a low reward with little effort. By contrast, in rats with intra-ACC infusion of the D2 receptor antagonist eticlopride the preference for the high cost-high reward response option was not altered relative to vehicle-treated rats. These data provide the first evidence that D1 receptors in the ACC regulate effort-based decision making.

**Key words:** cost-benefit, frontal lobe, rat, reward

In order to make adaptive decisions, subjects have to analyze costs and benefits of the available response options. A number of studies indicate that the anterior cingulate cortex (ACC), a major subregion of the prefrontal cortex, is involved in these evaluative processes and might serve to encode whether or not an action is worth performing in view of the expected benefit and the cost of performing the action (Rushworth and others 2004). For instance, after excitotoxic ACC lesions rats no longer selected the high cost - high reward option in a cost-benefit T-maze task, if having the choice between climbing a barrier to obtain a large reward in one arm or to run for a low reward into the other arm with no barrier present (Walton and others 2003).

There is a large body of evidence to suggest that mesolimbic dopamine (DA) fibers projecting to the nucleus accumbens are critical for enabling an organism to overcome response costs to gain access to greater reward (Salamone and others 1997). However, recent studies indicate that mesocortical DA fibers projecting to the ACC (Berger and others 1991) may be important in effort-based decision making as well. Like rats with excitotoxic lesions, rats with DA depletion of the ACC did no longer choose effortful but high reward action in a T-maze cost-benefit task (Schweimer and others 2005, but see Walton and others 2005). Prefrontal DA plays an essential role in cognitive processes and regulates aspects of working memory and attention through actions on D1 receptors (e.g., Granon and others 2000; Seamans and Yang 2004) or set-shifting through actions on both D1 and D2 receptors (Floresco and others 2006; Ragozzino 2002). However, the role of D1 and D2 receptors of the ACC in effort-based decision-making is yet unknown.

Here we examined the effects of a selective intra-ACC blockade of D1 and D2 receptors on response selection in a cost-benefit T-maze task which is sensitive to ACC dysfunction in the rat (Schweimer and Hauber 2005; Schweimer and others 2005; Walton and others 2003). In this task, subjects could either choose to climb a barrier (30 cm) to obtain a high reward (4 pellets) in one arm or a low reward (2 pellets) in the other arm without a barrier.

## Materials and Methods

### *Subjects*

Male Sprague-Dawley rats (Charles River, Sulzfeld, Germany) were used weighing between 200 and 300 g at the time of surgery. They were housed in groups of 4 - 6 animals in a 12:12-h light-dark cycle (lights on at 7.00 a.m.) with ad libitum access to water; food was restricted to 15 g per animal and day (standard maintenance chow; Altromin, Lage, Germany). Temperature ( $20\pm 2^\circ\text{C}$ ) and humidity ( $50\pm 10\%$ ) were kept constant in the animal house. Experiments were performed according to the German Law on Animal Protection and approved by the proper authorities in Stuttgart, Germany.

### *Surgery*

For stereotaxic surgery, animals were anaesthetized with a mixture of ketamine (80 mg/kg i.m.; Bela-Pharm, Vechta, Germany) and xylazine HCl (9 mg/kg i.m.; Bayer, Leverkusen, Germany) and secured in a stereotaxic apparatus with atraumatic ear bars (David Kopf Instruments, Tujunga, CA). Bilateral stainless steel guide cannulae (0.8 mm outer diameter) aimed at the Cg1 and Cg2 regions of the ACC were implanted by standard stereotaxic procedures. The coordinates with reference to the atlas of Paxinos and Watson (Paxinos and Watson 1997) were: 2.2 mm anterior to bregma,  $\pm 1.6$  mm lateral and 2.5 mm ventral to bregma with the guide cannulae positioned in an angle of  $20^\circ$  from the midline (tooth bar 3.3 mm below the interaural line). The guide cannulae were occluded by stainless steel stylets. Animals were allowed to recover for at least 7 days.

### *Apparatus*

A T-maze task involving effort-based decision making was used (Salamone and others 1994; Walton and others 2002). The elevated T-maze consisted of a start arm and two goal arms (each 17 cm wide and 70 cm long) made of laminated wood; the walls were 30 cm high. A

food well was placed at the end of each goal arm. On "forced" trials, a solid block was used to prevent entering one goal arm. The barriers which the animals had to surmount were made of wire mesh in shape of a three-dimensional right-angled triangle. The rats had to climb the vertical side of the triangle and to descent down the slope to attain the reward. The height of the barriers was increased during training from 15 cm at the beginning to a final height of 30 cm (final steepness  $\sim 50^\circ$ ).

#### *Training and experimental procedure*

The experimental procedure corresponds to the schedule described by Walton and colleagues (2002). One training or test session was given per day throughout the experiment. In brief, after habituation to the maze on the first day, animals learned to discriminate a high-rewarded goal arm (HR) containing 4 food pellets (45 mg dustless precision pellets, Bioserv, Frenchtown, NJ) from a low-rewarded goal arm (LR) containing 2 food pellets. For one half of the group the HR was on the right, for the other half on the left. Animals were trained until choosing the HR in  $\geq 80\%$  of trials (i.e. 5 days), before a 15 cm barrier was introduced into the HR. After 3 days animals selected the HR in the majority of trials ( $\geq 70\%$ ). Then, the height of barrier was increased to 20 cm and, thereafter, to 25 cm for three days, respectively. On the first two trials, the animals were forced to run in opposite directions followed by 10 choice trials each day. After a total of 12 training days, the experiment consisting of 3 testing blocks of 3 consecutive testing days each was started. During the pre-treatment block (block A) as well as the first treatment block (block B), there was a 30 cm barrier in the HR only. During the second treatment block (block C), identical 30 cm barriers were present in each goal arm to assess whether the infusions of the drugs caused any motor or spatial deficits, or an inability to remember the reward size in the goal arms. Stereotaxic surgery was done between block A and B.

*Drug treatment*

In experiment 1, animals received 6 bilateral intra-ACC microinjections of the D1 receptor antagonist SCH-23390 (Research Biochemicals International, Natick, MA), in experiment 2 6 bilateral intra-ACC microinjections of the D2 receptor antagonist eticlopride hydrochloride (Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany). Microinfusions were given prior to each of three testing days of block B and C, respectively. Drugs were dissolved in physiological saline (0.9%) and injected at a dose of 1 µg in 0.5 µl. Control subjects received saline injections of 0.5 ml.

All injections were delivered through injection cannulae (0.45 mm outer diameter; Braun, Melsungen, Germany) over a 50-s interval; injection cannulae were left in position for a further minute to allow for diffusion. After injection, each animal remained in its home cage for an additional 5 min before being placed in the T-maze.

*Histology*

After completion of the experiment, animals were euthanized with isoflurane (IsoFlo®, Abbott, Queenborough, GB) to control for correct cannulae placements. Brains were removed and placed in 10% formalin saline overnight and stored in 30% sucrose. Coronal brain sections (50 µm) were collected. Every second section was mounted on coated slides, stained with cresyl violet and coverslipped using DePeX (Serva, Heidelberg, Germany).

Only animals were included which cannulae tip placements deviated less than approx. 0.5 mm from target coordinates in the ACC. Four animals with misplaced cannulae were excluded from analysis.

*Data analysis and statistics*

Choices of the HR arm on each testing day were counted and given as percentage means ± standard error of the mean (SEM). The data were subjected to repeated measures analysis of variances (ANOVA) with two within-subject factors (blocks of testing, testing days) and one

between-subject factor (treatment, saline vs. SCH23390 or eticlopride). The results given were calculated using a Greenhouse-Geisser correction to compensate for problems caused by violations of the sphericity assumption when using an F-test. All statistical computations were carried out with STATISTICA™ (version 7.1, StatSoft®, Inc., Tulsa, OK). The level of statistical significance ( $\alpha$ -level) was set at  $p < 0.05$ .

## Results

### *Histology*

The location of the injection cannulae tips within the ACC from animals in experiment 1 and 2 is shown in Fig. 1.

### *Experiment 1: Blockade of ACC D1 receptors and effort-related decision making*

Twenty-one animals were divided into two groups according to their preoperative performance in block A (Fig. 2). The groups were chosen that no significant difference was detectable before surgery ( $F < 1$ ). In postoperative blocks B and C, one group received intra-ACC microinjections of SCH 23390 (1 $\mu$ g in 0.5  $\mu$ l per side;  $n = 10$ ), the other group vehicle microinjections (0.5  $\mu$ l per side,  $n=11$ ).

In the pre-operative testing block, all animals exhibited a strong preference to surmount the barrier to obtain the large reward with an average of more than 75 % of the choices for the HR arm. This preference was reduced after intra-ACC microinjections of the D1 receptor antagonist SCH 23390, if tested in the one-barrier condition (block B) but not if tested in the two-barrier condition (block C).

Repeated measures three-way ANOVA with two within-subject factors (blocks, three; days, three) and one between-subject factor (treatment, SCH 23390 vs. saline) revealed no significant main effect of treatment ( $F(1,19) = 3.57$ ;  $p = 0.07$ ), but a significant main effect of testing blocks ( $F(1.94, 36.92) = 34.90$ ;  $p < 0.001$ ). Furthermore, there was a treatment x block

interaction ( $F(1.94, 36.92) = 9.42$ ;  $p < 0.001$ ) and a block x day interaction ( $F(3.02, 57.38) = 3.84$ ;  $p < 0.05$ ).

For additional analysis, blocks A and B were compared by a separate ANOVA. There was significant main effect of treatment ( $F(1, 19) = 4.46$ ;  $p < 0.05$ ), blocks ( $F(1, 19) = 46.83$ ;  $p < 0.001$ ) and a treatment x block interaction ( $F(1, 19) = 16.94$ ;  $p < 0.001$ ) and a block x day interaction ( $F(1.79, 33.93) = 5.81$ ;  $p < 0.01$ ). A comparison of blocks B and C revealed a significant main effect of treatment ( $F(1, 19) = 5.92$ ;  $p < 0.05$ ), blocks ( $F(1, 19) = 49.72$ ;  $p < 0.001$ ) as well as a treatment x block interaction ( $F(1, 19) = 8.73$ ;  $p < 0.01$ ) and a block x day interaction ( $F(1.52, 28.97) = 4.01$ ;  $p < 0.05$ ). A comparison of simple contrasts revealed a significant effect of treatment in block B ( $F(1,19) = 9.85$ ,  $p < 0.01$ ), but not in block C ( $F(1,19) = 1.14$ ,  $p = 0.30$ ).

#### *Experiment 2: Blockade of ACC D2 receptors and effort-related decision making*

Twenty-two animals were divided into two groups according to their pre-operative performance as shown in Fig. 3. In the pre-operative block A, no difference between groups was detectable ( $F < 1$ ). Both groups preferred to climb the barrier to obtain the higher reward in more than 80 % of the trials. When tested after recovery, one group received intra-ACC microinjections of the D2 receptor antagonist eticlopride ( $1\mu\text{g}$  in  $0.5\ \mu\text{l}$  per side;  $n = 10$ ), the other group vehicle infusions ( $0.5\ \mu\text{l}$  per side,  $n = 12$ ). This preference was not reduced after intra-ACC microinjections of the D2 receptor antagonist eticlopride, if tested in the one-barrier (block B) and two-barrier condition (block C).

Repeated measures three-way ANOVA with two within-subject factors (blocks, three; days, three) and one between-subject factor (treatment, eticlopride vs. saline) demonstrated no significant main effect of treatment ( $F(1, 20) = 0.013$ ; n.s.), but a significant main effect of testing blocks ( $F(1.63, 32.59) = 12.78$ ;  $p < 0.001$ ). In addition, there was a near significant main effect for days ( $F(1.95, 39.02) = 3.26$ ;  $p = 0.0502$ ).

A separate ANOVA to compare blocks A and B demonstrated a significant main effect of blocks ( $F(1, 20) = 12.24$ ;  $p < 0.01$ ), but no block x treatment interaction ( $F(1.63, 32.59) = 2.77$ , n.s.). Likewise, a comparison of blocks B and C revealed a significant main effect of blocks ( $F(1, 20) = 17.03$ ;  $p < 0.001$ ). There was a trend for a significant treatment x block interaction ( $F(1, 20) = 3.63$ ;  $p = 0.07$ ). A comparison of simple contrasts revealed no significant effect of treatment in block B ( $F(1,20) = 1.19$ ,  $p=0.29$ ), but in block C ( $F(1,20) = 4.52$ ,  $p = 0.046$ ). This latter effect was caused by a very high HR arm preference of vehicle-treated animals, rather than a reduced HR preference of eticlopride-treated animals.

### **Discussion**

The results from the present experiments reveal that intra-ACC microinjection of the D1 receptor antagonist SCH23390, but not of the D2 antagonist eticlopride, reduced the preference for the high cost - high reward response option when having the choice to obtain a low reward with little effort. The SCH23390-induced effects cannot be attributed to a reduced motivation, to motor or spatial impairments or to problems in reward magnitude discrimination, because after introduction of a barrier into the LR arm, SCH23390-treated rats selected the high cost - high reward option. These findings suggest that DA input to the ACC acting on D1 receptors is critical for effort-based decision making.

The behavioral effects observed here are likely to be caused by drug actions within the ACC. Radio-labeled SCH23390 microinjected into prefrontal subregions such as the prelimbic cortex exhibited relatively little spread into adjacent subregions (Granon and others 2000). Also, a spread of drug rostrally into the prelimbic-infralimbic cortex would not affect behavior as these prefrontal subregions do not play a role in the form of decision making examined here: Walton and colleagues (Walton and others 2003) demonstrated that excitotoxic lesions to the prelimbic-infralimbic cortex had no effect on rats' ability to make effort-based decisions. SCH23390 (Bischoff and others 1988) and eticlopride (Seeman and

Ulpian 1988) are highly selective and potent antagonists at D1 or D2 receptors, respectively. However, SCH23390 displays affinity to 5-HT<sub>2</sub> receptor as well (Bischoff and others 1988). As a systemic blockade of 5-HT synthesis by para-chlorophenyl-alanine did not alter effort-based decision making as tested here (Denk and others 2005), actions on 5-HT<sub>2</sub> receptors might not account for SCH23390-induced behavioral effects. Furthermore, our data provide no evidence for reduced efficacy with repeated microinjections of SCH23390. Accordingly, Baldwin and colleagues (Baldwin and others 2002) demonstrated that repeated daily prefrontal injections of SCH23390 impaired instrumental learning without loss of efficacy. The doses of SCH23390 and eticlopride (1 µg, respectively) were based on pilot studies and data reported in the literature (Floresco and others 2006; Ragozzino 2002; Seamans and others 1998; Sun and Rebec 2005). For instance, this dose, but not a lower dose, of SCH23390 (Ragozzino 2002) or eticlopride (Floresco and others 2006) microinjected into the medial prefrontal cortex impaired set-shifting of rats in a maze task. Thus, the failure of intra-ACC eticlopride to affect cost-benefit decision making is unlikely to reflect inadequate drug dosing, although we can not completely rule out this possibility.

#### *ACC dopamine and effort-based decision making*

There is consistent evidence to suggest that DA neurotransmission and the mesolimbic DA pathway to the nucleus accumbens is involved in evaluating how much effort to expend for reward (Denk and others 2005; Salamone and others 1994; Walton and others 2005). Recent studies further demonstrated that the ACC has a fundamental role in effort-based decision making (Schweimer and Hauber 2005; Walton and others 2003) though not in all categories of decisions requiring an assessment of costs and benefits (Schweimer and Hauber 2005). As ACC DA depletion reduced the preference of rats for the high cost-high reward option in a similar manner as excitotoxic ACC lesions or nucleus accumbens DA depletion, we proposed that DA inputs to the ACC might be essential for effort-based decision making (Schweimer

and others 2005, but see Walton and others 2005). In line with this notion, our present results reveal that effort-based decision making critically depends on the activity of ACC D1 receptors. However, cognitive processes regulated by ACC D1 receptors subserving response selection are difficult to assess. In the ACC, DA has been implicated to convey prediction error signals (Holroyd and Coles 2002) and to modulate the amplitude of reinforcement-related brain potentials generated in the ACC (Nieuwenhuis and others 2004). It is, therefore, conceivable that a blockade of ACC D1 receptors could produce abnormal reinforcement learning signals thereby compromising the sensitivity to benefits. However, such an effect should impair effort-related decisions both in the one- and two-barrier condition, which has not been observed. Furthermore, as DA dysfunction can cause impulsive choice (e.g., Cole and Robbins 1989; Wade and others 2000) one could argue that in the one-barrier condition an intra-ACC D1 receptor blockade increased the tendency to make impulsive choices. However, this explanation is not plausible. Though not explicitly measured here, the delay to obtain large reward due to surmounting the barrier is short (< 5s) and delay discounting was not impaired by excitotoxic ACC lesions (Cardinal and others 2001).

Notably, rats with an intra-ACC D1 receptor blockade were not insensitive to costs and benefits. Similar to rats with excitotoxic ACC lesions (Schweimer and Hauber 2005; Walton and others 2003; Walton and others 2002) or 6-OHDA lesions (Schweimer and others 2005), they seemed to operate according to a cost-benefit analysis in the two-barrier condition and preferred the high cost - high reward response option when having the choice to obtain a low reward with high costs. Therefore, the ability to evaluate and integrate the costs and benefits of response options appeared to be intact. One possible explanation for the differential HR arm preference in the two- versus one-barrier condition is a SCH23390-induced shift of a hypothetical decision criterion underlying the cost-benefit analysis. However, one has to take into account that the ACC serves conflict monitoring (Botvinick and others 2001) as well as coding of action outcomes (Rushworth and others 2004) and facilitates discrimination of

reward predictive stimuli (Cardinal and others 2002; Cardinal and others 2003), in particular if those are relatively similar (“disambiguation”). These functions could normally contribute to decision making as tested here but were compromised by an intra-ACC D1 receptor blockade. For instance, the relative values of response options should be less disparate and more difficult to discriminate in the one-barrier condition compared to the two-barrier condition. Accordingly, SCH23390-induced effects on decision making in the one-barrier condition could reflect an impaired discrimination of the relative values of the available response options. Alternatively, relative to the two-barrier condition, response selection in the one-barrier condition may be viewed as a situation in which conflict is more likely to arise in the form of competition among the available responses. The ACC has been proposed to monitor conflict as a function of task difficulty thereby influencing cost-benefit analysis underlying action selection (Botvinick and others 2004). Hence, the SCH23390-induced effects on decision making in the one-barrier condition could also reflect disturbed conflict monitoring during performance of a more complex condition of the task. Although the exact contribution to effort-related decisions remains elusive, it is reasonable to propose that D1 receptors of the ACC regulate response selection based on the relative values associated with different actions. Prefrontal DA neurotransmission not only plays a critical role in the form of decision making tested here, but also in working memory or behavioral flexibility (Robbins 2005). Notably, prefrontal D1 receptor activity is critically involved in mediating working memory (Sawaguchi and Goldman-Rakic 1991), while both D1 and D2 receptors act in a cooperative manner to facilitate behavioral flexibility (Floresco and others 2006, Ragozzino, 2002). Furthermore, prefrontal D1, D2 and D4 receptor contribute to a form of decision making that requires rats to direct instrumental responding to minimize conditioned punishment (Floresco and Magyar 2006), while our results suggest that effort-related decision making in a T-maze task requires prefrontal D1, not D2, receptor activity. Working memory, behavioural flexibility and different forms of decision making may involve distinct cognitive

functions as well as distinct neural circuits. Thus, mesocortical DA modulation of different types of cognitive and executive functions appears to be mediated by dissociable patterns of prefrontal DA receptor activity (see Floresco and Magyar 2006 for review).

Furthermore, the receptor mechanisms by which mesocortical and mesolimbic DA contribute to effort-based decision making could be distinct. Previous studies (Salamone and others 1994) indicate that DA depletion of the nucleus accumbens caused similar impairments of effort-based decision making in a T-maze task as seen here. Nowend and colleagues (Nowend and others 2001) further demonstrated that D1 and D2 receptors within the nucleus accumbens mediate the ability of rats to overcome work-related response costs in order to get food, while our results suggest that in the ACC DA activity only at D1, not at D2, receptors seem to be critical. However, a concurrent lever pressing/choice paradigm has been used by Nowend and colleagues (Nowend and others 2001) and its questionable whether effort-based decisions in this task that require a decision between lever pressing for preferred food or consumption of less preferred lab chow is mediated by the ACC (Schweimer and Hauber 2005). Thus, the specific accumbens DA receptor subtypes regulating the form of effort-based decision making examine here remain to be assessed.

Taken together, our present and previous findings (Schweimer and others 2005) indicate the mesocortical DA projection to the ACC is critical for effort-based decision making as tested here, in addition to the mesolimbic DA projection to the nucleus accumbens as previously shown (Salamone and others 1994). Recent studies elegantly demonstrate that response selection depending on a cost-benefit analysis requires serial transfer of information between basolateral amygdala and ACC (Floresco and Ghods-Sharifi 2006). In view of the connectivity of basolateral amygdala, ACC and nucleus accumbens (e.g., Cardinal and others 2002), it is tempting to speculate that the ACC integrates reward-related information from the BLA and, perhaps, other sources to select a particular response in view of the relative values of the available options and to mediate response execution through downstream projections to

the nucleus accumbens. This circuit regulating effort-based decision making is modulated by DA input to the ACC acting on D1 receptors and by DA input to the nucleus accumbens.

### **Acknowledgements**

The authors are grateful to P. Rommel for help with animal training, A. Murschall and S. Sommer for assistance with intracranial microinfusions. This research was supported by the Deutsche Forschungsgemeinschaft (Ha2340/5-1). Conflict of interest: None declared.

Address of the corresponding author: Dr. Wolfgang Hauber, Universität Stuttgart, Biologisches Institut, Abteilung Tierphysiologie, Pfaffenwaldring 57, D-70550 Stuttgart, Germany; E-Mail: hauber@bio.uni-stuttgart.de

### **References**

- Baldwin AE, Sadeghian K, Kelley AE. 2002. Appetitive instrumental learning requires coincident activation of NMDA and dopamine D1 receptors within the medial prefrontal cortex. *J Neurosci* 22(3):1063-71.
- Berger B, Gaspar P, Verney C. 1991. Dopaminergic innervation of the cerebral cortex: Unexpected differences between rodents and primates. *Trends Neurosci.* 14(1):21.
- Bischoff S, Heinrich M, Krauss J, Sills MA, Williams M, Vassout A. 1988. Interaction of the D1 receptor antagonist SCH 23390 with the central 5-HT system: radioligand binding studies, measurements of biochemical parameters and effects on L-5-HTP syndrome. *J Recept Res* 8(1-4):107-20.
- Botvinick MM, Braver TS, Barch DM, Carter CS, Cohen JD. 2001. Conflict monitoring and cognitive control. *Psychol Rev* 108(3):624-52.
- Botvinick MM, Cohen JD, Carter CS. 2004. Conflict monitoring and anterior cingulate cortex: an update. *Trends Cogn Sci* 8(12):539-46.
- Cardinal RN, Parkinson JA, Hall J, Everitt BJ. 2002. Emotion and motivation: the role of the amygdala, ventral striatum, and prefrontal cortex. *Neurosci Biobehav Rev* 26(3):321-52.

- Cardinal RN, Parkinson JA, Lachenal G, Halkerston KM, Rudarakanchana N, Hall J, Morrison CH, Howes SR, Robbins TW, Everitt BJ. 2002. Effects of selective excitotoxic lesions of the nucleus accumbens core, anterior cingulate cortex, and central nucleus of the amygdala on autoshaping performance in rats. *Behav Neurosci* 116(4):553-67.
- Cardinal RN, Parkinson JA, Marbini HD, Toner AJ, Bussey TJ, Robbins TW, Everitt BJ. 2003. Role of the anterior cingulate cortex in the control over behavior by Pavlovian conditioned stimuli in rats. *Behav Neurosci* 117(3):566-87.
- Cardinal RN, Pennicott DR, Sugathapala CL, Robbins TW, Everitt BJ. 2001. Impulsive choice induced in rats by lesions of the nucleus accumbens core. *Science* 292(5526):2499-501.
- Cole BJ, Robbins TW. 1989. Effects of 6-hydroxydopamine lesions of the nucleus accumbens septi on performance of a 5-choice serial reaction time task in rats: implications for theories of selective attention and arousal. *Behav Brain Res* 33(2):165-79.
- Denk F, Walton ME, Jennings KA, Sharp T, Rushworth MF, Bannerman DM. 2005. Differential involvement of serotonin and dopamine systems in cost-benefit decisions about delay or effort. *Psychopharmacology (Berl)* 179(3):587-96.
- Floresco SB, Ghods-Sharifi S. 2006. Amygdala-Prefrontal Cortical Circuitry Regulates Effort-Based Decision Making. *Cereb Cortex*.
- Floresco SB, Magyar O. 2006. Mesocortical dopamine modulation of executive functions: beyond working memory. *Psychopharmacology (Berl)*.
- Floresco SB, Magyar O, Ghods-Sharifi S, Vexelman C, Tse MT. 2006. Multiple dopamine receptor subtypes in the medial prefrontal cortex of the rat regulate set-shifting. *Neuropsychopharmacology* 31(2):297-309.

- Granon S, Passetti F, Thomas KL, Dalley JW, Everitt BJ, Robbins TW. 2000. Enhanced and impaired attentional performance after infusion of D1 dopaminergic receptor agents into rat prefrontal cortex. *J Neurosci* 20(3):1208-15.
- Holroyd CB, Coles MG. 2002. The neural basis of human error processing: reinforcement learning, dopamine, and the error-related negativity. *Psychol Rev* 109(4):679-709.
- Nieuwenhuis S, Holroyd CB, Mol N, Coles MG. 2004. Reinforcement-related brain potentials from medial frontal cortex: origins and functional significance. *Neurosci Biobehav Rev* 28(4):441-8.
- Nowend KL, Arizzi M, Carlson BB, Salamone JD. 2001. D1 or D2 antagonism in nucleus accumbens core or dorsomedial shell suppresses lever pressing for food but leads to compensatory increases in chow consumption. *Pharmacol Biochem Behav* 69(3-4):373-82.
- Paxinos G, Watson C. 1997. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. San Diego, New York: Academic Press.
- Ragozzino ME. 2002. The effects of dopamine D(1) receptor blockade in the prelimbic-infralimbic areas on behavioral flexibility. *Learn Mem* 9(1):18-28.
- Robbins TW. 2005. Chemistry of the mind: neurochemical modulation of prefrontal cortical function. *J Comp Neurol* 493(1):140-6.
- Rushworth MF, Walton ME, Kennerley SW, Bannerman DM. 2004. Action sets and decisions in the medial frontal cortex. *Trends Cogn Sci* 8(9):410-417.
- Salamone JD, Cousins MS, Bucher S. 1994. Anhedonia or anergia? Effects of haloperidol and nucleus accumbens dopamine depletion on instrumental response selection in a T-maze cost/benefit procedure. *Behav Brain Res* 65(2):221-9.
- Salamone JD, Cousins MS, Snyder BJ. 1997. Behavioral functions of nucleus accumbens dopamine: Empirical and conceptual problems with the anhedonia hypothesis. *Neurosci Biobehav Rev* 21(3):341-359.

- Sawaguchi T, Goldman-Rakic PS. 1991. D1 dopamine receptors in prefrontal cortex: involvement in working memory. *Science* 251(4996):947-50.
- Schweimer J, Hauber W. 2005. Involvement of the rat anterior cingulate cortex in control of instrumental responses guided by reward expectancy. *Learn Mem* 12(3):334-42.
- Schweimer J, Saft S, Hauber W. 2005. Involvement of catecholamine neurotransmission in the rat anterior cingulate in effort-related decision making. *Behav Neurosci* 119(6):1687-92.
- Seamans JK, Floresco SB, Phillips AG. 1998. D1 receptor modulation of hippocampal-prefrontal cortical circuits integrating spatial memory with executive functions in the rat. *J. Neurosci.* 18(4):1613-1621.
- Seamans JK, Yang CR. 2004. The principal features and mechanisms of dopamine modulation in the prefrontal cortex. *Prog Neurobiol* 74(1):1-58.
- Seeman P, Ulpian C. 1988. Dopamine D1 and D2 receptor selectivities of agonists and antagonists. *Adv Exp Med Biol* 235:55-63.
- Sun W, Rebec GV. 2005. The role of prefrontal cortex D1-like and D2-like receptors in cocaine-seeking behavior in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 177(3):315-23.
- Wade TR, de Wit H, Richards JB. 2000. Effects of dopaminergic drugs on delayed reward as a measure of impulsive behavior in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 150(1):90-101.
- Walton ME, Bannerman DM, Alterescu K, Rushworth MF. 2003. Functional specialization within medial frontal cortex of the anterior cingulate for evaluating effort-related decisions. *J Neurosci* 23(16):6475-9.
- Walton ME, Bannerman DM, Rushworth MF. 2002. The role of rat medial frontal cortex in effort-based decision making. *J Neurosci* 22(24):10996-1003.
- Walton ME, Croxson PL, Rushworth MF, Bannerman DM. 2005. The mesocortical dopamine projection to anterior cingulate cortex plays no role in guiding effort-related decisions. *Behav Neurosci* 119(1):323-8.

**Captions to figures**

**Fig. 1.** Cannulae placements in the ACC. The schematics depict the location of the injection cannulae tips (•) in the ACC for rats in experiment 1 (A) and 2 (B). Plates are adaptations from the atlas of Paxinos and Watson (1997). Numbers beside each plate correspond to millimetres anterior to bregma.

**Fig. 2.** Effects of an intra-ACC D1 receptor blockade on effort-based decision making in a T-maze cost-benefit task. Mean ( $\pm$  S.E.M.) percentage of high-rewarded arm choices (HR) per day is given. Testing block A was pre-operatively without treatment, block B and C post-operatively after pre-trial infusions of SCH 23390 (1  $\mu$ g in 0.5  $\mu$ l per side; n = 10; open triangles) or saline (0.5  $\mu$ l; n = 11; filled circles) into the ACC. Each block consisted of three consecutive test days; on blocks A and B, a 30 cm barrier was placed in the HR, on block C identical 30 cm barriers were placed into each goal arm, respectively.

**Fig. 3.** Effects of an intra-ACC D2 receptor blockade on effort-based decision making in a T-maze cost-benefit task. Mean ( $\pm$  S.E.M.) percentage of high-rewarded arm choices (HR) per day is given. Testing block A was pre-operatively without treatment, block B and C post-operatively after pre-trial infusions of eticlopride (1  $\mu$ g in 0.5  $\mu$ l per side; n = 10; open diamonds) or saline (0.5  $\mu$ l; n = 12; filled circles) into the ACC. Each block consisted of three consecutive test days; on blocks A and B, a 30 cm barrier was placed in the HR, on block C identical 30 cm barriers were placed into each goal arm, respectively.

Fig. 1

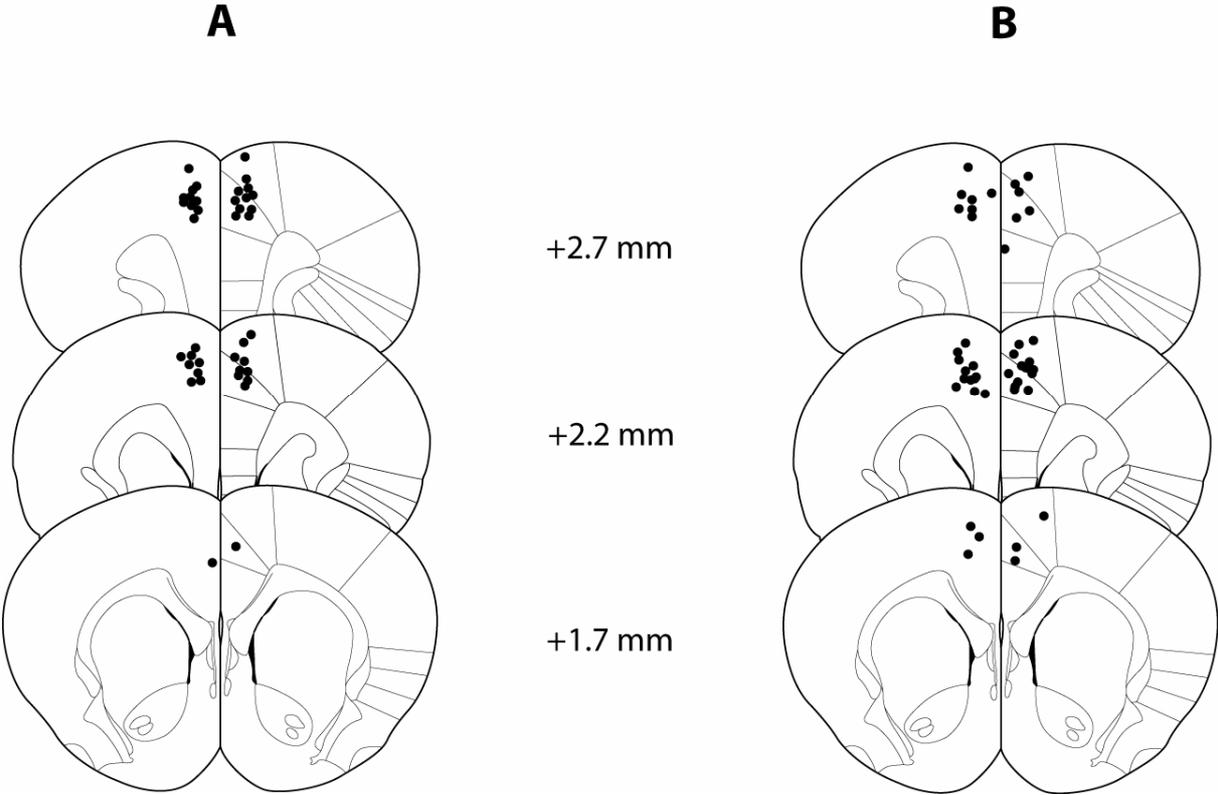


Fig. 2

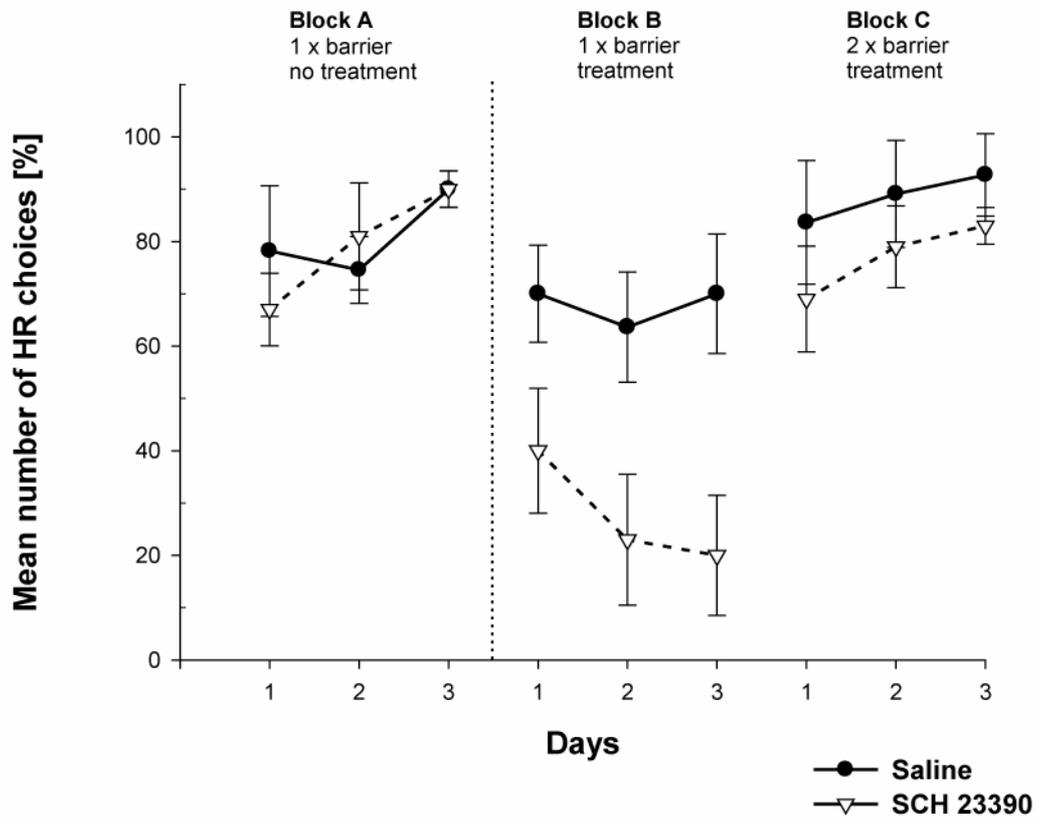
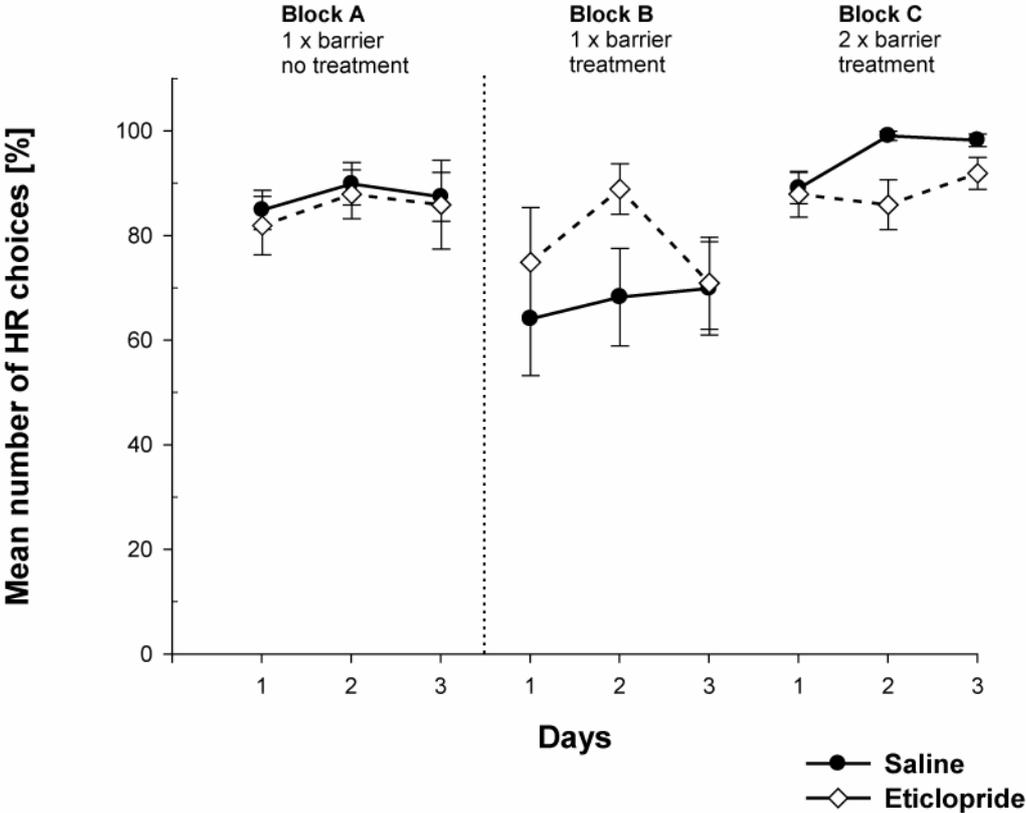


Fig. 3



## 7.4 Weitere Experimente

### 7.4.1 Futter-Präferenz in Experiment 2

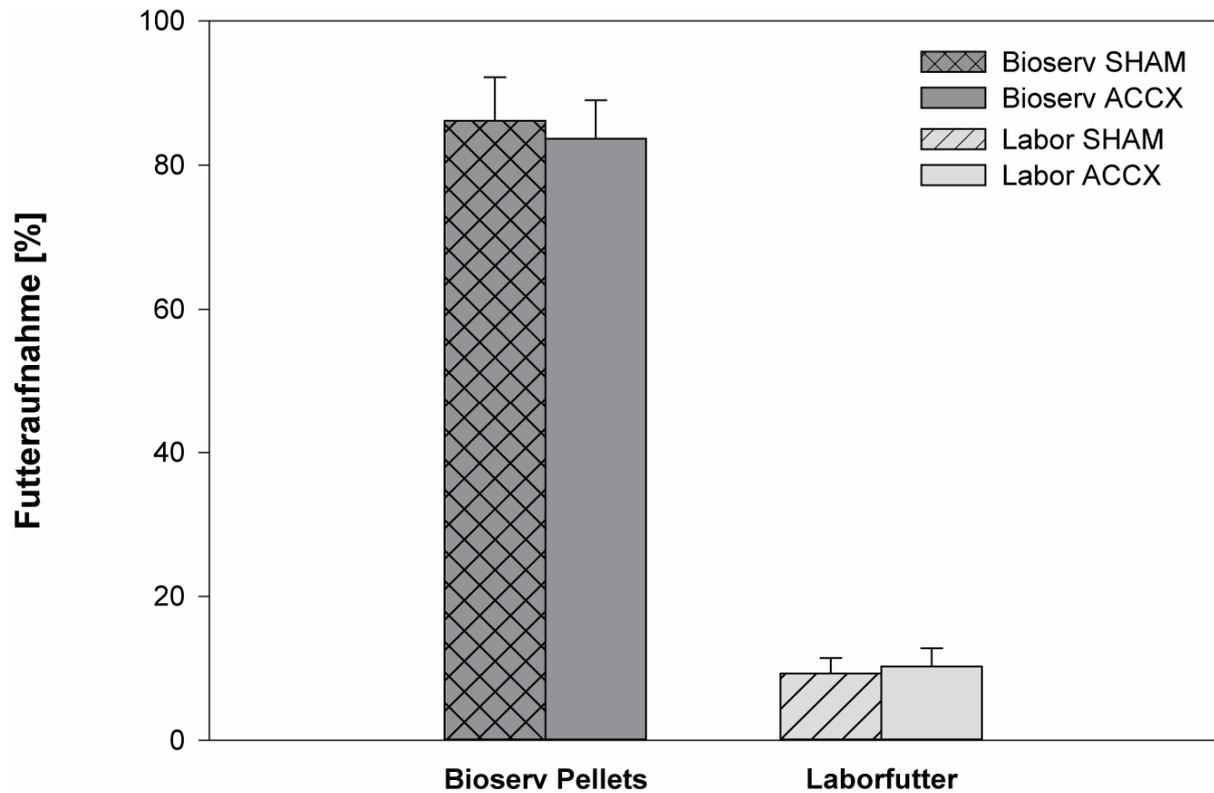
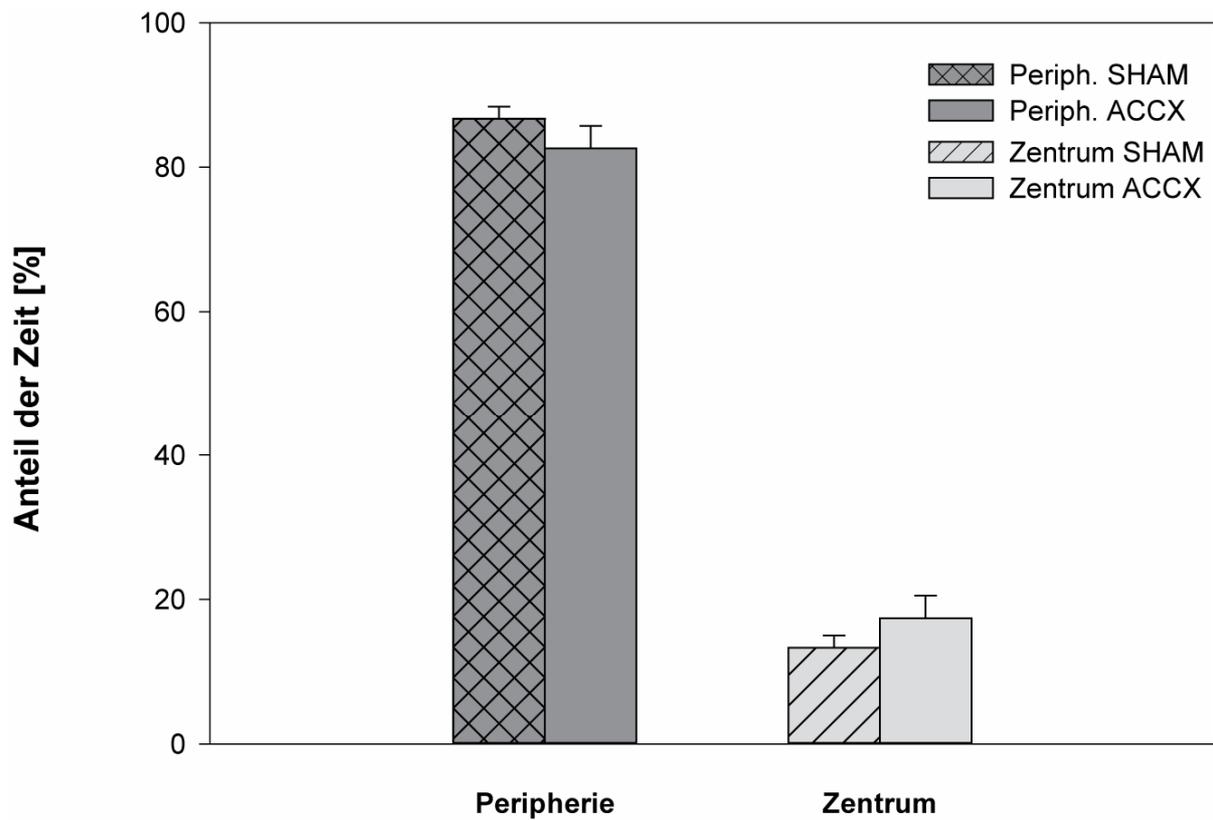


Abbildung 7.1 Vorexperiment zur Futterpräferenz in Experiment 2.

Hungrige Ratten wurden einzeln für 30 min in Skinnerboxen mit jeweils einem Schälchen Bioserv Pellets und einem Schälchen Laborfutter gesetzt. Abschließend wurde die jeweilige Menge der gegessenen Futterart bestimmt. Im Diagramm sind links die Säulen für die prozentuale Menge ( $\pm$  SEM) an gegessenen Bioserv Pellets angegeben und rechts die prozentuale Menge an Laborfutter.

SHAM - Scheinoperierte Tiere, ACCX - ACC-läsionierte Tiere.

### 7.4.2 Lokomotorisches Verhalten im Open-Field

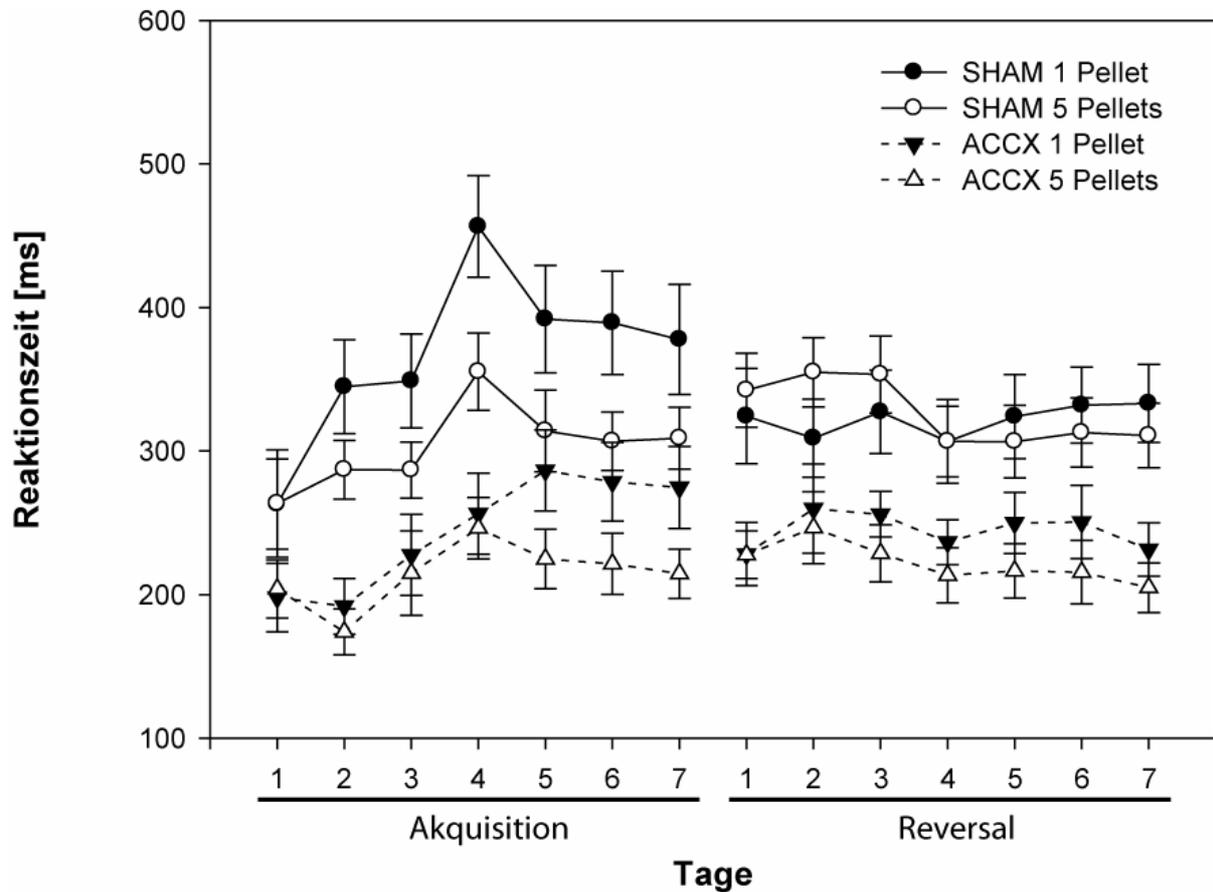


**Abbildung 7.2** Effekte von ACC-Läsionen auf das lokomotorische Verhalten im Open-Field.

Säulen links zeigen den prozentualen Anteil ( $\pm$  SEM) der Beobachtungsdauer, welchen die Tiere im peripheren Teil des *Open-Fields* verbrachten; die Säulen rechts zeigen den prozentualen Anteil der Beobachtungszeit, während der sich die Tiere im Zentrum des *Open-Fields* aufhielten. Die Beobachtungsdauer betrug 30 min. SHAM - scheinläsionierte Tiere, ACCX - ACC-läsionierte Tiere.

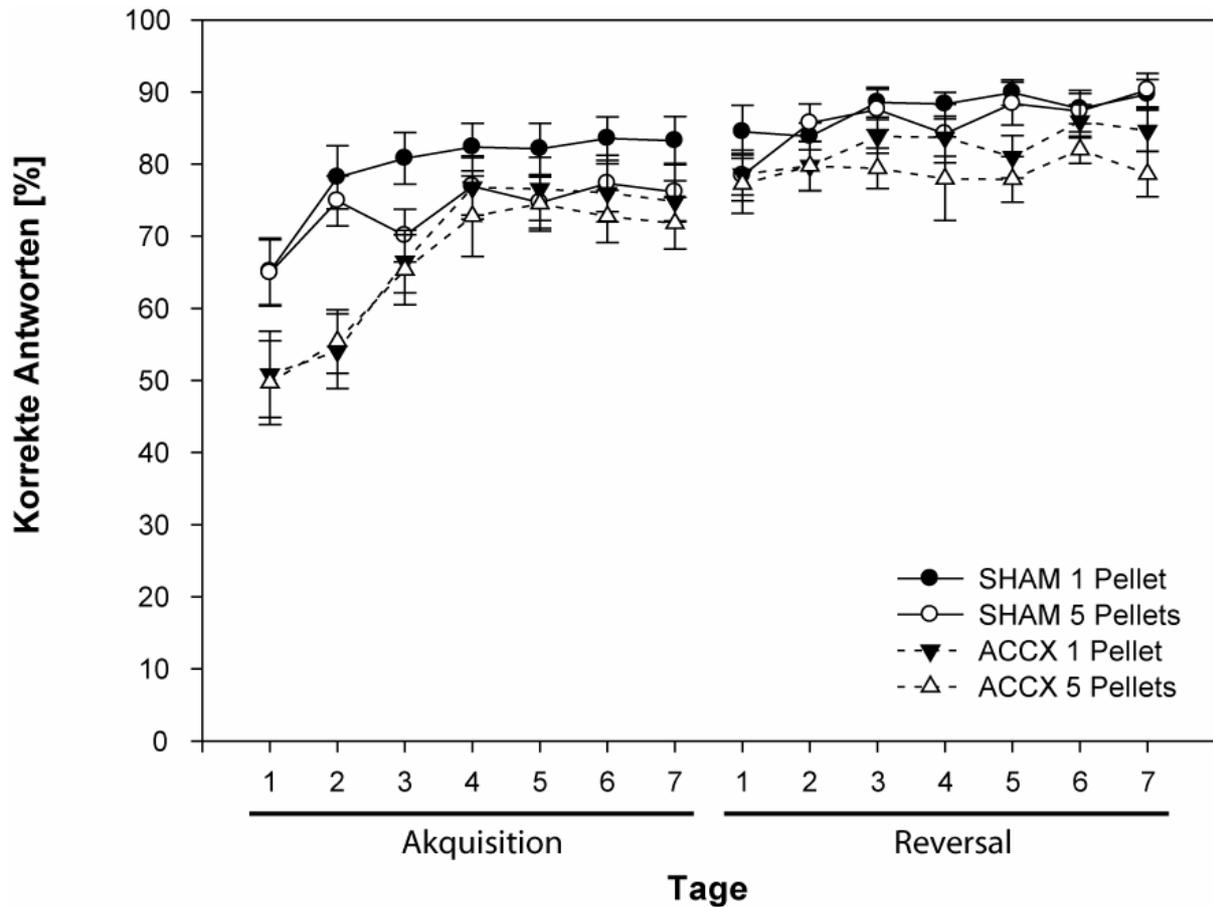
### 7.4.3 Pilotversuch - Reaktionszeitaufgabe

#### 7.4.3.1 Akquisition und Reversal



**Abbildung 7.3 Einfluss von Läsionen des ACC auf die Führung der Reaktionszeit durch die erwarteten Belohnungsstärken.**

Der Messzeitraum umfasste sieben Tage für die Akquisition und weitere sieben Tage für das Umlernen der Stimulus-Belohnungs-Beziehung (Reversal). ACC-läsionierte Tiere hatten deutlich kürzere Reaktionszeiten und lernten später die Stimuli zu diskriminieren. Der Effekt konnte in einer zweiten Studie (Experiment 1) nicht nachvollzogen werden. Vermutlich lag der Effekt an einer rostraleren Position der Läsion innerhalb des ACC in der Pilotstudie. Im Lernen der umgekehrten Stimulus-Belohnungs-Beziehungen (Reversal) konnte sowohl in der SHAM- als auch in der ACCX-Gruppe nur ein Trend für schnellere Reaktionszeiten für die höhere Belohnung beobachtet werden, aber kein signifikanter Unterschied. SHAM - Scheinoperierte Tiere, ACCX - Läsionen im ACC. Gefüllte Symbole - 5 Pellets, offene Symbole - 1 Pellet Belohnung.

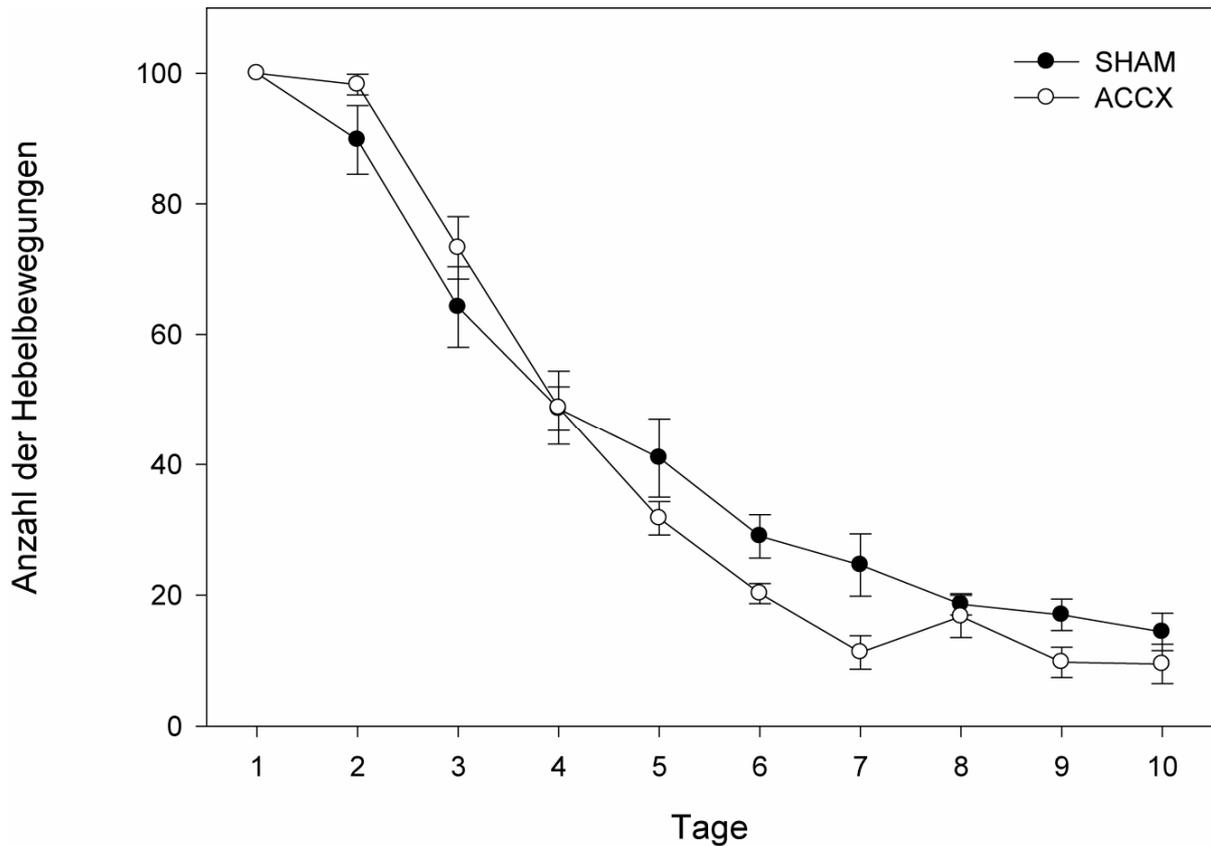


**Abbildung 7.4 Anzahl der korrekten Antwort in der Reaktionszeit-Aufgabe.**

Der Messzeitraum umfasste sieben Tage für die Akquisition und weitere sieben Tage für die Umkehr der Stimulus-Belohnungs-Beziehung (Reversal).

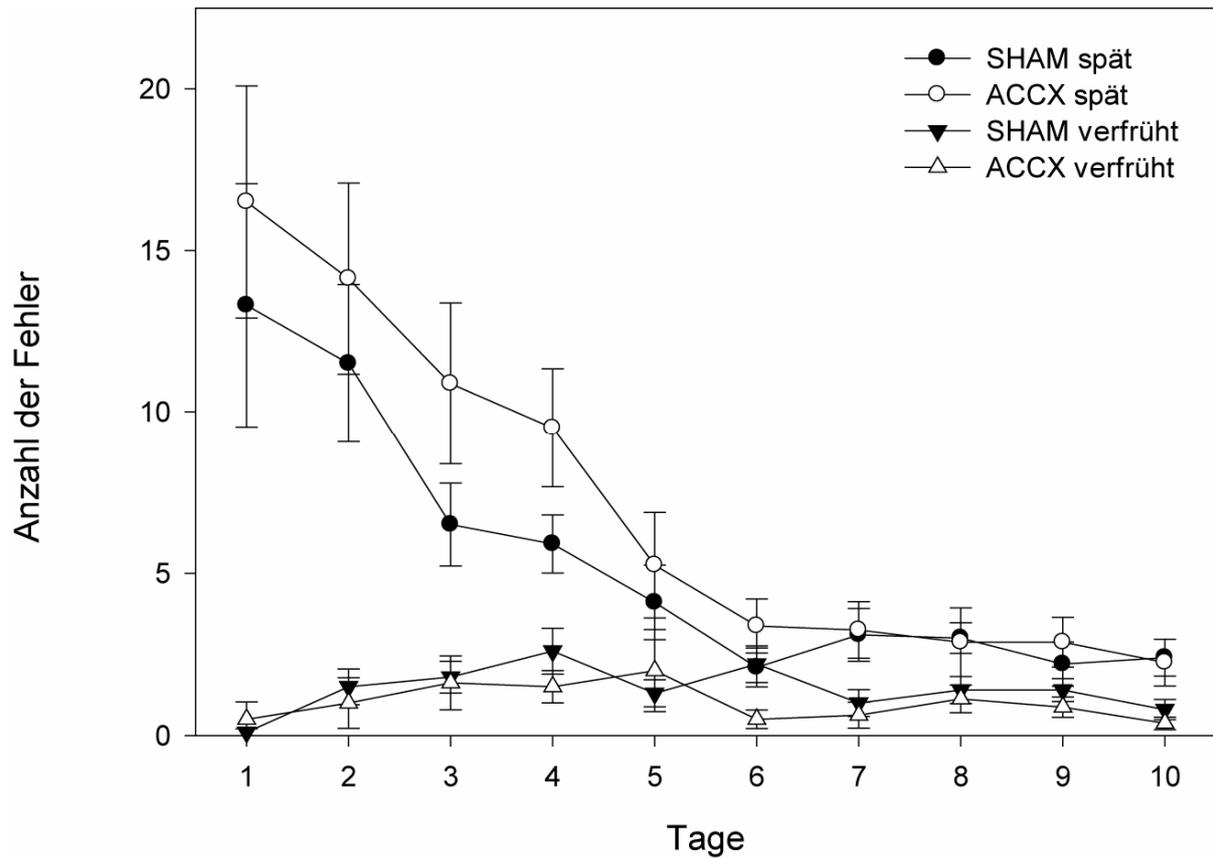
Anhand der erhöhten Fehler während der Akquisition, d.h. geringere Anzahl von korrekten Antworten, lässt sich erkennen, dass Tiere mit ACC-Läsionen deutlich später lernen, die Stimuli zu diskriminieren. Sowohl bei den SHAM- als auch bei den ACCX-Tieren werden bei der erwarteten hohen Belohnung mehr Fehler gemacht als bei der niedrigen Belohnung. Mittelwerte der korrekten Antworten in Prozent ( $\pm$  SEM) mit SHAM - Scheinoperierte Tiere, ACCX - ACC-Läsionierte Tiere. Gefüllte Symbole - 5 Pellets, offene Symbole - 1 Pellet Belohnung.

## 7.4.3.2 Extinktion



**Abbildung 7.5 Einfluss von ACC-Läsionen auf die Anzahl der Hebelbewegungen während der Extinktion.**

Die Anzahl der Hebelbewegungen pro Versuchseinheit ( $\pm$  SEM) nahm sowohl in der SHAM- als auch in der ACCX-Gruppe signifikant ab. Während der Extinktion zeigten beide instruktiven Stimuli keine Belohnung an. Die Tiere wurden nach maximal 30 min aus den Skinnerboxen entfernt.

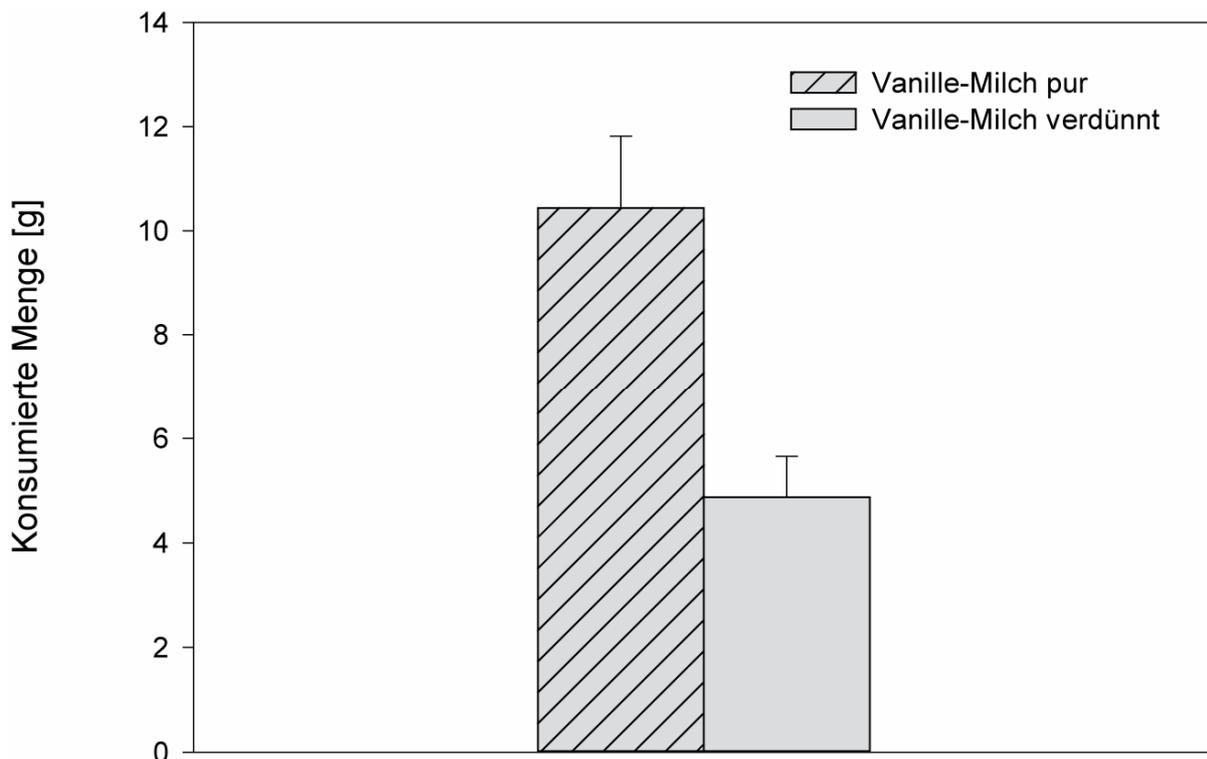


**Abbildung 7.6 Einfluss von ACC-Läsionen auf die Anzahl der verfrühten und späten "Fehler" während der Extinktion.**

Die Anzahl der Fehler pro Versuchseinheit während der Extinktion war deutlich erhöht im Vergleich zu den belohnten Versuchseinheiten. Dieses drückte sich vor allem in einer stark erhöhten Anzahl ( $\pm$  SEM) von späten Fehlern aus. Die Anzahl der Fehler nahm aber Verlauf der Testtage ab. Dieses Verhalten konnte sowohl in der SHAM- als auch in der ACCX-Gruppe beobachtet werden. Zwischen den beiden Gruppen gab es keinen signifikanten Unterschied. Während der Extinktion zeigten beide instruktiven Stimuli keine Belohnung an. Die Tiere wurden nach maximal 30 min aus den Skinnerboxen entfernt.

#### 7.4.4 Kosten-Nutzen-abhängige Entscheidungen in der Skinnerbox mit Flüssigkeitsbelohnung

In einem weiteren, nicht veröffentlichten Projekt dieser Arbeit wurde versucht, die Kosten-Nutzen-abhängigen Entscheidungsaufgabe im T-Labyrinth in einen Verhaltenstest in der Skinnerbox zu übertragen. Für diesen Verhaltensversuch erhielten die Ratten flüssige Belohnungen in Form von Vanille-Milch (Mibell, Milchdrink Vanille, Edeka, Hamburg) anstatt der *Bioserv Pellets*. Die Ratten hatten die Wahl, entweder den einen Hebel jeweils einmal für verdünnte Vanille-Milch (geringe Kosten - geringer Nutzen) oder den anderen Hebel mit ansteigender Anzahl von geforderten Hebelbewegungen während einer Versuchsitzung für hochkonzentrierte Vanille-Milch (hohe Kosten - hoher Nutzen) zu drücken.

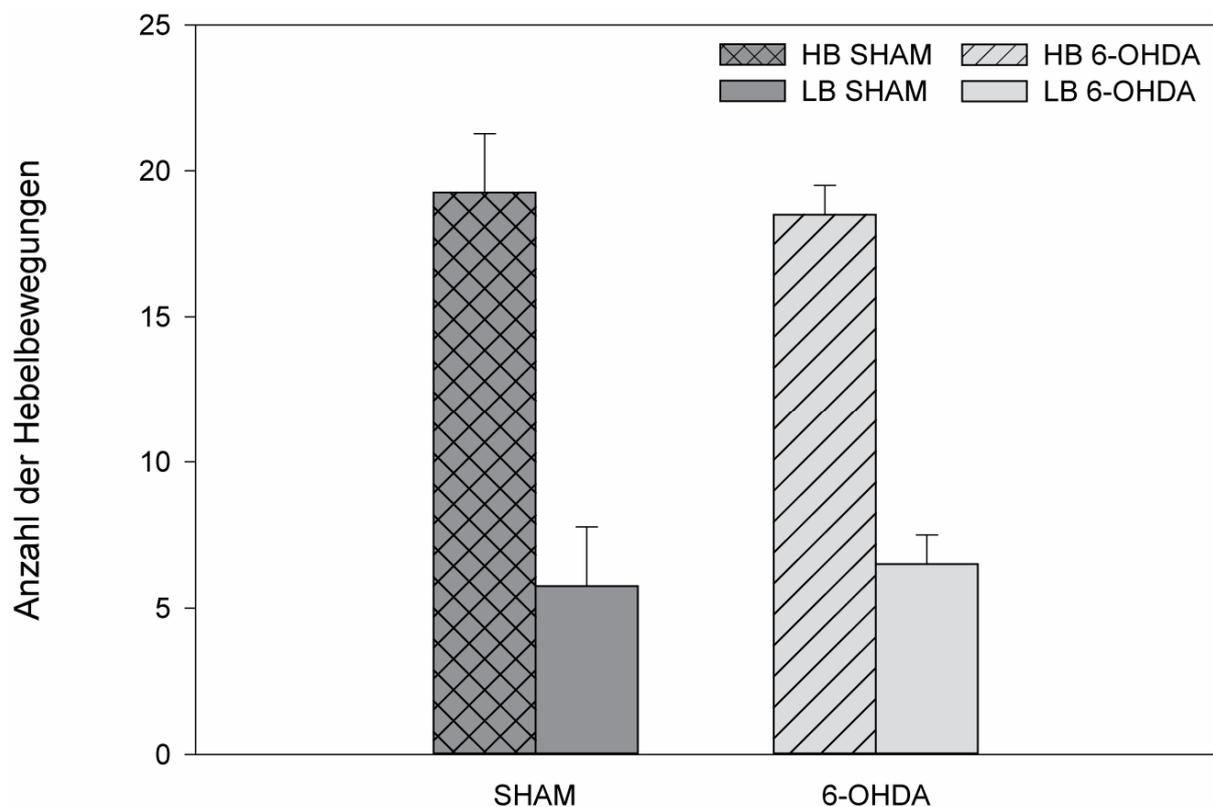


**Abbildung 7.7 Bottle-Choice-Test.**

Untersucht wurde die Präferenz für die dargebotenen Konzentrationen an Vanillemilch. Wasserdeprivierte Ratten wurden für 30 min in separate Käfige gesetzt, in denen ihnen jeweils eine Flasche mit purer Vanillemilch und eine Flasche mit verdünnter Vanillemilch (Verdünnung 1:1 mit Wasser) angeboten wurde. Gemessen wurde die konsumierte Menge der jeweiligen Konzentration an Vanillemilch ( $\pm$  SEM). Es zeigte sich eine signifikante Präferenz (t-Test,  $p < 0,01$ ) für die pure Vanillemilch. Der Test wurde mit naiven Tieren durchgeführt.

Zunächst wurde untersucht, welche Konzentration der Vanille-Milch (Mibell, Milchdrink Vanille, Edeka, Hamburg) die Ratten bevorzugten. Dafür wurde den Ratten vor dem Versuch für mindestens eine Stunde das Trinkwasser entzogen. Jede Ratte

wurde danach für 30 min in einen separaten Käfig mit zwei Trinkflaschen, eine mit Vanille-Milch in voller Konzentration und die andere Flasche mit verdünnter Vanille-Milch (1:1 mit Leitungswasser) gefüllt, gesetzt (*bottle-choice-Test*). Die Flaschen wurden vor und nach dem Verhaltenstest gewogen und daraus die jeweils getrunkene Menge aus den einzelnen Trinkflaschen ermittelt. Die Ratten konsumierten beide Konzentrationen Vanille-Milch (s. Abb. 7.7). Die Präferenz der Ratten war signifikant stärker für die pure Vanille-Milch (t-Test für gepaarte Stichproben,  $t_{(15)} = 3,52$ ;  $p < 0,01$ ).



**Abbildung 7.8 Freie Hebelwahl bei FR-1.**

Ratten hatten die Wahl zwischen zwei Hebeln, einer war hochbelohnt (HB), einer niedrig belohnt (LB). Die Belohnung wurde nach einmaliger Hebelbewegung verabreicht (FR-1). Es zeigte sich in beiden Gruppen eine signifikant stärkere Präferenz für den hochbelohnten Hebel (ANOVA,  $p < 0,01$ ).

In weiteren Schritten wurden die Ratten einzeln an die Skinnerbox und den Verhaltenstest habituiert. Zunächst wurde eine Ratte an zwei aufeinander folgenden Tagen für 30 min in eine Skinnerbox gesetzt, unverdünnte Vanillemilch wurde über zwei Flüssigkeitspumpen abwechselnd in einen der beiden separaten Näpfe in der Futteröffnung gepumpt (VMKOND<sup>6</sup>). In einem nächsten Schritt (Programm VM1<sup>8</sup>) sollte eine Assoziation der beiden Hebel mit der Belohnung (Vanille-Milch) gebildet wer-

<sup>6</sup> s. 9.1 für die Steuerungsprogramme

den (2 Sitzungen). Dafür wurden beide Hebel am ersten der beiden Tage mit Erdnuss-Butter versehen, damit die Ratte schneller ‚spontan‘ die Hebel drückte, um daraufhin eine Belohnung zu erhalten. Nach 30 min endete das Programm und die Ratte wurde aus der Skinnerbox entfernt.

Sobald die Ratte gelernt hatte, für die Vanille-Milch beide Hebel zu drücken, wurde jeder Ratte ein Hebel für die hohe Belohnung (HB) zugewiesen, für die Hälfte der Gruppe war der linke Hebel mit der HB assoziiert für die andere Hälfte der rechte. Über den zweiten Hebel war die niedrigere Belohnung (LB) in Form der verdünnten Vanille-Milch verfügbar. Diese Zuteilung galt für den restlichen Verlauf des Experimentes.

Danach wurden sie mit einem weiteren Konditionierungsprogramm (VM10ob<sup>8</sup>) getestet. Bei dieser Prozedur sollte jeder Hebel 50 Mal gedrückt werden. Die Hebel wurden jeweils einzeln in einer pseudorandomisierten Reihenfolge präsentiert, so dass jeder Hebel maximal zwei Mal hintereinander gedrückt werden konnte. Diese Prozedur wurde in fünf Sitzungen wiederholt, bis die Mehrheit der Tiere regelmäßig beide Hebel betätigte. Anschließend wurden die Ratten einer stereotaktischen Operation mit 6-OHDA-Injektionen in den ACC unterzogen.

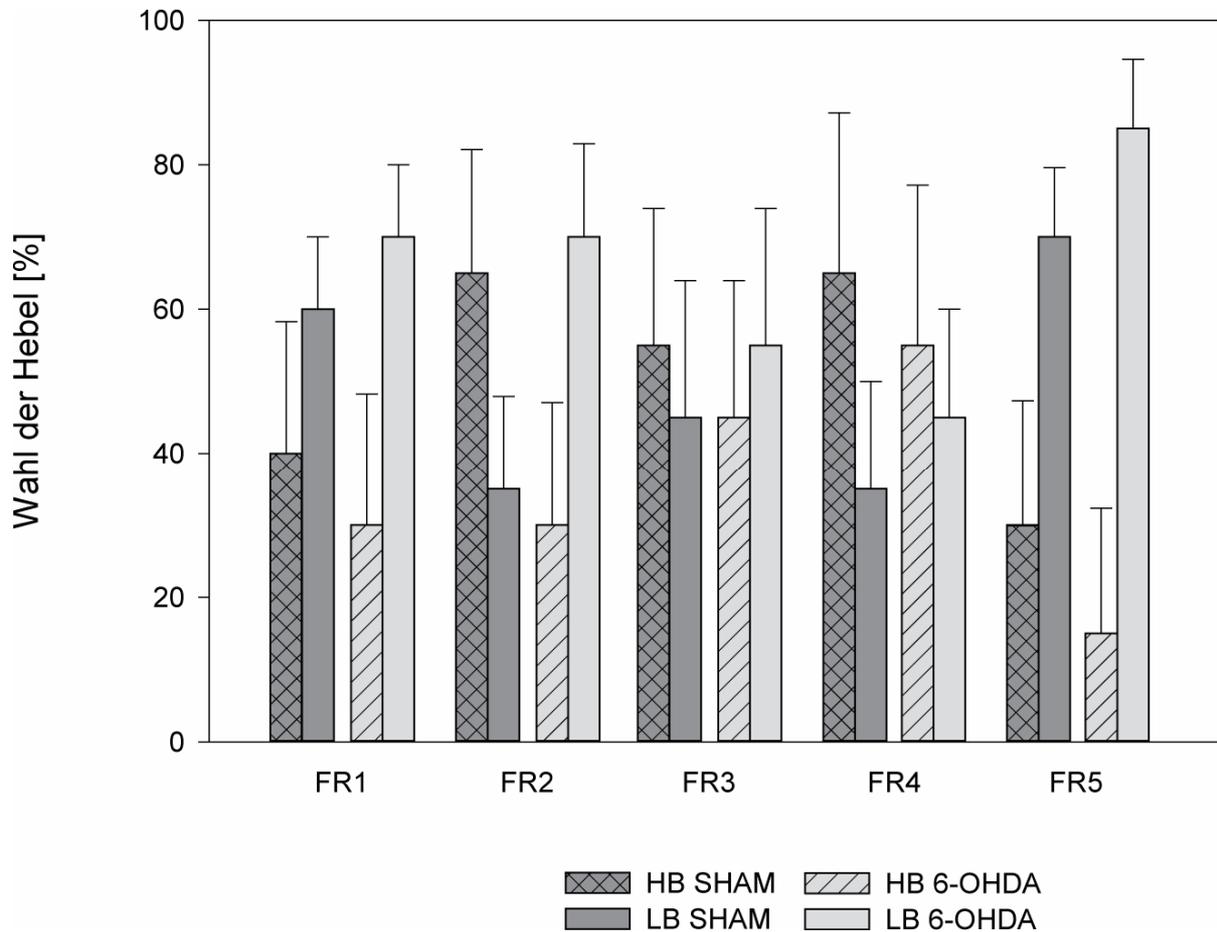
Postoperativ wurde zunächst getestet, welcher Hebel häufiger gedrückt wurde, wenn die Ratten den Hebel frei wählen konnten (s. Abb. 7.8). Dabei zeigte sich, dass die Behandlung keinen Einfluss auf die Wahl des Hebel hatte [ $F_{(1,6)} < 0$ ; nicht signifikant] und alle Tiere den Hebel mit der HB signifikant häufiger drückten als den niedrig belohnten Hebel [ $F_{(1,6)} = 4,26$ ;  $p < 0,001$ ]. Es war auch keine Interaktion zwischen Behandlung und Hebelwahl nachweisbar [ $F_{(1,6)} = 1,48$ ; n. s.].

Im abschließenden Verhaltenstest stiegen die Kosten für die HB innerhalb einer Sitzung schrittweise an: von FR1 bis FR5. Jede FR-Stufe musste fünfmal wiederholt werden. Es sollte gemessen werden, wann die Tiere sich von dem bevorzugten HB-Hebel abwendeten und sich dem NB-Hebel zuwendeten. Außerdem sollte geschaut werden, ob die mit 6-OHDA-behandelten Tiere früher als die scheinoperierten Tiere den NB-Hebel bevorzugen (s. Abb. 7.9).

Es gelang leider nicht eine stabile Leistung der Tiere zu etablieren, daher wurde Experiment vorzeitig erfolglos abgebrochen. Mögliche Gründe dafür könnten folgende sein:

1. Das Experiment wurde vorher nicht mit unbehandelten Tieren auf seinen Erfolg getestet wurde.
2. Anzahl der Wiederholungen pro FR-Stufe zu gering.

3. Bei der Entwicklung des Verhaltensversuchs traten einige unerwartete technische Probleme auf, die behoben werden mussten, was wahrscheinlich auch negative Einflüsse auf das Verhalten der Tiere hatte.
4. Das Habituationsprotokoll war nicht optimiert, denn es dauerte lange (ca.10 Tage), bis die Tiere beide Hebel mit der Vanille-Milch assoziierten.



**Abbildung 7.9 Wahlaufgabe.**

Die Tiere hatten die Wahl entweder den einen Hebel einmal für verdünnte Vanillemilch (LB) oder den anderen Hebel für hochkonzentrierte Vanillemilch (HB) mit ansteigenden Kosten (steigende Anzahl der Hebelbewegungen pro Belohnung) zu drücken. Dargestellt sind die Ergebnisse eines Testtages mit jeweils 4 Tieren pro Gruppe.

Das Fazit aus diesem Versuch war, dass die Grundidee bestimmt sehr interessant ist, da eine mögliche Behandlung von Tieren mit Mikroinfusionen in einer Skinnerbox-Aufgabe deutlich einfacher ist als in einer Labyrinth-Aufgabe. Allerdings braucht es viel Zeit, um einen neuen Verhaltenstest zu etablieren, welche im Rahmen dieser Arbeit gefehlt hat.

## 8 Zusammenfassende Diskussion

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war, die Rolle des Anterioren Cingulären Cortex (ACC) und dessen dopaminergem Innervation bei der Steuerung von Entscheidungsverhalten und instrumentellen Lernvorgängen zu untersuchen. Dazu wurden mehrere Verhaltensexperimente an Ratten mit unterschiedlichen Aufgabenstellungen in Skinnerboxen und in einem T-Labyrinth durchgeführt. Nachfolgend möchte ich zunächst die eingesetzten Testaufgaben und die Eingriffe in den ACC bewerten und danach die erzielten Ergebnisse diskutieren.

### 8.1 Bewertung der Aufgaben

#### 8.1.1 Reaktionszeitaufgabe

In dieser Aufgabenstellung wurde der Einfluss des ACC auf das Erlernen (Akquisition) und das Umlernen (Reversal) von instrumentellen Verhaltensweisen untersucht, welche durch Stimulus-Belohnungs-Beziehungen gesteuert werden. Dazu wurde eine Reaktionszeitaufgabe verwendet, die in Anlehnung an Arbeiten von Brown und Bowman (1995) und von Hauber (2000; 2001) entwickelt wurde. In dieser Aufgabe wurde einem Tier zuerst durch zwei verschiedene instruktive Stimuli gezeigt, wie hoch die zu erwartende Belohnung nach einer instrumentellen Handlung war. Danach musste das Tier einen Hebel drücken und diesen nach Darbietung eines imperativen Stimulus wieder loslassen, damit es eine Futterbelohnung erhielt. Die Zeit zwischen Darbietung des imperativen Stimulus und dem Loslassen des Hebels wurde als Reaktionszeit gemessen. Die Reaktionszeit galt bei unbehandelten, trainierten Tieren als ein Maß für die erwartete Belohnungsstärke. Sie war für die erwartete hohe Belohnung kürzer als für eine niedrige. Die mittlere Differenz zwischen den Reaktionszeiten für die erwarteten hohen und die niedrigen Belohnungen wurde während der Akquisition mit etwa 55 ms gemessen, ein Wert der mit den vorangegangenen Experimenten vergleichbar war (Brown und Bowman, 1995; Giertler *et al.*, 2003; Hauber *et al.*, 2000; Hauber *et al.*, 2001). Es wurden zusätzlich weitere Parameter gemessen, wie die Fehlerhäufigkeit in der Aufgabendurchführung und die Bewegungszeit, das heißt die Zeit vom Loslassen des Hebels bis zum Abholen der Belohnung. Am Ende der Akquisitionsphase war die Anzahl der korrekten Antworten der Tiere bei über 80 %. Dieser Wert entspricht vorherigen Ergebnissen unserer Arbeitsgruppe (Bohn *et al.*, 2003b; Giertler *et al.*, 2003). Wegen der optimierten

Gewöhnungsphase (Habituation) waren die Werte deutlich höher als bei Brown und Bowman (1995).

Weiterhin konnte bestätigt werden, dass die Tiere fähig waren umzulernen, d.h. veränderte Stimulus-Belohnungs-Beziehungen zu erfassen. Nach etwa neun bis zehn Tagen hatten die Tiere die veränderten Zuordnungsregeln von Stimulus und Belohnungsstärke gelernt und reagierten in Erwartung einer hohen Belohnung signifikant schneller als in Erwartung einer niedrigen.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Akquisitionsphase dieser Aufgabenstellung sich sehr gut dafür eignet, um Diskriminierungsleistungen zu untersuchen, d.h. ob Tiere dazu fähig waren, mit verschiedenen Stimuli assoziierte Belohnungen zu unterscheiden. In der Umlernphase wurde untersucht, ob Tiere in ihrem Lernverhalten flexibel waren und sich veränderten Stimulus-Belohnungsbeziehungen anpassen konnten. Beides ließ sich mit der hier eingesetzten Aufgabe anhand zahlreicher Parameter exakt verfolgen.

### 8.1.2 Kosten-Nutzen-abhängige Entscheidungen in der Skinnerbox

Zunächst wurde in einem Vorexperiment gezeigt, dass die hier eingesetzten Tiere von zwei verschiedenen Futterarten (*Bioserv* Pellets oder gewöhnliches Laborfutter) *Bioserv* Pellets bevorzugen<sup>7</sup>. Anschließend wurden die Tiere in einer *Progressiv-Ratio*-Aufgabe trainiert, bei der eine konstante Futterbelohnung (je ein Pellet) mit progressiv ansteigenden Kosten, d.h. zunehmend häufigeren Hebelbewegungen, verbunden war. Bei dieser Art von Aufgabenstellung gilt das Antwortverhalten eines Tieres als Maß für die Bereitschaft für eine bestimmte Futterbelohnung zu arbeiten (Baunez *et al.*, 2002; Bowman und Brown, 1998; Hodos, 1961). Die maximal aufgewendete Anzahl von Hebelbewegungen für ein Futterstück wird als '*breaking point*' bezeichnet. In unserem Experiment erreichten die Tiere einen '*breaking point*' von etwa 60 Hebelbewegungen. Diese '*breaking points*' waren vergleichbar mit Werten von zwei weiteren Studien, in denen ein ähnliches Testprotokoll verwendet wurde (Baunez *et al.*, 2002; Eagle *et al.*, 1999).

Nachdem die Tiere eine stabile Leistung in der *Progressive-Ratio*-Aufgabe erreicht hatten, wurden sie in einer weiteren Teilaufgabe, einer Kosten-Nutzen-abhängigen Wahlaufgabe, getestet. Dieser Verhaltenstest war eine Abwandlung einer Aufgabe von Salamone und Kollegen (1991), in der die Tiere die Wahl hatten, entweder für

---

<sup>7</sup> Ergebnisse siehe Kapitel 7.4.1

bevorzugtes Futter (*Bioserv* Pellets) einen Hebel zu drücken (höhere Kosten/höherer Nutzen) oder Laborfutter (geringer Nutzen) zu konsumieren, welches in einem Schälchen in der Testkammer frei zur Verfügung stand (geringe Kosten). Salamone und Kollegen (1991) konnten zeigen, dass das Verhalten der Tiere in dieser Art von Aufgabe auf Kosten-Nutzen-abhängigen Prinzipien beruht. Je höher die Anzahl der benötigten Hebelbewegungen für das bevorzugte Futter war, desto mehr bevorzugten die Tiere das reguläre Laborfutter. Salamone und Kollegen verwendeten dafür verschiedene Tiergruppen, die pro Futterstück unterschiedlich hohe, fixe Kosten (1 oder 5 Hebelbewegungen/Futterstück) aufwenden mussten.

Das Besondere an dem in der vorliegenden Arbeit verwendeten Verhaltenstest war, dass die Kosten für das bevorzugte Pellet in einer Sitzung zunehmend größer wurden (zunehmend mehr Hebelbewegungen für ein bevorzugtes Pellet). Anstatt der verschieden hohen fixen Kosten wurde hier das *Progressiv-Ratio*-Schema, auf das die Tiere vorher trainiert wurden, angewendet. Mit Hilfe dieser Aufgabe sollte untersucht werden, wie lange Tiere die Option 'zunehmend höhere Kosten/hoher Nutzen' wählten, bevor sie zu der Option 'geringe Kosten/geringer Nutzen' (gewöhnliches Laborfutter ohne Kosten erhalten) wechselten.

Dabei wurde der '*breaking point*' bestimmt, d.h. bei welcher Hebeldruckrate pro Pellet die Tiere abbrachen, den Hebel zu drücken, und begannen Laborfutter zu fressen. Weiterhin wurde die Menge an konsumiertem Laborfutter bestimmt. Unsere Ergebnisse der Kontrolltiere standen im Einklang mit den Daten von Salamone und Kollegen (1991) und zeigten, dass in einer Wahlsituation der '*breaking point*' niedriger lag, d.h. Tiere nahmen sehr viel weniger Kosten für bevorzugtes Futter in Kauf, wenn ihnen gleichzeitig weniger bevorzugtes Futter 'kostenlos' zur Verfügung stand.

Der Vorteil unserer Aufgabe war, dass es keine festgesetzte, gleich bleibende Anzahl von Hebelbewegungen (Kosten) für ein Pellet gab, sondern dass die Kosten progressiv anstiegen. Ein weiterer Vorteil gegenüber Salamone's Aufgabe war, dass in dieser Arbeit nicht verschiedenen Tiergruppen für die unterschiedlich hohen Kosten benötigt wurden, sondern die Kosten für alle Tiere innerhalb einer Sitzung anstiegen.

### 8.1.3 Kosten-Nutzen-abhängige Entscheidungen im T-Labyrinth

In dieser Aufgabenstellung wurde in Abwandlung zu der vorangegangenen Aufgabe untersucht, ob ein Tier in einem T-Labyrinth bereit war, für eine größere Belohnung höhere Kosten in Kauf zu nehmen als für eine kleine Belohnung der *gleichen* Futterart, welche praktisch 'kostenlos' zur Verfügung steht. Ein trainiertes Tier hatte die

Wahl, entweder für vier Pellets (hoher Nutzen) in dem einen Zielarm über eine 30 cm hohe Barriere (hohe Kosten) zu klettern oder in dem anderen Zielarm zwei Pellets (niedriger Nutzen) ohne Barriere (niedrige Kosten) zu bekommen (Ein-Barriere-Situation). Dieses Versuchsdesign wurde wie die oben beschriebene Aufgabe schon mehrfach zur Untersuchung von Aufwands-abhängigem Entscheidungsverhalten verwendet (Denk *et al.*, 2005; Floresco und Ghods-Sharifi, 2006; Salamone *et al.*, 1994; Walton *et al.*, 2003; Walton *et al.*, 2002; Walton *et al.*, 2005). Walton und Kollegen (2002; 2005) konnten auf elegante Weise zeigen, dass das Verhalten der Tiere in dieser Aufgabe auf dem Kosten-Nutzen-Prinzip beruhte. Dafür wurde während der jeweiligen Experimente die Höhe der Barrieren oder das Verhältnis zwischen den Belohnungsgrößen an verschiedenen Testtagen variiert. War die Barriere vor dem hoch belohnten Arm deutlich höher als an vorangegangenen Testtagen, neigten die Tiere dazu, eher die niedrige Belohnung mit geringen Kosten zu wählen. Wurde das Verhältnis des Nutzens zwischen den Futterbelohnungen vergrößert, wählten mehr Tiere den hochbelohnten Arm. Wurde das Verhältnis der Futterbelohnungen in beiden Zielarmen angeglichen, gab es keine Präferenz für einen bestimmten Arm. Bei einer Angleichung der Kosten, entweder durch das Aufstellen einer identischen zweiten Barriere im niedrig belohnten Arm (Zwei-Barrieren-Situation) oder durch Entfernen der Barriere im hochbelohnten Arm, wurde fast immer die hohe Belohnung bevorzugt (Cousins *et al.*, 1996; Denk *et al.*, 2005; Floresco und Ghods-Sharifi, 2006; Salamone *et al.*, 1994; Walton *et al.*, 2003; Walton *et al.*, 2002; Walton *et al.*, 2005).

Ein deutlicher Vorteil der T-Labyrinth-Aufgabe gegenüber der Aufgabe in der Skinnerbox war, dass die Belohnung auf beiden Seiten aus der gleichen Futterart bestand und sich nur in der Belohnungshöhe unterschied. Ein Nachteil dieser Aufgabe war, dass durch die große Anzahl der Versuchsdurchgänge pro Tag und die langen Intervalle zwischen den Versuchsdurchgängen eine relativ lange Versuchsdauer pro Tag angesetzt werden musste. Daher war der Versuchsansatz eher für die Untersuchung der Wirkung permanenter Läsionen geeignet. Allerdings konnte durch eine zeitliche Optimierung der Testprozedur die Versuchsdauer pro Gruppe so stark reduziert werden, dass dieser Versuch auch für die Untersuchung von kurzzeitigen Wirkungen lokal in den ACC verabreichter Substanzen geeignet war.

## **8.2 Beurteilung der Eingriffe in den ACC**

Viele der bisherigen Erkenntnisse zur Funktion des ACC bei kognitiven Prozessen wurden entweder durch bildgebende Verfahren bei Menschen (Amiez *et al.*, 2005; Botvinick *et al.*, 1999; Botvinick *et al.*, 2004; Bush *et al.*, 1999; Crosson *et al.*, 1999; Ernst *et al.*, 2004; Holroyd *et al.*, 2004; Kirsch *et al.*, 2003; Rushworth *et al.*, 2004; van Veen und Carter, 2002; van Veen *et al.*, 2001; van Veen *et al.*, 2004; Walton *et al.*, 2004) oder Läsionsstudien bei Tieren (Bussey *et al.*, 1997a; Bussey *et al.*, 1996, 1997b; Cardinal *et al.*, 2002b; Cardinal *et al.*, 2003; Delatour und Gisquet-Verrier, 2001; Gabriel, 1990; Gabriel *et al.*, 1991; Hadland *et al.*, 2003; Parkinson *et al.*, 2000; Ragozzino *et al.*, 1998; Ragozzino *et al.*, 1999; Rushworth *et al.*, 2003; Walton *et al.*, 2003; Walton *et al.*, 2002; Walton *et al.*, 2005) gewonnen. Weiterhin gibt es auch einige elektrophysiologische Untersuchungen (Shidara und Richmond, 2002; Shima und Tanji, 1998; Takenouchi *et al.*, 1999) bei denen die neuronale Aktivität im ACC bei Primaten während instrumenteller Lernvorgänge gemessen wurde. Diese Arbeiten legen eine Beteiligung des ACC bei der Steuerung von belohnungsabhängigen Lernvorgängen nahe. Die Ergebnisse aus den elektrophysiologischen Studien an Primaten und den Studien mit bildgebenden Verfahren bei Menschen sind jedoch korrelativ. Es lässt sich nicht genau daraus schließen, ob die Struktur wirklich kausal für die Steuerung des beobachteten Verhaltens ist. Untersuchungen nach Läsionen im ACC können dagegen die kausale Beteiligung des ACC an bestimmten Verhaltenstests aufzeigen. Man kann auch die synaptische Übertragung von bestimmten Botenstoffen des ACC, wie zum Beispiel durch Dopamin mit Hilfe spezieller Läsionen unterbrechen und untersuchen, ob diese essentiell für ein bestimmtes Verhalten (s. 7.2) ist. Allerdings kann man durch Läsionen von dopaminergen Fasern immer noch nicht genau sagen, welche Dopamin-Rezeptoren für das betreffende Verhalten wichtig sind. Dafür wurden in Experiment 5 dieser Arbeit direkt vor dem Verhaltenstest verschiedene Dopamin-Rezeptor-Antagonisten in den ACC von Ratten appliziert und anschließend das Entscheidungsverhalten der Tiere untersucht (s. 7.3).

### **8.2.1 Excitotoxische Läsionen des ACC**

Die excitotoxischen Läsionen mit dem Neurotoxin Chinolinsäure haben einen entscheidenden Vorteil gegenüber Läsionen durch Elektrokoagulation oder lokaler anästhetischer Inaktivierung des gewünschten Gehirngbietes. Denn durch excitotoxische Läsionen werden selektiv die Zellkörper der Neurone zerstört oder inaktiviert und nicht Fasern (Axone) und Fasertrakte, welche das entsprechende Gehirn-

gebiet durchkreuzen. Dies ist wichtig, weil Schäden an dem unterhalb des ACC liegenden cingulären Faserbündel zu signifikanten Verhaltensänderungen führen können und deshalb vermieden werden sollten (Meunier *et al.*, 1991; Warburton *et al.*, 1998). Die Chinolinsäure bewirkt, ähnlich wie andere NMDA-Agonisten, eine Übererregung der NMDA-Rezeptoren an den Neuronen. Dies führt zu einem abnormen Einstrom von  $\text{Ca}^{2+}$  in die Zelle, der dann zum Zelltod durch Apoptose oder excitotoxischer Nekrose führt (Übersicht in Choi, 1988). Das Ausmaß der Läsionen wurde anhand von Nissl-gefärbten Schnittpräparaten bestimmt. Die Läsionen des ACC in den Experimenten 1-3 waren im Allgemeinen sehr groß und umfassten peri- und supragenuale Teile des ACC in beiden Großhirnhemisphären. Das Ausmaß und der Läsionsort waren vergleichbar mit Chinolinsäure-Läsionen des ACC von anderen Arbeitsgruppen (Cardinal *et al.*, 2002b; Cardinal *et al.*, 2003; Walton *et al.*, 2003). Durch die hohe Anzahl der Injektionen (sechs pro Hemisphäre) konnten mechanische Schädigungen im Zielgebiet nicht ausgeschlossen werden. Mechanische Verletzungen durch die Injektionen hatten aber bei den scheinoperierten Tieren zu keinem erkennbaren Verhaltensdefizit geführt. Außerdem zeigt eine frühere Studie, dass sich scheinoperierte Tiere und nicht operierte Tiere nach vier Injektionen pro Hemisphäre in den orbitofrontalen Teil des Großhirns in ihrem Verhalten nicht unterschieden (Bohn *et al.*, 2003a). Daher ist zu vermuten, die hier verwendete Scheinläsions-Prozedur nicht zu verhaltenswirksamen, mechanischen Schädigungen des ACC führte.

Excitotoxische Läsionen sind demnach ein sehr gutes Mittel, um eine gezielte und permanente Inaktivierung des ACC hervorzurufen, ohne dabei angrenzende Faserverläufe in Mitleidenschaft zu ziehen.

### **8.2.2 Läsionen catecholaminerger Afferenzen im ACC**

In Experiment 4 wurden die catecholaminergen Afferenzen im ACC durch das Neurotoxin 6-Hydroxydopamin (6-OHDA) läsiert. Bei dieser Methode werden hauptsächlich die catecholaminergen Afferenzen im Injektionsgebiet zerstört, ohne Zellkörper anderer Zellen im ACC in Mitleidenschaft zu ziehen. Im ACC gibt es eine relativ dichte Innervation durch dopaminerge Fasern (Berger *et al.*, 1991), aber auch eine weniger dichte Innervation durch noradrenerge Fasern (Morrison *et al.*, 1979). 6-OHDA ist ein unselektives catecholaminerges Neurotoxin und zerstört sowohl Dopamin- als auch Noradrenalin-haltige Zellen und Afferenzen (Jonsson und Sachs, 1975). Um die noradrenergen Afferenzen während der Mikroinfusion von 6-OHDA zu

schützen, wurden die Tiere in Experiment 4 mit dem Noradrenalin-Wiederaufnahme-Hemmer Desipramin vorbehandelt. Trotz dieser Vorbehandlung kann es jedoch zu einem gewissen Verlust an noradrenergen Fasern in Injektionsgebiet kommen (Bubser, 1994; Ravard *et al.*, 1989). Der Verlust der noradrenergen Fasern wurde in der vorliegenden Arbeit nicht quantifiziert.

Für die Auswertung des Ausmaßes der Läsion wurde eine immunhistochemische Methode mit einem Antikörper gegen die Tyrosinhydroxylase gewählt. Die durch den Antikörper markierte Tyrosinhydroxylase ist ein Synthese-Enzym, welches sowohl in Dopamin- als auch Noradrenalin-Neuronen vorkommt. Daher kann mit Hilfe dieser Methode nur eine Aussage darüber gemacht werden, dass catecholaminerge Afferenzen im ACC zerstört wurden, aber nicht, ob diese dopaminergen oder noradrenergen Ursprungs waren. Mit dieser Auswertungsmethode kann man jedoch sehr gut die Ausdehnung und die genaue Lokalisation der Läsion im Zielgebiet umschreiben.

Um genauere Aussagen treffen zu können, müsste man weitere Untersuchungen mit spezifischen Rezeptor-Liganden für Dopamin oder Noradrenalin durchführen oder neurochemische Untersuchungen an Gewebehomogenaten aus dem ACC nach 6-OHDA-Injektionen anfertigen. Mit Hilfe solcher Messungen könnte die 6-OHDA-induzierte Zerstörung dopaminergere und noradrenerger Afferenzen im ACC quantitativ bestimmt werden.

### 8.2.3 Mikroinfusionen mit spezifischen D1- und D2-Antagonisten

In Experiment 5 wurde die Wirkung eines Dopamin-D1- und eines Dopamin-D2-Rezeptor-Antagonisten, SCH 23390 und Eticlopride, im ACC untersucht. Dafür bekamen die Tiere jeweils direkt vor dem Versuch Mikroinfusionen des jeweiligen Antagonisten in den ACC appliziert.

Der ACC ist ein Gehirngebiet mit großer rostral-caudaler Ausbreitung. Dennoch wurde für die Mikroinfusionen nur jeweils ein Injektionsort pro Hemisphäre gewählt. Diese waren aber so gewählt, dass die Mitte der Injektionsstelle in einem Bereich innerhalb des ACC lag, der eine relativ hohe dopaminerge Innervation hatte. Dieser Zielbereich mit optimaler Dopamin-Innervation wurde anhand der immunhistologischen Auswertung aus Experiment 4 bestimmt. Es handelte sich dabei um die Cg1 Region. Weiterhin wurden die Koordinaten so gewählt, dass die Substanzen in jenem Bereich appliziert wurden, in dem in Experiment 1-4 die Läsionen gemacht worden waren. Bisher gab es nur wenige Studien, in denen Mikroinfusionen in den ACC gemacht wurden (Herremans *et al.*, 1996; Johansen und Fields, 2004; Ragozzino und

Kesner, 1998; Williams *et al.*, 1999). Unsere Injektionsstellen entsprachen in etwa denen von Johansen und Fields (2004) und Ragozzino und Kesner (1998).

SCH 23390 ist ein häufig in Verhaltensstudien verwendeter D1-Rezeptor-Antagonist (Baldwin *et al.*, 2002; Capriles *et al.*, 2003; Dalley *et al.*, 2005; Granon *et al.*, 2000; Gurden *et al.*, 2000; Hauber *et al.*, 2001; Hauber und Lutz, 1999; Hernandez *et al.*, 2005; Herremans *et al.*, 1996; Nicola und Deadwyler, 2000; Nowend *et al.*, 2001; Ragozzino, 2002; Sun und Rebec, 2005; Vincent *et al.*, 1993; Zahrt *et al.*, 1997). Es ist hoch selektiv und potent (Seeman und Ulpian, 1988). Eticlopride ist ebenfalls ein selektiver und hoch potenter Antagonist des D2-Rezeptors (Seeman und Ulpian, 1988), welcher auch schon in verschiedenen Verhaltenstudien eingesetzt wurde (Floresco *et al.*, 2006; Sun und Rebec, 2005)

Nach Injektionen von radioaktiv-markierten SCH 23390 in eine Subregion des medialen Präfrontalcortex, dem prälimbischen Cortex, konnte gezeigt werden, dass die Substanz nur geringfügig in benachbarte Subregionen diffundierte. Außerdem waren eine Stunde nach Injektion des radioaktiv-markierten SCH 23390 immer noch relativ hohe Konzentrationen der Substanz im Injektionsgebiet messbar (Granon *et al.*, 2000). Eine Wirkdauer von über 40 min nach präfrontaler Mikroinjektionen wurde in weiteren Verhaltensstudien bestätigt (Baldwin *et al.*, 2002; Floresco *et al.*, 2006; Ragozzino, 2002; Seamans *et al.*, 1998; Sun und Rebec, 2005). Auch Eticlopride-Injektionen in den medialen Präfrontalcortex bewirkten in einigen Studien eine Veränderung des Verhaltens bei Ratten (Floresco *et al.*, 2006; Sun und Rebec, 2005). In der Arbeit von Sun und Rebec (2005) wurden signifikante Verhaltensänderungen noch mindestens 40 min nach Eticlopride-Injektionen in den ACC und den prälimbischen Cortex gemessen. Daraus lässt sich schließen, dass die Wirkdauer von SCH 23390 und Eticlopride für Experiment 5 ausreichend war. Jedes Tier musste in diesem Experiment eine eher hohe Anzahl von Testdurchläufen absolvieren, was in etwa 40 bis 50 min in Anspruch nahm.

Die in Experiment 5 verwendeten Dosierungen der Dopamin-Antagonisten (jeweils 1 µg pro Injektionsstelle) hatten sich in früheren Studien als wirksam erwiesen. So traten nach Injektionen dieser Dosierungen von SCH 23390 bzw. Eticlopride in verschiedene Subregionen des medialen Präfrontalcortex Verhaltensveränderungen bei instrumentellen Lernvorgängen auf (Baldwin *et al.*, 2002; Floresco *et al.*, 2006; Granon *et al.*, 2000; Ragozzino, 2002; Seamans *et al.*, 1998), während geringere Dosierungen nicht immer wirksam waren (Floresco *et al.*, 2006; Ragozzino, 2002).

Die Tiere in Experiment 5 erhielten sechs Mikroinfusionen an aufeinander folgenden Tagen. Erfahrungsgemäß tolerieren Tiere diese eher hohe Anzahl an Mikroinfusionen relativ gut, ohne Verhaltensauffälligkeiten zu zeigen (Baldwin *et al.*, 2002). Eine Beeinträchtigung allein durch die Anzahl der Mikroinfusionen ist daher zu vernachlässigen. Um den durch die aufwendige Mikroinfusionsprozedur induzierte Stress zu vermindern, wurden die Ratten bereits innerhalb der Erholungsphase an die Mikroinfusionsprozedur gewöhnt.

### ***8.3 Kurze Zusammenfassung der Ergebnisse***

In den folgenden beiden Tabellen sind die Verhaltensergebnisse kurz zusammengefasst. Die Ergebnisse werden in den anschließenden Kapiteln genauer beschrieben und diskutiert.

<b><i>Experiment</i></b>	<b><i>Verhaltenstest</i></b>	<b><i>Behandlung</i></b>	<b><i>Effekt</i></b>
<b>Experiment 1</b>	<b>Diskriminierung von Stimuli</b>	<b>Chinolin-Säure</b>	nicht beeinträchtigt
<b>Experiment 2</b>	<b>Motivation</b>	<b>Chinolin-Säure</b>	nicht beeinträchtigt
<b>Experiment 2</b>	<b>Kosten-Nutzen-abhängige Entscheidungen in der Skinnerbox</b>	<b>Chinolin-Säure</b>	nicht beeinträchtigt

**Tabelle 8.1 Zusammenfassung der Verhaltensergebnisse von Experiment 1 und 2.**

<i>Experiment</i>	<i>Behandlung</i>	<i>Verhaltenstest</i>		
		Kosten-Nutzen-abhängige Entscheidungen im T-Labyrinth		
		1 x Barriere	2 x Barrieren	1 x Barriere
<b>Experiment 3</b>	<b>Chinolin-Säure</b>	beeinträchtigt	nicht beeinträchtigt	beeinträchtigt
<b>Experiment 4</b>	<b>6-OHDA</b>	leicht beeinträchtigt	nicht beeinträchtigt	beeinträchtigt
<b>Experiment 5</b>	<b>SCH 23390</b>	beeinträchtigt	nicht beeinträchtigt	
<b>Experiment 5</b>	<b>Eticlopride</b>	nicht beeinträchtigt	nicht beeinträchtigt	

Tabelle 8.2 Zusammenfassung der Verhaltensergebnisse von Experiment 3 bis 5.

#### *8.4 Die Rolle des ACC bei der Diskriminierung von Stimuli*

In Experiment 1 wurde die Rolle des ACC bei der Steuerung instrumentellen Verhaltens durch belohnungsprädiktive Stimuli untersucht. Aus den Ergebnissen geht hervor, dass Läsionen des ACC die Diskriminierung belohnungsprädiktiver Stimuli nicht beeinträchtigten und die Führung instrumentellen Verhaltens durch solche Stimuli intakt ließ.

Daher nehme ich an, dass der ACC nicht für die einfache Diskriminierung von nur zwei belohnungsprädiktiven Stimuli notwendig ist. Dieses Ergebnis ist vergleichbar mit Ergebnissen von Bussey und Kollegen (1997b). Sie fanden, dass der ACC keine Rolle bei Diskriminierung weniger Stimulus-Belohnungsbeziehungen spielt, sondern nur wenn die Tiere lernen mussten, in jeweils acht Paaren den richtigen, der beiden Stimuli zu erkennen. Weiterhin hatten ACC-läsionierte Tiere kein Defizit bei der Unterscheidung von visuellen Stimuli, welche sich nur in einer Submodalität wie der Farbe unterschieden (Bussey *et al.*, 1997a; Cardinal *et al.*, 2002b).

Allerdings hatten Ratten mit ACC-Läsionen ein Defizit bei der Diskriminierung von Stimuli beim *Autoshaping* (Bussey *et al.*, 1997a; Cardinal *et al.*, 2002b; Cardinal *et al.*, 2003; Parkinson *et al.*, 2000). Beim *Autoshaping* handelt es sich um eine Lernaufgabe, die auf Grundlagen der klassischen Konditionierung beruht. In diesem Ver-

haltenstest wurden den Tieren auf einem Bildschirm entweder ein positiv verstärkter Stimulus (CS+, belohnt durch ein Pellet) oder ein neutraler Stimulus (CS-, nicht belohnt) gezeigt. Die Stimuli beim *Autoshaping* waren große weiße Rechtecke, die sich nur in ihrer Position (weit links oder weit rechts auf dem Bildschirm) unterschieden (Bussey *et al.*, 1997a; Cardinal *et al.*, 2002b; Cardinal *et al.*, 2003; Parkinson *et al.*, 2000). Nach einiger Zeit war zu beobachten, dass ein Tier sich dem CS+ immer angenähert oder auch diesen berührt hatte, bevor es sich der Belohnung zuwendete. Dieses Antwortverhalten hatte keinen Einfluss darauf, ob eine Belohnung verabreicht wurde oder nicht. Ratten mit ACC Läsionen zeigten in dieser Aufgabe sowohl ein Defizit, die Stimuli zu unterscheiden, als auch ein längere Latenzzeit bei der Annäherung an den Stimulus als die Kontrolltiere (Bussey *et al.*, 1997a; Cardinal *et al.*, 2002b; Cardinal *et al.*, 2003; Parkinson *et al.*, 2000).

Cardinal und Kollegen (2003) nahmen deshalb an, dass der ACC der Ratte nicht für die Ausbildung von Stimulus-Belohnungs-Beziehungen *per se* verantwortlich ist, sondern dazu beiträgt, ähnliche, leicht zu verwechselnde Stimuli zu unterscheiden. Die Ergebnisse von Experiment 1 widersprechen dieser Hypothese, denn Tiere mit ACC-Läsionen hatten keinerlei Probleme, zwei ähnliche belohnungsprädiktive Stimuli zu diskriminieren, die sich nur in ihrer Helligkeitsstufe unterschieden. Diese unterschiedlichen Ergebnisse könnten allerdings auch Aufgaben-bedingte Gründe haben. Erstens war die Position der belohnungsprädiktiven Stimuli in Experiment 1 und beim *Autoshaping* verschieden: In Experiment 1 waren die belohnungsprädiktiven Stimuli direkt über der Futterstelle, während beim *Autoshaping* die Stimuli und die Futterraufe an gegenüberliegenden Wänden der Testkammer zu finden waren. Zweitens handelte es sich bei der *Autoshaping*-Aufgabe um eine klassisch-konditionierte Aufgabenstellung und bei Experiment 1 um eine instrumentelle Aufgabe. Drittens waren in der hier verwendeten Aufgabe im Gegensatz zum *Autoshaping* beide Stimuli belohnt. Somit scheinen ACC-Läsionen keinen Einfluss auf die Stimulusunterscheidung an sich zu haben, auch wenn diese sehr ähnlich sind und sich nur in ihrer Helligkeit unterscheiden, jedenfalls wenn die Tiere nur auf zwei Stimuli konditioniert worden sind wie in Experiment 1.

ACC-läsionierte Ratten zeigten darüber hinaus kein Defizit beim Umlernen der Stimulus-Belohnungs-Beziehungen in Experiment 1. Dies hing vielleicht auch mit der relativ einfach zu lösenden Reaktionszeitaufgabe zusammen. In einer räumlichen T-Labyrinth-Aufgabe zeigten Mäuse mit Läsionen des ACC ebenfalls keine Defizite nach einem ersten Umlernen des Belohnungsschemas, sondern erst nach einer Serie

von wiederholtem Umlernen (Meunier *et al.*, 1991). Daher wären wohl Aufgaben mit wiederholter Umkehr von Stimulus-Belohnungs-Beziehungen angemessener, um die Funktion des ACC zu untersuchen. Allerdings hatte die Aufgabenstellung von Experiment 1 den Nachteil, dass ein Reaktionszeitunterschied beim Umkehrlernen erst nach mehreren Tagen feststellbar war und so die Aufgabe für solche Fragestellungen eher ungeeignet erscheint.

Andere Teile des Präfrontalcortex spielen bei der Reaktionszeitaufgabe allerdings eine wichtige Rolle, wie zum Beispiel der Orbitofrontalcortex (OFC). Nach Injektionen des NMDA-Rezeptor-Antagonisten AP-5 in den OFC zeigten Ratten zwar auch keine Defizite bei der Diskriminierung der Stimuli, aber sie hatten deutliche Defizite beim Umlernen der Stimulus-Belohnungs-Beziehungen (Bohn *et al.*, 2003b).

Weil das Verhalten von ACC-läsionierten Tieren besonders dann beeinträchtigt war, wenn multiple konditionierte Stimuli unterschieden werden mussten, haben Cardinal und Kollegen (2003) die Theorie aufgestellt, dass der ACC die Aufgabe hat, konditionierte, leicht zu verwechselnde Stimuli zu ‚disambiguieren‘ (eindeutig zu machen) und die Generalisierung von Stimuli zu verhindern. Diese Hypothese ist gut mit den Ergebnissen von Bussey und Kollegen (1997b) vereinbar, dass dann Defizite bei ACC-läsionierten Tieren auftraten, wenn die Tiere multiple Stimuli auseinander halten mussten.

Aus meinen Befunden geht darüber hinaus hervor, dass der ACC die Diskriminierung von schwer unterscheidbaren Stimuli nicht verbessert, wenn nur eine geringe Zahl von Stimuli dargeboten wird, zumindest in einer eher einfachen Aufgabenstellung.

### ***8.5 Rolle des ACC bei Kosten-Nutzen-abhängigen Entscheidungen***

Im folgenden Abschnitt werden die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit diskutiert, in denen die Rolle des ACC bei Kosten-Nutzen-abhängigen Entscheidungen, mit Hilfe verschiedener Aufgaben weiterführend untersucht wurde.

#### **8.5.1 Kosten-Nutzen-abhängige Entscheidungen in der Skinnerbox**

Ein Vorexperiment zeigte, dass ACC-läsionierte Tiere wie Kontrolltiere gleichermaßen die Bioserv-Pellets bevorzugten, wenn sie die Wahl zwischen den Pellets und regulärem Laborfutter hatten. Dies spricht für eine intakte Futterpräferenz nach ACC-Läsionen und war eine wichtige Voraussetzung für die nachfolgenden Versuche. Aus Experiment 2 ging außerdem hervor, dass Tiere mit ACC-Läsionen dazu fähig waren, eine *Progressiv-Ratio*-Aufgabe zu lernen. Das bedeutet, sie hatten keine ver-

minderte Motivation, für eine Futterbelohnung zu arbeiten. Diese stimmt mit vorherigen Ergebnissen von Cardinal und Kollegen (2003) überein.

Weiterhin lernten die ACC-läsionierten Ratten, die *Progressiv-Ratio*-Aufgabe zu bewältigen, und erreichten ähnliche '*breaking points*' wie die scheinoperierten Tiere. Der '*breaking point*' gilt generell als ein Maß dafür, wie viel Aufwand ein Tier investieren möchte, um eine bestimmte Belohnung zu bekommen (Baunez *et al.*, 2002; Bowman und Brown, 1998; e. g., Hodos, 1961). Auch diese Ergebnisse von Experiment 2 bewiesen, dass ACC-Läsionen die Motivation, für ein Futterstück zu arbeiten, nicht verminderten.

Schäden am Präfrontalcortex oder am Nucleus Accumbens führen oft zu impulsiven Verhalten, welches u.a. in sogenanntem Perseverationsverhalten ausgedrückt wird (Bowman und Brown, 1998; Cardinal *et al.*, 2001; Chudasama *et al.*, 2003). Dabei wird fehlerhaftes Verhalten trotz Rückmeldung weitergeführt. In Experiment 2 wurde dieses Fehlverhalten auch untersucht, aber die gezählten 'perseverativen' Hebelbewegungen waren nach ACC-Läsionen nicht erhöht. Daraus geht hervor, dass die Tiere durch die ACC-Läsionen nicht impulsiver wurden, und weiterhin, dass sie auch kein Aufmerksamkeitsdefizit hatten. Diese Beobachtung stimmt mit Ergebnissen der Reaktionszeit-Aufgabe überein, in welcher die verfrühten Antworten bei den ACC-läsionierten Tieren nicht häufiger als bei den Kontrolltieren waren.

Die abschließend eingesetzte Wahl-Aufgabe war eine Abwandlung einer Aufgabe von Salamone und Kollegen (1991). Salamone hat bewiesen, dass Tiere diese Aufgabe mit Hilfe Kosten-Nutzen-abhängiger Entscheidungen lösen. Wenn ein Tier die Wahl hatte, für bevorzugtes Futter mehr Kosten (Hebelbewegungen) zu investieren oder reguläres Laborfutter ohne Aufwand zu konsumieren, dann wendete es sich umso rascher dem Laborfutter zu, je höher der Aufwand für das bevorzugte Pellet war. In der in Experiment 2 eingesetzten Aufgabe hatten die Tiere in einer Sitzung die Wahl, frei verfügbares Laborfutter zu konsumieren oder zunehmend mehr Aufwand für den Erhalt einer fixen, bevorzugten Belohnung aufzubieten. Aus den Ergebnissen ging hervor, dass die '*breaking points*' von Läsions- und Kontrolltieren vergleichbar waren. Das bedeutet, dass Kosten-Nutzen-abhängige Entscheidungsprozesse zumindest in dieser Aufgabenstellung nach ACC-Läsionen nicht beeinträchtigt waren.

### 8.5.2 Kosten-Nutzen-abhängige Entscheidungen im T-Labyrinth

In Experiment 3 wurde eine weitere Verhaltensaufgabe zu Kosten-Nutzen-abhängigen Entscheidungen eingesetzt. Dabei mussten Ratten für eine hohe Belohnung

(hoher Nutzen) über eine 25 cm hohe Barriere (hohe Kosten) klettern, während die niedrige Belohnung ohne Barriere (geringer Nutzen/geringe Kosten) in dem zweiten Zielarm zu finden war (Ein-Barriere-Situation). Im präoperativen Test zeigten alle Ratten eine deutliche Präferenz für den hoch belohnten Arm in der Ein-Barriere-Situation. Nach der Operation veränderte sich das Verhalten der ACC-läsionierten Tiere. Diese wählten in der Ein-Barriere-Situation nun im Gegensatz zu den Kontrolltieren nur noch in weniger als der Hälfte der Versuchsdurchgänge den hoch belohnten Arm. Wenn allerdings der Aufwand auf beiden Seiten durch eine identische Barriere im niedrig belohnten Arm angeglichen wurde (Zwei-Barriere-Situation), wählten alle Tiere den hoch belohnten Arm. Nach Entfernen der Barriere im niedrig belohnten Arm wendeten sich die Tiere mit den ACC-Läsionen wieder vermehrt der Option geringe Kosten und geringer Nutzen zu.

Mit diesem Ergebnis reproduzierten ich frühere Erkenntnisse von Walton und Kollegen (2003). Das Defizit in der Ein-Barriere-Situation war nicht temporär und beruhte auch nicht darauf, dass die Tiere 'vergessen' hatten, in welchem Zielarm sich die hohe Belohnung befand, oder dass sie motorisch nicht in der Lage waren, die Barriere zu überklettern. Denn in der Zwei-Barrieren-Situation wählten sowohl Tiere mit ACC-Läsionen als auch Kontrolltiere in weit über 90 % der Versuchsdurchläufe den hoch belohnten Arm. Daher nehmen ich an, dass der ACC eine Rolle spielt bei Entscheidungen, wie viel Aufwand für eine bestimmte Belohnung investiert werden soll. Große Läsionen des medialen Frontalcortex (MFC), inklusive des Prälimbischen/Infralimbischen Cortex und des ACC, bewirkten keine Beeinträchtigung Kosten-Nutzen-abhängige Entscheidungen zu treffen (Walton *et al.*, 2002). Die MFC-läsionierten Tiere bevorzugten wie die Tiere in Experiment 3 deutlich die niedrige Belohnung in der Ein-Barrieren-Situation mit einer 30 cm hohen Barriere und einem Verhältnis der Belohnungen von 4 vs 2 Pellets. Wenn aber der Nutzen in der Aufgabe erhöht wurde (5 vs 1 Pellets) oder die Kosten verringert wurden (20 cm vs 30 cm), änderten die MFC-läsionierten Tiere ihr Verhalten und wählten vermehrt die höhere Belohnung. In einer weiteren Studie bewiesen Walton und Kollegen, dass dieses Defizit nicht durch die Läsion des Prälimbischen/Infralimbischen Teils des MFC, sondern durch die Läsion des ACC ausgelöst wurde. Daher nehmen Walton und Kollegen (2003; 2002) an, dass durch die Läsionen des MFC, insbesondere des ACC, die Tiere nicht unempfindlich gegen über den Kosten und Nutzen von Handlungen wurden, sondern dass die Läsionen vielmehr eine Veränderung in einem Entscheidungs-

kriterium der Tiere, welches die Kosten gegen den Nutzen einer Handlung abwägt, bewirkt hatte.

In einem scheinbaren Widerspruch zu den Ergebnissen der hier vorliegenden Studie und den Arbeiten von Walton steht eine Studie von Cardinal und Kollegen (2001). In deren Untersuchungen wurde das Verhalten von Tieren gemessen, welche die Wahl zwischen einer *sofortigen, geringen* Belohnung und einer *verzögerten, großen* Belohnung hatten. ACC-läsionierte Tiere unterschieden sich nicht in ihrem Wahlverhalten von den Kontrolltieren und wählten bevorzugt die hohe Belohnung. Die von Cardinal verwendete Wahlaufgabe hatte vor allem die Impulsivität der Tiere und weniger das Entscheidungsverhalten gemessen. Dass durch ACC-Läsionen impulsives Verhalten nicht erhöht wird, wurde schon in der oben diskutierten Wahlaufgabe in der Skinnerbox festgestellt und in weiteren Studien (z.B. Chudasama *et al.*, 2003) bewiesen. Mit Hilfe der T-Labyrinth-Aufgabe wurde lediglich nachgewiesen, dass der ACC eine wichtige Rolle bei Kosten-Nutzen-abhängigen Entscheidungsprozessen spielt. Allerdings sind die genauen Mechanismen, auf denen die in der T-Labyrinth-Aufgabe relevanten aufwandsabhängigen Entscheidungsprozesse beruhen, noch weitgehend unbekannt. Beispielsweise ist nicht bekannt, ob neben dem Kraft- und kalorischen Aufwand, auch motorische Fertigkeiten oder auch kognitive Aspekte, welche die Wahrnehmung der Aufgaben-Schwierigkeit beinhalten, als Kosten berücksichtigt werden (Salamone *et al.*, 2003).

Tiere mit ACC-Läsionen sind motorisch in der Lage, über die Barriere zu klettern, und wissen, wo sich die hohe Belohnung befindet, aber sie entscheiden sich eher für die kleinere Belohnung ohne Aufwand. Der ACC ist offenbar nicht für die Erkennung der Belohnungsgröße oder das Abmessen des Aufwandes zuständig, sondern übernimmt vielmehr die Rolle abzuwägen, ob es sich lohnt eine Handlung durchzuführen, wenn man den Wert, der zu erwartenden Belohnung mit dem Aufwand vergleicht, der notwendig ist diese Belohnung auch zu bekommen (Rushworth *et al.*, 2004).

Aus den vorliegenden Experimenten geht insgesamt hervor, dass der ACC nicht für alle Klassen von Kosten-Nutzen-abhängigen Entscheidungen relevant zu sein scheint. Während ACC-Läsionen in der T-Labyrinth-Aufgabe Defizite induzierten, war dies in der Skinnerbox-Aufgabe nicht der Fall. Welche Merkmale Kosten-Nutzen-abhängige Entscheidungen haben müssen, damit sie durch den ACC gesteuert werden, ist schwer zu beurteilen. Betrachtet man die Skinnerbox-Aufgabe und die T-Labyrinth-Aufgabe kann man folgende Unterschiede feststellen: Erstens, die Entfernung der beiden Belohnungen zueinander ist unterschiedlich. In der Skinnerbox

sind sie nah zusammen, im T-Labyrinth weit voneinander entfernt. Zweitens, in der Skinnerbox gab es zwei verschiedene Futterarten, während sich die Belohnungen im T-Labyrinth nur in der Menge unterschieden. Drittens ist es schwer, die in Experiment 2 durchgeführte Wahlaufgabe in der Skinnerbox mit der im Labyrinth zu vergleichen. Denn die Aufgabe in der Skinnerbox bietet unter anderem keine wirkliche Wahl zwischen zwei instrumentellen Antwortmöglichkeiten. Vielmehr kann man das Fressen des Laborfutters eher als Konsumationsverhalten denn als instrumentelles Verhalten bezeichnen (Salamone *et al.*, 1997).

Diese Betrachtung legt nahe, dass der ACC möglicherweise nur bei Entscheidungsprozessen eine Rolle spielt, die komplexer sind und bei denen die Handlungsoptionen und die damit verbundenen Kosten und Nutzen eher schwer zu diskriminieren sind.

### ***8.6 Rolle der dopaminergen Innervation des ACC bei Kosten-Nutzen-abhängigen Entscheidungsverhalten***

Die nachfolgend diskutierten Ergebnisse beweisen, dass die dopaminerge Innervation des ACC wichtig für aufwandsabhängiges Entscheidungsverhalten in der T-Labyrinth-Aufgabe ist. Die betreffenden Verhaltenstests wurden zunächst an Ratten mit Läsionen der catecholaminergen Afferenzen im ACC durchgeführt. Anschließend wurde untersucht, welchen Einfluss eine selektive Blockade der D<sub>1</sub>-, bzw. der D<sub>2</sub>-Rezeptoren im ACC auf diesen Verhaltenstest hatte. Die Ergebnisse werden in den folgenden Abschnitten getrennt voneinander diskutiert.

#### **8.6.1 Läsionen der catecholaminergen Afferenzen im ACC**

Die Läsionen der catecholaminergen Afferenzen des ACC mit Hilfe von 6-OHDA führten zu ähnlichen Verhaltensänderungen in der T-Labyrinth-Aufgabe wie in Experiment 3 nach excitotoxischen Läsionen. Im präoperativen Versuchsteil bestand bei allen Tieren eine deutliche Präferenz für die Option hohe Kosten - hoher Nutzen. Tiere, die eine 6-OHDA-Läsion im ACC erhielten, verloren diese Präferenz. Wenn der Aufwand in beiden Zielarmen durch eine zweite Barriere ausgeglichen wurde, wählten sowohl die Läsionstiere als auch die Kontrolltiere die hohe Belohnung. Wie bei den excitotoxischen Läsionen war nach einer 6-OHDA-Läsion nur das Entscheidungsverhalten in der Ein-Barriere-Situation und nicht die motorischen Fähigkeiten der Tiere die Barriere zu überklettern oder die Erinnerung an die Position der hohen Belohnung beeinträchtigt.

Dopamin-gesteuerte Signale spielen bei belohnungsgesteuertem Verhalten und bei Entscheidungsprozessen eine wichtige Rolle. Systemische Injektionen mit dem präferentiellen D2-Rezeptor-Antagonisten Haloperidol riefen ein ähnliches Defizit bei Kosten-Nutzen-abhängigen Entscheidungen von Ratten hervor wie die ACC-Läsionen (Denk *et al.*, 2005; Salamone *et al.*, 1994; Walton *et al.*, 2005). Auch eine Zerstörung der Dopamin-Innervation des Nucleus Accumbens (NAc) führte in dieser Art von Aufgabe zu ähnlichen Veränderungen von Kosten-Nutzen-abhängigen Entscheidungen (Cousins *et al.*, 1996; Salamone *et al.*, 1994).

Der ACC erhält eine relativ hohe dopaminerge Innervation aus dem ventralen tegmentalen Areal und der Substantia nigra (Berger *et al.*, 1991; Haber und Fudge, 1997). In einer kürzlich erschienenen Veröffentlichung von Walton und Kollegen (2005) konnte erstaunlicherweise kein Effekt nach 6-OHDA-Läsionen im ACC bei Kosten-Nutzen-abhängigen Entscheidungen in der T-Labyrinth-Aufgabe festgestellt werden. Es gab allerdings mehrere methodische Unterschiede zwischen Waltons Studie und Experiment 4. Der wichtigste Unterschied war, dass die Kontrolltiere in Experiment 4 eine wesentlich höhere Präferenz für den hoch belohnten Arm hatten als die bei Walton und Kollegen (2005). Dadurch könnte eine mögliche Beeinträchtigung der mit 6-OHDA-behandelten Tiere in Walton's Untersuchung verborgen geblieben sein. Ein weiterer Unterschied war, dass Walton nicht die zweite postoperative Ein-Barriere-Situation mit einer 30 cm Barriere untersucht hatte, sondern die Barriere in der zweiten Ein-Barriere-Situation gleich auf 40 cm und damit die Kosten stark erhöht hatte. In der zweiten postoperativen Ein-Barriere-Situation in Experiment 3 dieser Arbeit war aber der Unterschied zwischen scheinoperierten und ACC-läsionierten Tieren am stärksten. Weiterhin wurden in den beiden Studien verschiedene Rattenstämme verwendet (Sprague-Dawley und Lister-Hooded) und es gab Unterschiede bei den Injektionsorten und der Konzentration des für die Injektionen verwendeten 6-OHDA. Gemeinsam könnten diese Unterschiede die abweichenden Ergebnisse der beiden Untersuchungen verursacht haben.

Aus den Ergebnissen dieser Studie und denen von Salamone und Kollegen (Salamone *et al.*, 1994) lässt sich schließen, dass eine intakte dopaminerge Innervation des ACC und des NAc wichtig ist, um optimale Kosten-Nutzen-abhängige Entscheidungen zu treffen.

### 8.6.2 Blockade der Dopaminrezeptoren im ACC

In Experiment 5 verringerten intra-ACC-Injektionen des D1-Rezeptor-Antagonisten SCH 23390 direkt vor dem Verhaltenstest im T-Labyrinth bei trainierten Tieren die Präferenz für den hoch belohnten Arm, wenn in diesem eine 30 cm hohe Barriere aufgestellt war. Bei einer Angleichung des Aufwands in beiden Zielarmen durch eine identische zweite Barriere im niedrig belohnten Arm, bevorzugten sowohl die mit SCH 23390 behandelten Tiere als auch die mit Saline behandelten Tiere die hohe Belohnung. Daher ist anzunehmen, dass die durch SCH 23390 hervorgerufenen Effekte nicht auf motorische Defizite, Probleme bei der räumlichen Orientierung oder der Diskriminierung der Belohnungsstärken zurückzuführen waren. Anders sah das Ergebnis nach Behandlung mit dem D2-Rezeptor-Antagonisten Eticlopride aus. Durch Eticlopride wurde die Präferenz der behandelten Tiere für den hoch belohnten Arm nicht verändert. Sowohl in der Ein- als auch in der Zwei-Barrieren-Situation bevorzugten die mit Eticlopride wie die mit Saline behandelten Tiere den hoch belohnten Zielarm. Aus diesen Ergebnissen geht hervor, dass Dopamin-D1-vermittelte Signale im ACC wichtig sind, um optimale aufwandsabhängige Entscheidungen zu treffen.

Zwar konnte eine leichte Verringerung der Präferenz in der Ein-Barrieren-Situation bei den Saline- und die Eticlopride-behandelten Tieren im Vergleich zu den präoperativen Testdaten festgestellt werden. Aber die Präferenz der Tiere für die hohe Belohnung war noch immer deutlich. Diese Verringerung wurde wahrscheinlich durch den erhöhten Stress der Mikroinfusions-Prozedur ausgelöst.

Das Ergebnis von Experiment 5 passt gut in eine Reihe von Arbeiten, die zeigten, dass 6-OHDA-Läsionen oder Injektionen von D1-, aber nicht von D2-Antagonisten innerhalb des medialen PFC zu Defiziten bei manchen kognitiven Funktionen führten, wie zum Beispiel bei Aufgaben, die das Arbeitsgedächtnis (Brozoski *et al.*, 1979; Sawaguchi und Goldman-Rakic, 1991; Seamans *et al.*, 1998) oder eine erhöhte Aufmerksamkeit erfordern (Granon *et al.*, 2000).

Floresco und Kollegen (2006) konnten allerdings in einer kürzlich veröffentlichten Untersuchung zeigen, dass auch der D2-Rezeptor eine Rolle bei der Vermittlung von gewissen kognitiven Funktionen spielt. Sie untersuchten die Flexibilität beim Lernen von Verhaltensregeln in einer *set-shifting*-Aufgabe. Der erste Teil der Aufgabe bestand darin, dass eine Ratte lernen musste, in einem Kreuz-Labyrinth immer in eine Richtung, z.B. nach rechts, zu laufen, um eine Belohnung zu erhalten. Dabei war es

gleichgültig, in welchen Arm sie anfangs gesetzt wurde oder ob in einem Arm ein visueller Stimulus<sup>8</sup> gegeben war oder nicht. Im zweiten Teil der Aufgabe bekam die Ratte nur in dem Arm eine Belohnung, in dem sich der visuelle Stimulus befand. Das bedeutete, dass die Ratte von ihrer ursprünglichen Strategie abweichen und sich der neuen Bedingung flexibel anpassen musste. Nach Injektionen von SCH 23390 oder Eticlopride in den medialen PFC hatten die Tiere keine Defizite beim Lernen des ersten Aufgabenteils, aber bei der Anpassung an die neue Bedingung (Floresco *et al.*, 2006; Ragozzino, 2002).

Die Ergebnisse von Floresco und Kollegen (2006) lassen darauf schließen, dass die Fähigkeit, bestimmte Verhaltensregeln umzulernen, von einer intakten Tätigkeit der D1- und D2-Rezeptoren abhängig ist.

Die Daten von Experiment 5 zeigen, dass Kosten-Nutzen-abhängige Entscheidungsprozesse von der Aktivität der D1-Rezeptoren, aber nicht der Aktivität der D2-Rezeptoren im ACC abhängig sind.

### ***8.7 Möglicher Schaltkreis für die Kosten-Nutzen-abhängigen Entscheidungen***

Der mediale Präfrontalcortex, inklusive des ACC, projiziert zu zahlreichen Regionen des zentralen Nervensystems, u.a. in den Nucleus Accumbens (Brog *et al.*, 1993) und in den medialendorsalen Nucleus des Thalamus (Uylings und van Eden, 1990). Die basolaterale Amygdala hat reziproke Verbindungen zum orbitalen und medialen Präfrontalcortex, einschließlich des ACC (Bouwmeester *et al.*, 2002; Kita und Kitai, 1990; McDonald, 1991; McDonald *et al.*, 1996). Die Projektionen vom ACC und der BLA zum Nucleus Accumbens sind direkt und glutamaterg (Kelley *et al.*, 1982; Sesack *et al.*, 2003). Sowohl der ACC als auch der Nucleus Accumbens erhalten dopaminerge Signale vor allem aus dem ventralen tegmentalen Areal (VTA) (Berger *et al.*, 1991; Fuxe, 1965; Fuxe *et al.*, 1985).

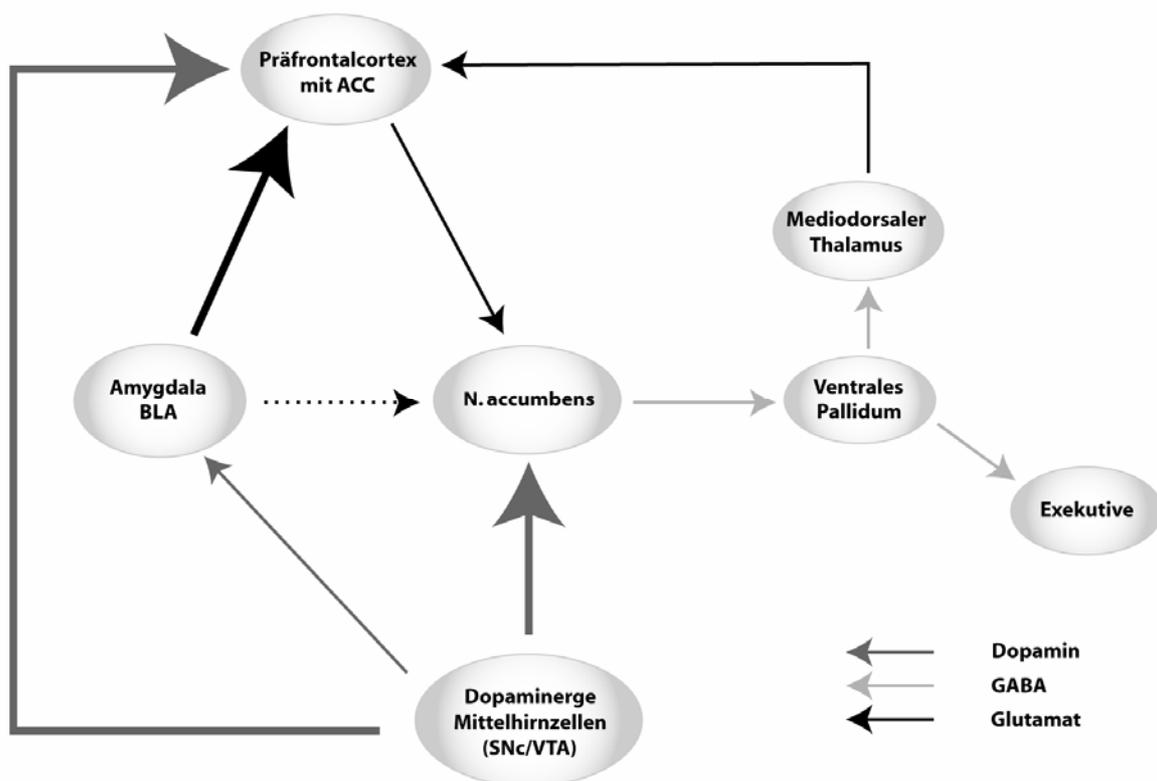
Sowohl der ACC als auch der Nucleus Accumbens sind Teile eines neuronalen Schaltkreises (s. Abb. 8.1), welcher den Wert einer erwarteten Belohnung in Relation zu den Kosten der damit verbundenen Handlung abwägt und belohnungsgerichtete Handlungen in Gang setzt (Rushworth *et al.*, 2004). Läsionen dieser Gehirngebiete bei Ratten bewirkten Veränderungen bei Aufwands-abhängigen Entscheidungen: Ein durch 6-OHDA hervorgerufener Mangel an Dopamin im Nucleus accumbens

---

<sup>8</sup> Der visuelle Stimulus bestand aus einer schwarz-weiss gestreiften laminierten Folie, die in die jeweiligen Arme des Labyrinths gelegt werden konnte.

(Cousins *et al.*, 1996; Salamone *et al.*, 1994) sowie excitotoxische Läsionen (s. Experiment 3, Walton *et al.*, 2003) und auch 6-OHDA-Läsionen des ACC (Experiment 4) verursachten einen Verlust der Präferenz für die Handlungsoption mit hohen Kosten und Nutzen. Die BLA scheint die Information zu enkodieren, welche Belohnungsstärke mit einer bestimmten Handlung assoziiert ist (Floresco und Ghods-Sharifi, 2006).

Sie scheint für diese Art von Entscheidungen erforderlich zu sein, denn Injektionen des Lokalanästhetikums Bupivacaine in die BLA verringerten auch die Präferenz für die Handlungsoption hohe Kosten-hoher Nutzen (Floresco und Ghods-Sharifi, 2006).



**Abbildung 8.1 An Kosten-Nutzen-abhängigen Entscheidungen beteiligte Strukturen.**

Die dopaminerge Innervation von Nucleus Accumbens und ACC, sowie die glutamaterge Innervation des ACC aus der BLA sind essentiell für Kosten-Nutzen-abhängige Entscheidungsprozesse (dicke Pfeile). Glutamaterge Efferenzen von der BLA zum Nucleus Accumbens sind offenbar nicht relevant sind (gepunkteter Pfeil, s. Floresco und Ghods-Sharifi, 2006). Inwieweit die anderen abgebildeten Strukturen und Verbindungen (dünne Pfeile) eine Rolle spielen ist noch untersucht worden. Verändert nach Kalivas und Nakamura (1999).

Eine Diskonnektion zwischen der BLA und dem ACC, hervorgerufen durch eine unilaterale Inaktivierung der BLA durch ein Lokalanästhetikum (Bupivacaine) und einer contralateralen Inaktivierung des ACC, bewirkte ein ähnliches Defizit wie eine bilate-

rale Inaktivierung der BLA oder des ACC (Floresco und Ghods-Sharifi, 2006). Durch die Diskonnektion von BLA und ACC wurde der Informationsfluss zwischen diesen beiden Strukturen unterbrochen. Daher nehmen Floresco und Ghods-Sharifi (2006) an, dass vor allem der Informationsfluss von der BLA in Richtung des ACC für die untersuchten Entscheidungsprozesse wichtig ist.

Der ACC hat darüber hinaus starke Verbindungen zum motorischen Cortex, welche weitere Informationen über die möglichen Kosten einer Handlung geben könnten (Reep *et al.*, 1990; Sesack *et al.*, 1989). Daher wird angenommen, dass der ACC Informationen aus diesen Hirnarealen integriert und belohnungsgerichtete Handlungen in Abhängigkeit von zu leistendem Aufwand in Gang setzt oder nicht (Floresco *et al.*, 1999; Parkinson *et al.*, 2000).

Die vorliegende Arbeit zeigt, dass nicht nur die Dopamin-Modulation des Nucleus Accumbens, sondern auch die D1-Rezeptor-vermittelte Dopamin-Modulation des ACC für Kosten-Nutzen-abhängige Entscheidungen wichtig zu sein scheint. Welche Informationen über den D1-Rezeptor zum ACC übermittelt wird, ist noch weitgehend unerforscht (Ragozzino, 2000). Holroyd und Coles (2002) vermuten, dass Dopamin im ACC Lernsignale übermittelt, welche die Präsenz von Belohnungen in der Umgebung anzeigen. Meine Arbeit widerspricht dieser Annahme, weil aufgrund dieser Annahme in der T-Labyrinth-Aufgabe sowohl bei der Ein-Barriere- als auch bei der Zwei-Barriere-Situation ein Defizit nach ACC-Läsionen auftreten müsste, was aber nicht der Fall war.

Eine weitere Möglichkeit besteht darin, dass Dopamin-Signale im ACC für die Aufrechterhaltung von Funktionen, wie z.B. Erleichterung der Stimulus-Diskriminierung (Cardinal *et al.*, 2003) oder Konfliktüberwachung (Botvinick *et al.*, 1999; Botvinick *et al.*, 2004; van Veen *et al.*, 2004) wichtig sind. Vermutlich sind Handlungsoptionen in der Ein-Barriere-Situation deutlich schwerer zu unterscheiden als in der Zwei-Barriere-Situation. Denn das Kosten-Nutzen-Verhältnis in der Ein-Barriere-Situation ist deutlich geringer als in der Zwei-Barriere-Situation. Daher wäre denkbar, dass die Entscheidungssituation in der Ein-Barriere-Situation ein größeres Konfliktpotential als in der Zwei-Barriere-Situation besitzt und deshalb die Lösung der Aufgabe die Vermittlung durch den ACC bedarf (Botvinick *et al.*, 2004). Eine D1-Rezeptor-Blockade könnte deshalb vor allem Störungen in Aufgabenstellungen hervorrufen, die schwer unterscheidbare Antwortmöglichkeiten bietet. Auch wenn die exakte Aufgabe des ACC bei Kosten-Nutzen-Abhängigen Entscheidungen noch nicht geklärt ist, kann man davon ausgehen, dass D1-Rezeptoren im ACC die Antwortselektion auf-

grund des relativen Nutzens in Abhängigkeit von den Kosten im T-Labyrinth vermitteln.

### **8.8 Schlussfolgerungen**

Läsionen des ACC bewirkten in Experiment 1 keine Störungen beim Erlernen und Umlernen von instrumentellem Verhalten, welches durch belohnungsprädiktive Stimuli gesteuert wird. Dieser Befund steht im Einklang mit Ergebnissen anderer Arbeitsgruppen (Bussey *et al.*, 1997b; Cardinal *et al.*, 2002a; Winters *et al.*, 2004), in welchen Läsionen des ACC, Lernverhalten vor allem dann beeinträchtigen zu scheinen, wenn schwer zu diskriminierende Stimuli unterschieden werden müssen und die ihnen zugeordneten Belohnungen sich rasch ändern. Eine mögliche Erklärung der hier ermittelten negativen Befunde wäre demnach die unzureichende Komplexität der verwendeten Aufgabe.

Ich schließe aus meinen und anderen Befunden, dass der ACC keineswegs eine grundlegende Rolle bei allen instrumentellen Lernvorgängen einnimmt. Sein Beitrag könnte eher darin liegen, in komplexen instrumentellen Lernsituationen die Diskriminierung belohnungsprädiktiver Stimuli zu verbessern ('disambiguation' s. Cardinal *et al.*, 2003).

Um die Rolle des ACC bei auf Kosten-Nutzen-Analysen beruhenden Entscheidungsprozessen zu untersuchen, habe ich Tiere mit Zellkörper-Läsionen des ACC mithilfe einer Wahlaufgabe in der Skinnerbox untersucht. Die Arbeitshypothese war, dass Tiere nach ACC-Läsionen im Entscheidungsverhalten dann beeinträchtigt sind, wenn Tiere die Wahl haben höhere Kosten für bevorzugtes Futter aufzuwenden oder nicht so wohl schmeckendes Futter ohne Aufwand zu konsumieren. Allerdings war das Entscheidungsverhalten der ACC-läsionierten Tiere in dieser Aufgabe (Experiment 2) nicht beeinträchtigt. Dieser Befund stand im Widerspruch zu Ergebnissen von Walton und Kollegen (2003; 2002). Daher wiederholten ich deren Experiment und kamen zu vergleichbaren Resultaten: Tiere mit ACC-Läsionen bevorzugten in einem T-Labyrinth Verhaltensweisen, die mit geringeren Kosten und geringerem Nutzen verbunden waren. Gemeinsam geht aus diesen Daten hervor, dass der ACC offenbar nicht generell für auf Kosten-Nutzen-Analysen basierende Entscheidungsvorgänge relevant zu sein scheint. Für diese Annahme gibt es inzwischen weitere Anhaltspunkte (Cardinal *et al.*, 2001). Darüber hinaus habe ich festgestellt, dass für die Kosten-Nutzen-abhängigen Entscheidungsprozesse im T-Labyrinth Dopamin-Signale im ACC relevant sind, welche über D1-Rezeptoren vermittelt werden.

Insgesamt geht aus meinen bisherigen Arbeiten zu diesem Projekt hervor, dass eine Beteiligung des ACC für die flexible Steuerung instrumenteller Verhaltensweisen durch belohnungsprädiktive Stimuli, zumindest in eher einfachen Diskriminierungsaufgaben, nicht zwingend notwendig zu sein scheint. Elementar ist der ACC offenbar für die Steuerung mancher, auf Kosten-Nutzen-Analysen basierenden Entscheidungsprozessen, die für die Auswahl instrumenteller Verhaltensweisen bedeutsam scheint. Dabei spielen vor allem D<sub>1</sub>-Rezeptor-vermittelte Signale im ACC eine wichtige Rolle. Präfrontales Dopamin vermittelt also nicht nur wie bisher bekannt Verhaltensweisen, die das Arbeitsgedächtnis oder Verhaltensflexibilität erfordern (Floresco und Magyar, 2006 als Übersichtsartikel), sondern auch Entscheidungsverhalten.

### ***8.9 Mögliche Folgeexperimente***

Die unterschiedlichen Ergebnisse der beiden Kosten-Nutzen-abhängigen Entscheidungsaufgaben haben interessante Fragen aufgeworfen, die in möglichen Folgeexperimenten geklärt werden könnten. Insbesondere gilt es zu klären, welche Art von Kosten-Nutzen-Analysen vom ACC prozessiert werden und welche nicht.

Welchen Einfluss haben die einzelnen Subtypen des Dopamin-Rezeptors im Nucleus Accumbens bei Kosten-Nutzen-abhängigen Entscheidungen?

Eine weitere Frage ist, ob die unterstellte Interaktion des ACC und dem Nucleus Accumbens (s. Abb. 8.1) bei Kosten-Nutzen-abhängigen Entscheidungen tatsächlich relevant ist. Diese Untersuchungen könnten zur Klärung der Informationsweitergabe im limbischen-corticostriatalen Schaltkreis führen.

Weiterhin wäre es besonders interessant ein Verhaltensparadigma für die Skinnerbox zu finden, welches die Entscheidungssituation aus der T-Labyrinthaufgabe abbilden kann. Da die Möglichkeiten einer Manipulation (wie eine kurzzeitige Inaktivierung oder die Gabe von Transmitter-Liganden) in einer Verhaltensaufgabe in der Skinnerbox wesentlich einfacher sind als im Labyrinth. In einem Vorversuch (siehe 7.4.4) wurde dieses auch schon ansatzweise versucht.

## 9 Anhang

### 9.1 Computer-Programme für die Skinnerbox

#### 9.1.1 Habituation des CRF für RT- und PR-Aufgaben - KONDI 1

```

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

S.S.1,

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

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

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

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

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

S6,  \ Für jedes Mal Futterspender-Angehen wird 1 in X dazugezählt und
     \ der Wert von X auf dem Bildschirm angezeigt (@false).
     \ Nach dem 20. Pellet geht das Licht nach 1 s bei S7 aus (@true).
     0.1": ADD X ; IF X=20 [@true,@false]
           @true: ---> S7
           @false: show 1, pellet, x ---> S4

S7,
     1.0": off^hellesLicht ---> stopabortflush

```

### 9.1.2 Habituation des CRF für RT- und PR-Aufgaben - KOND 2

```

^LinkeTaste=1
^RechteTaste=2      \                KOND2
^Feeder=3
^gedimmtesLicht=4  \ über Futterloch
^hellesLicht=5     \ über Futterloch
^linkesLicht=6    \ über Taste
^Hauslicht=7

```

S.S.1,

S1, \ Nach 0,1 s wird die linke Taste ausgefahren.

```
0.1": ON^LinkeTaste ---> S2
```

S2, \ Nach 1 min geht das Futterlicht an.

```
60.0": ON^hellesLicht ---> S3
```

S3, \ Wenn die linke Taste gedrückt wird, geht der Futterspender an.

```
#R^LinkeTaste: ON^Feeder ---> S4
```

S4, \ Futterspender geht nach 100 ms aus.

```
0.1": OFF^Feeder ---> S5
```

S5, \ Für jedes Mal Tastedrücken wird 1 in X dazugezählt und

\ der Wert von X auf dem Bildschirm angezeigt.

\ Nach dem 20. Mal geht nach 1 min das Licht bei S6 aus und

\ fährt die linke Taste nach 3 min bei S7 ein (@true).

```
0.1": ADD X ; IF X=20 [@true,@false]
```

```
@true: ---> S6
```

```
@false: show 1, Versuche, x ---> S3
```

S6,

```
60.0": OFF^hellesLicht ---> S7
```

S7,

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

### 9.1.3 Habituation des CRF für RT-Aufgabe - KOND 3

```

^LinkeTaste=1
^RechteTaste=2                      Kond3
^Feeder=3
^gedimmtesLicht=4 \ über Futterloch
^hellesLicht=5    \ über Futterloch
^linkesLicht=6   \ über Taste
^Hauslicht=7

```

S.S.1,

S1, \ Nach 1 s geht das Futterlicht an.

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

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

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

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

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

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

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

S5, \ Das linke Licht und der Futterspender gehen nach 500 ms aus.

```
.5": OFF^linkesLicht; OFF^Feeder ---> S6
```

S6, \ Für jedes Mal Tastedrücken wird 1 in X dazugezählt und

\ der Wert von X auf dem Bildschirm angezeigt.

\ Nach dem 20. Mal fährt die linke Taste ein und geht

\ bei S6 das Futterlicht aus (@true).

```
0.1": ADD X ; IF X=20 [@true,@false]
      @true: OFF^LinkeTaste ---> S7
      @false: show 1, Versuche, x ---> S3
```

S7,

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

### 9.1.4 Testprogramm der RT-Aufgabe (Variante A) - LernenA<sup>9</sup>

```

^LinkeTaste=1      \ Input und Output
^RechteTaste=2    \ Input und Output
^Sensor=3         \ Input
^Feeder=3         \ Output
^Schalter=4       \ Input
^gedimmtesLicht=4 \ über Futterloch: Output
^hellesLicht=5    \ über Futterloch: Output
^linkesLicht=6   \ über Taste: Output
^Hauslicht=7     \ Output
dim D = 30        \ MTs bei korrekten Antworten bei gedimtem Licht
dim E = 120       \ RTs bei verfrühten Fehlern bei gedimtem Licht
dim F = 30        \ RTs bei korrekten Antworten bei gedimtem Licht
dim G = 150       \ alle RTs bei gedimtem Licht
dim K = 30        \ MTs bei korrekten Antworten bei hellem Licht
dim L = 120       \ RTs bei verfrühten Fehlern bei hellem Licht
dim M = 30        \ RTs bei korrekten Antworten bei hellem Licht
dim N = 150       \ alle RTs bei hellem Licht
List P = 4,5      \ Zuordnung der Lichthelligkeiten
dim R = 300       \ Ausgabeliste der ausgewählten Lichthelligkeiten
dim U = 300       \ alle RTs
dim Z = 300       \ alle MTs

S.S.1,
S1, \ Wenn die Tür geschlossen wird, wird die Lichthelligkeit
    \ für 1. Versuchsdurchgang zufällig ausgesucht.
    #R^Schalter: RANDD Q=P; SET R(S+1)=Q ---> S2

S2, \ Der Versuch wird nach 60 richtigen Durchgängen beendet (@true),
    \ ansonsten
    \ geht am Anfang von jedem Durchgang nach 3 s das zufällig
    \ ausgewählte Licht
    \ an (@false).
3.0": ON Q; if Q=5 [@hell,@gedimmt]
    @hell: ON^Hauslicht; if (J>=30) and (C>=30) [@true,@false]
        @true: ---> stopabortflush
        @false: ---> S3
    @gedimmt: if (J>=30) and (C>=30) [@true,@false]
        @true: ---> stopabortflush
        @false: ---> S3

S3, \ Nach 2 s wird die linke Taste ausgefahren.
2.0": ON^LinkeTaste ---> S4

S4, \ Wenn die linke Taste gedrückt wird, wird zur Anzahl der Durchgänge
    \ 1 dazugezählt und auf dem Bildschirm angezeigt.
    #R^LinkeTaste: ADD S; SHOW 5, Versuche, S ---> S5

S5, \ Solange die linke Taste gedrückt ist, wird die Zeit in "X" im 10 ms
    \ Takt gezählt. Falls X >= 300 ms wird X=0 gesetzt, das linke Licht
    \ angeschaltet, die Reaktionszeit in t gemessen (@Response), und der
    \ Z1-Puls nach S.S.2 geschickt; ansonsten wird weiter in "X" bis
    \ X>=300
    \ gezählt (@NoResponse).
    \ Falls die Ratte verfrüht die Taste losläßt, wird nach 20 ms der
    \ Fehler
    \ bei gedimtem Licht in "B" und die entsprechende RT in E(B) und
    \ G(A+B+C)

```

---

<sup>9</sup> Verändert nach Programm von Christian Giertler

```

\ (@ERRORgedimmt), bei hellem Licht in "I" und die entsprechende RT
\in L(I)
\ und N(H+I+J) (@ERRORhell) und in beiden Fällen die RT in U(S)
\geschrieben
\ und anschließend X=0 gesetzt.
#R^LinkeTaste: ADD X; IF X >= 30 [@Response,@NoResponse]
                @Response: SET X=0; ON^LinkesLicht;
                    SET t=0; Z1; SET Y=0; Z3 ---> S6
                @NoResponse: ---> S5

.02": IF Q=4 [@ERRORgedimmt,@ERRORhell]
        @ERRORgedimmt: ADD B; SHOW 2, ERRged, B; SET E(B)=X*10;
            SET G(A+B+C)= X*10; SET U(S)=X*10; SET X=0 ---> S7
        @ERRORhell: ADD I; SHOW 4, ERRhel, I; SET L(I)=X*10;
            SET N(H+I+J)=X*10; SET U(S)=X*10; SET X=0 ---> S7

S6, \ Falls die linke Taste gedrückt ist, in State S6 bleiben.
    \ Falls die Ratte die linke Taste innerhalb von 100 ms losläßt, wird
    \der Fehler bei gedimmtem Licht in "B" und die entsprechende RT in
    \ E(B) und G(A+B+C)
    \(@ERRORgedimmt), bei normalem Licht in "I" und die entsprechende RT
    \in L(I) und N(H+I+J) (@ERRORhell) und in beiden Fällen die RT in
    \U(S) geschrieben.
    \ Falls die linke Taste richtig losgelassen wird, geht nach 10 ms der
    \Feeder an, das linke Licht geht aus. Falls das Licht gedimmt ist
    \(@REWARDgedimmt), wird für den Erfolg bei "C" 1 dazugezählt und die
    \RT in F(C) und G(A+B+C) geschrieben (in ms). Falls das Licht hell
    \ist (@REWARDhell), wird für den Erfolg bei "J" 1 dazugezählt und
    \die RT in M(J) und N(H+I+J) geschrieben (in ms). Beim Z2-Puls (wenn
    \Ratte nach 2000 ms immer noch auf Taste ist), \wird das Licht
    \ausgeschaltet, bei gedimmtem Licht wird der Fehler in "A"
    \ (@DELAYgedimmt), bei hellem Licht in "H" (@DELAYhell) dazugezählt.
#R^LinkeTaste ---> S6
.01": ON^Feeder; OFF^LinkesLicht;
    if Q=4 [@REWARDgedimmt,@REWARDhell]
        @REWARDgedimmt: ADD C; SHOW 1, REWged, C; SET F(C)=300+(t*10);
            SET G(A+B+C)=300+(t*10); SET U(S)=300+(t*10) --->S8
        @REWARDhell: ADD J; SHOW 3, REWhel, J; SET M(J)=300+(t*10);
            SET N(H+I+J)=300+(t*10); SET U(S)=300+(t*10) ---> S8
#Z2: OFF^LinkesLicht; if Q=4 [@DELAYgedimmt,@DELAYhell]
        @DELAYgedimmt: ADD A;
            SET G(A+B+C)=2305; SET U(S)=2305 --->S7
        @DELAYhell: ADD H;
            SET N(H+I+J)=2305; SET U(S)=2305 ---> S7

S7, \ Bestrafung: Ausgewähltes Licht und Hauslicht gehen aus, linke Taste
    \fährt ein.
1.0": OFF Q; OFF^LinkeTaste; OFF^Hauslicht ---> S2

S8, \Wenn der Sensor anspricht, wird die gemessene Bewegungszeit in Z(S),
    \bei gedimmtem Licht zusätzlich in D(C) und bei hellem Licht in K(J)
    \geschrieben.
#R^Sensor: SET Z(S)=(Y*10)-U(S)+300; if Q=4 [@REWARDgedimmt,@REWARDhell]
                @REWARDgedimmt: SET D(C)=(Y*10)-
U(S)+300 ---> S9
                @REWARDhell: SET K(J)=(Y*10)-
U(S)+300 ---> S10

#Z4: SET Z(S)= 3005; if Q=4 [@REWARDgedimmt,@REWARDhell]
        @REWARDgedimmt: ---> S9
        @REWARDhell: ---> S10

S9, \ Feeder wird nach 100 ms bei gedimmtem Licht ausgeschaltet.
.10": OFF^Feeder ---> S19

```

```

S10, \ Feeder wird nach 100 ms nach 1. Pellet bei hellem Licht
      \ ausgeschaltet.
      .10": OFF^Feeder ---> S11

S11, \ Feeder wird nach 100 ms für 2. Pellet bei hellem Licht
      \ eingeschaltet.
      .10": ON^Feeder ---> S12

S12, \ Feeder wird nach 100 ms nach 2. Pellet bei hellem Licht
      \ ausgeschaltet.
      .10": OFF^Feeder ---> S13

S13, \ Feeder wird nach 100 ms für 3. Pellet bei hellem Licht
      \ eingeschaltet.
      .10": ON^Feeder ---> S14

S14, \ Feeder wird nach 100 ms nach 3. Pellet bei hellem Licht
      \ ausgeschaltet.
      .10": OFF^Feeder ---> S15

S15, \ Feeder wird nach 100 ms für 4. Pellet bei hellem Licht
      \ eingeschaltet.
      .10": ON^Feeder ---> S16

S16, \ Feeder wird nach 100 ms nach 4. Pellet bei hellem Licht
      \ ausgeschaltet.
      .10": OFF^Feeder ---> S17

S17, \ Feeder wird nach 100 ms für 5. Pellet bei hellem Licht
      \ eingeschaltet.
      .10": ON^Feeder ---> S18

S18, \ Feeder wird nach 100 ms nach 5. Pellet bei hellem Licht
      \ ausgeschaltet.
      .10": OFF^Feeder ---> S19

S19, \ Ausgewähltes Licht und Hauslicht gehen nach 800 ms aus, linke Taste
      \ fährt ein.
      .8": OFF Q; OFF^Hauslicht; OFF^LinkeTaste ---> S20

S20, \ Der Versuch wird nach 50 richtigen Durchgängen beendet
      \ (@true/@stop), wenn nur 25 helle oder 25 gedimmte Richtige geht am
      \ Anfang von jedem Durchgang nach 200 ms das entsprechend andere Licht
      \ an und die linke Taste wird ausgefahren(@true/@go) bei S20,
      \ ansonsten geht am Anfang von jedem Durchgang nach 200 ms das
      \ zufällig ausgewählte Licht an und die linke Taste wird ausgefahren
      \ (@false).
      3.0": if (J>=30) or (C>=30) [@true,@false]
            @true: if (J>=30) and (C>=30) [@stop,@go]
                  @stop: ---> stopabortflush
                  @go: ---> S21
            @false: RANDD Q=P; SET R(S+1)=Q;
                   ON Q; if Q=5 [@hell,@gedimmt]
                       @hell: ON^Hauslicht ---> S3
                       @gedimmt: ---> S3

S21, \
      3.0": if (J>=30) [@hell,@gedimmt]
            @hell: SET Q=4; ON Q ---> S3
            @gedimmt: SET Q=5; ON Q; ON^Hauslicht ---> S3

S.S.2,
S1, \ Auf Z1-Puls von S.S.1, S5 warten.

```

```
#Z1: ---> S2
```

```
S2, \ Bei verspäteter Antwort wird nach 2000 ms ein Z2-Puls zu  
    \ S.S.1, S6 gesendet (@zulang).
```

```
.01": ADD t; IF t <= 200 [@time,@zulang]  
        @time: ---> S2  
        @zulang: Z2 --->S1
```

```
S.S.3,
```

```
S1, \ Auf Z3-Puls von S.S.1, S5 warten.
```

```
#Z3: ---> S2
```

```
S2, \ Bei sehr langsamem Fressen (langer MT) wird nach 3000 ms ein Z4-  
    \Puls
```

```
    \ zu S.S.1, S8 gesendet (@zusatt).  
.01": ADD Y; IF Y <= 300 [@hungrig,@zusatt]  
        @hungrig: ---> S2  
        @zusatt: Z4 --->S1
```

### 9.1.5 Testprogramm der RT-Aufgabe (Variante B) - LernenB<sup>10</sup>

```

^LinkeTaste=1      \ Input und Output
^RechteTaste=2    \ Input und Output
^Sensor=3         \ Input
^Feeder=3        \ Output
^Schalter=4       \ Input
^gedimmtesLicht=4 \ über Futterloch: Output
^hellesLicht=5    \ über Futterloch: Output
^linkesLicht=6   \ über Taste: Output
^Hauslicht=7     \ Output
dim D = 30       \ MTs bei korrekten Antworten bei gedimmtem Licht
dim E = 120      \ RTs bei verfrühten Fehlern bei gedimmtem Licht
dim F = 30       \ RTs bei korrekten Antworten bei gedimmtem Licht
dim G = 150      \ alle RTs bei gedimmtem Licht
dim K = 30       \ MTs bei korrekten Antworten bei hellem Licht
dim L = 120      \ RTs bei verfrühten Fehlern bei hellem Licht
dim M = 30       \ RTs bei korrekten Antworten bei hellem Licht
dim N = 150      \ alle RTs bei hellem Licht
List P = 4,5     \ Zuordnung der Lichthelligkeiten
dim R = 300      \ Ausgabeliste der ausgewählten Lichthelligkeiten
dim U = 300      \ alle RTs
dim Z = 300      \ alle MTs

S.S.1,
S1, \ Wenn die Tür geschlossen wird, wird die Lichthelligkeit
    \ für 1. Versuchsdurchgang zufällig ausgesucht.
    #R^Schalter: RANDD Q=P; SET R(S+1)=Q ---> S2

S2, \ Der Versuch wird nach 60 richtigen Durchgängen beendet (@true),
    \ ansonsten geht am Anfang von jedem Durchgang nach 3 s das zufällig
    \ ausgewählte Licht an (@false).
3.0": ON Q; if Q=5 [@hell,@gedimmt]
    @hell: ON^Hauslicht; if (J>=30) and (C>=30) [@true,@false]
        @true: ---> stopabortflush
        @false: ---> S3
    @gedimmt: if (J>=30) and (C>=30) [@true,@false]
        @true: ---> stopabortflush
        @false: ---> S3

S3, \ Nach 2 s wird die linke Taste ausgefahren.
2.0": ON^LinkeTaste ---> S4

S4, \ Wenn die linke Taste gedrückt wird, wird zur Anzahl der Durchgänge
    \ 1 dazugezählt und auf dem Bildschirm angezeigt.
#R^LinkeTaste: ADD S; SHOW 5, Versuche, S ---> S5

S5, \ Solange die linke Taste gedrückt ist, wird die Zeit in "X" im 10 ms
    \ Takt gezählt. Falls X >= 300 ms wird X=0 gesetzt, das linke Licht
    \ angeschaltet, die Reaktionszeit in t gemessen (@Response), und der
    \ Z1-Puls nach S.S.2 geschickt; ansonsten wird weiter in "X" bis
    \ X>=300 gezählt (@NoResponse).
    \ Falls die Ratte verfrüht die Taste losläßt, wird nach 20 ms der
    \ Fehler bei gedimmtem Licht in "B" und die entsprechende RT in E(B)
    \ und G(A+B+C) (@ERRORgedimmt), bei hellem Licht in "I" und die
    \ entsprechende RT in L(I) und N(H+I+J) (@ERRORhell) und in beiden
    \ Fällen die RT in U(S) geschrieben und anschließend X=0 gesetzt.
#R^LinkeTaste: ADD X; IF X >= 30 [@Response,@NoResponse]

```

---

<sup>10</sup> Verändert nach Programm von Christian Giertler

```

@Response: SET X=0; ON^LinkesLicht;
           SET t=0; Z1; SET Y=0; Z3 ---> S6
@NoResponse: ---> S5

.02": IF Q=4 [@ERRORgedimmt,@ERRORhell]
      @ERRORgedimmt: ADD B; SHOW 2, ERRged, B; SET E(B)=X*10;
                      SET G(A+B+C)= X*10; SET U(S)=X*10; SET X=0 ---> S7
      @ERRORhell: ADD I; SHOW 4, ERRhel, I; SET L(I)=X*10;
                  SET N(H+I+J)=X*10; SET U(S)=X*10; SET X=0 ---> S7

S6,   \ Falls die linke Taste gedrückt ist, in State S6 bleiben.
      \ Falls die Ratte die linke Taste innerhalb von 100 ms losläßt, wird
      \ der Fehler bei gedimmtem Licht in "B" und die entsprechende RT in
      \ E(B) und G(A+B+C) (@ERRORgedimmt), bei normalem Licht in "I" und die
      \ entsprechende RT in L(I) und N(H+I+J) (@ERRORhell) und in beiden
      \ Fällen die RT in U(S) geschrieben. Falls die linke Taste richtig
      \ losgelassen wird, geht nach 10 ms der Feeder an, das linke Licht
      \ geht aus. Falls das Licht gedimmt ist (@REWARDgedimmt), wird für den
      \ Erfolg bei "C" 1 dazugezählt und die RT in F(C) und G(A+B+C)
      \ geschrieben (in ms). Falls das Licht hell ist (@REWARDhell), wird
      \ für den Erfolg bei "J" 1 dazugezählt und die RT in M(J) und N(H+I+J)
      \ geschrieben (in ms). Beim Z2-Puls (wenn Ratte nach 2000 ms immer noch
      \ auf Taste ist), wird das Licht ausgeschaltet, bei gedimmtem Licht
      \ wird der Fehler in "A" (@DELAYgedimmt), bei hellem Licht in "H"
      \ (@DELAYhell) dazugezählt.
#R^LinkeTaste ---> S6
.01": ON^Feeder; OFF^LinkesLicht;
      if Q=4 [@REWARDgedimmt,@REWARDhell]
      @REWARDgedimmt: ADD C; SHOW 1, REWged, C; SET F(C)=300+(t*10);
                      SET G(A+B+C)=300+(t*10); SET U(S)=300+(t*10) --->S8
      @REWARDhell: ADD J; SHOW 3, REWhel, J; SET M(J)=300+(t*10);
                  SET N(H+I+J)=300+(t*10); SET U(S)=300+(t*10) --->S8

#Z2: OFF^LinkesLicht; if Q=4 [@DELAYgedimmt,@DELAYhell]
      @DELAYgedimmt: ADD A;
                      SET G(A+B+C)=2305; SET U(S)=2305 --
-> S7
      @DELAYhell: ADD H;
                  SET N(H+I+J)=2305; SET U(S)=2305 --
-> S7

S7,   \ Bestrafung: Ausgewähltes Licht und Hauslicht gehen aus, linke Taste
      \ fährt ein.
1.0": OFF Q; OFF^LinkeTaste; OFF^Hauslicht ---> S2

S8,   \ Wenn der Sensor anspricht, wird die gemessene Bewegungszeit in Z(S),
      \ bei gedimmtem Licht zusätzlich in D(C) und bei hellem Licht in K(J)
      \ geschrieben.
#R^Sensor: SET Z(S)=(Y*10)-U(S)+300; if Q=4 [@REWARDgedimmt,@REWARDhell]
          @REWARDgedimmt: SET D(C)=(Y*10)-
U(S)+300 ---> S10
          @REWARDhell: SET K(J)=(Y*10)-
U(S)+300 ---> S9

#Z4: SET Z(S)= 3005; if Q=4 [@REWARDgedimmt,@REWARDhell]
      @REWARDgedimmt: ---> S10
      @REWARDhell: ---> S9

S9,   \ Feeder wird nach 100 ms bei gedimmtem Licht ausgeschaltet.
1.0": OFF^Feeder ---> S19

S10,  \ Feeder wird nach 100 ms nach 1. Pellet bei hellem Licht
      \ ausgeschaltet.

```

```

.10": OFF^Feeder ---> S11

S11, \ Feeder wird nach 100 ms für 2. Pellet bei hellem Licht
     \eingeschaltet.
.10": ON^Feeder ---> S12

S12, \ Feeder wird nach 100 ms nach 2. Pellet bei hellem Licht
     \ausgeschaltet.
.10": OFF^Feeder ---> S13

S13, \ Feeder wird nach 100 ms für 3. Pellet bei hellem Licht
     \eingeschaltet.
.10": ON^Feeder ---> S14

S14, \ Feeder wird nach 100 ms nach 3. Pellet bei hellem Licht
     \ausgeschaltet.
.10": OFF^Feeder ---> S15

S15, \ Feeder wird nach 100 ms für 4. Pellet bei hellem Licht
     \eingeschaltet.
.10": ON^Feeder ---> S16

S16, \ Feeder wird nach 100 ms nach 4. Pellet bei hellem Licht
     \ausgeschaltet.
.10": OFF^Feeder ---> S17

S17, \ Feeder wird nach 100 ms für 5. Pellet bei hellem Licht
     \eingeschaltet.
.10": ON^Feeder ---> S18

S18, \ Feeder wird nach 100 ms nach 5. Pellet bei hellem Licht
     \ausgeschaltet.
.10": OFF^Feeder ---> S19

S19, \ Ausgewähltes Licht und Hauslicht gehen nach 1200 ms aus, linke
     \Taste fährt ein.
.8": OFF Q; OFF^Hauslicht; OFF^LinkeTaste ---> S20

S20, \ Der Versuch wird nach 50 richtigen Durchgängen beendet
     \ (@true/@stop), wenn nur 30 helle oder 30 gedimmte Richtige geht am
     \Anfang von jedem Durchgang nach 200 ms das entsprechend andere Licht
     \an und die linke Taste wird ausgefahren(@true/@go) bei S20,
     \ansonsten geht am Anfang von jedem Durchgang nach 200 ms das
     \zufällig ausgewählte Licht an und die linke Taste wird ausgefahren
     \ (@false).
3.0": if (J>=30) or (C>=30) [@true,@false]
      @true: if (J>=30) and (C>=30) [@stop,@go]
            @stop: ---> stopabortflush
            @go: ---> S21
      @false: RANDD Q=P; SET R(S+1)=Q;
            ON Q; if Q=5 [@hell,@gedimmt]
                  @hell: ON^Hauslicht ---> S3
                  @gedimmt: ---> S3

S21, \
3.0": if (J>=30) [@hell,@gedimmt]
      @hell: SET Q=4; ON Q ---> S3
      @gedimmt: SET Q=5; ON Q; ON^Hauslicht ---> S3

S.S.2,
S1, \ Auf Z1-Puls von S.S.1, S5 warten.

```

```
#Z1: ---> S2
```

```
S2, \ Bei verspäteter Antwort wird nach 2000 ms ein Z2-Puls zu  
    \ S.S.1, S6 gesendet (@zulang).
```

```
.01": ADD t; IF t <= 200 [@time,@zulang]  
        @time: ---> S2  
        @zulang: Z2 --->S1
```

```
S.S.3,
```

```
S1, \ Auf Z3-Puls von S.S.1, S5 warten.
```

```
#Z3: ---> S2
```

```
S2, \ Bei sehr langsamem Fressen (langer MT) wird nach 3000 ms ein Z4-  
    \Puls zu S.S.1, S8 gesendet (@zusatt).
```

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

### 9.1.6 Habituation des CRF für PR-Aufgabe - CRF

```

\CRF - Dauer 30 min
^Hauslicht=7
^LinkeTaste=1
^Feeder=3
^Schalter=4
^Futterlicht=5          \Output
^Sensor=3
dim G = 500   \timer RT

S.S.1, \1. Unterprogramm
S1,   \wenn Tür zu ist, geht das Hauslicht an
      #R^Schalter: on^Hauslicht ---> S2

S2,
  0.5": on^LinkeTaste ---> S3

S3,
  #R^LinkeTaste: add x; add i; show 1, Hebel, i ---> S4

S4,
  #R^LinkeTaste: --->S4
  0.01": on^Futterlicht ---> S5

S5,
  0.1": if x =1 [@true,@false]
        @true: set l=0; on^Futterlicht; z1; on^feeder; set X=0; add y; show
2, reward, y ---> s6
        @false: ---> S3

S6,
  0.1": Off^feeder ---> S7

s7,
#R^Sensor: off^futterlicht; set G(y)=1*10 --->s2
#z2: off^Futterlicht; set G(y)=3005 --->s2

S.S.2,
s1,
#z1: ---> s2

s2,
0.01": add l; if l<=300 [@hungrig, @satt]
      @hungrig: --->s2
      @satt: z2 --->s1

S.S.3,
S1,
  #R^Schalter ---> S2
S2,
  30':off^Hauslicht ---> Stopabortflush

```

### 9.1.7 Testprogramm der PR-Aufgabe - PR9

```

^LinkeTaste = 1          \Input und Output      Progressive ratio schedule
^Sensor=3               \Input
^Feeder=3               \Output
^Schalter=4            \Input
^Futterlicht=5         \Output
^Hauslicht=7           \Output
\Variablen
\a = total lever press count
\b = total reward count
\c = perseverative lever press count
\d = current FR value
\e = current lever press count
\f = trial number within group of three
\i = Trial(f)timer
\x = RT timer
\z = no lever press timer
dim G = 150             \Reaktionszeit von Futterlicht an bis Schnauze in
Futterraufe
dim H = 150             \Zeit pro Trialdurchgang
dim R = 100             \Ausgabe der FR_Val
dim J = 100             \Perseverative Lever Presses/Trial

s.s.1, \ Hauptprogramm
S1, \wenn Tür geschlossen wird starte das Programm, Hauslicht angeschaltet
  #R^Schalter: on^Hauslicht---> s2

s2,      \nach 0,5 sec wird die LinkeTaste ausgefahren
  0.5": on^LinkeTaste --->s3

s3, \Warte bis die LinkeTaste gedrückt wird und zähle die Hebeldrücke und
  \bilde sie auf dem Bildschirm ab
  #R^LinkeTaste: set i=0; z5; add a, e; show 4, TLP, a; show 1, CLP, e ---
> s4

s4, \warte bis linkeTaste losgelassen wird
  #R^LinkeTaste: --->s4
  0.01":set z=0; z1 ---> S5

s5,      \wenn Taste gedrückt wurde, gebe Pellet und zähle Anzahl der
  \Belohnungen
  0.1": if e=1 [@true,@false]
    @true: set x=0; on^Futterlicht; z3; on^Feeder; set e=0, d=1;
          add b; show 2, reward, b; z2 --->s6
    @false: --->s3

s6, \schließe Feeder
  0.1": off^feeder; add f; add k--->s7

s7, \wenn Ratte ins Futterloch schaut, mache das Futterlicht aus
  #R^Sensor: set J(b+1)=c; off^futterlicht ; set G(B)=x*10--->s8
  #z4: off^Futterlicht; set G(B)=10005 --->s8

s8, \Zählung der trials, wenn 3 vollendet, dann weiter und FR-Val anzeigen
  0.01":if f=3 [@true1, @false1]
    @true1: set H(k)=i*10, R(b+1)=d; set f=0, d=5; show 5, FR_Val, d --->s9
    @false1:set H(k)=i*10, R(b+1)=d ---> s3

s9,
  #R^LinkeTaste: set i=0; z5; add a; show4, TLP, a; add e; show 1, CLP, e -
--> s10

```

```

s10,
  #R^LinkeTaste: ---->s10
  0.01":set z=0; z1---->s11

s11,
  0.1": if e=d [@true,@false]
  @true: on^Futterlicht;set x=0; z3; on^Feeder; set e=0, c=0;
        add b; show 2, reward, b; Z2 ---->s12
  @false: ---->s9

s12, \schlieÙe Feeder
  0.1": off^feeder; add f; add k---->s13

s13, \wenn Ratte ins Futterloch schaut, mache das Futterlicht aus
  #R^Sensor: set J(b+1)=c; off^futterlicht; set G(B)=x*10---->s14
  #z4: off^Futterlicht; set G(B)=10005 ---->s14

s14, \
  0.01":if f=3 [@true2, @false2]
  @true2: set H(k)=i*10, R(b+1)=d; set f=0, d=d+5; show 5, FR_Val, d ---
>s9
  @false2: set H(k)=i*10, R(b+1)=d ----> s9

S.S.2,
s1,
#z1: ---->s2

s2,
1":add z; if z<=300 [@response, @laterresponse]
@response: ---->s2
@laterresponse:off^LinkeTaste; off^Hauslicht ---->stopabortflush

S.S.3,
S1,
#z2: ---->s2

s2,
#R^LinkeTaste: add c; show 3, PLP, c ---->s3
#R^Sensor: set c=0---->s1

S3,
#R^LinkeTaste: ---->s3
  0.01": ----> s2

s.s.4,
s1,
  #z3: ---->s2

s2,
  0.01": add x; if x<=1000 [@hungrig, @satt]
        @hungrig: ---->s2
        @satt: z4 ---->s1

s.s.5,
s1,
  #z5: ---->s2

s2,
  0.01": add i; if i<=49995 [@trial, @notrial]
        @trial: ---->s2
        @notrial: ---->s1

```

s.s.7,

S1,

#R^Schalter ---> S2

S2,

90':off^linketaste; off^Hauslicht ---> Stopabortflush

### 9.1.8 Habituation für Flüssigkeitsbelohnung - VMKOND

\Konditionierung für Flüssigbelohnung VMKOND

\Inputs und Outputs

^linkeTaste=1  
^rechteTaste=2

\Inputs

^Sensor=3  
^Schalter=4

\Outputs

^Pumpelinks=3  
^Pumperechts=4  
^Lichtlinks=5  
^Lichtrechts=6  
^Hauslicht=7  
^Futterlicht=8  
List G=1,2,3,4  
dim R=200

S.S.1,

S1, \Programm startet nachdem Tür geschlossen wird.

#R^Schalter: on^hausLicht; randdQ=G; set R(s)=Q ---> S2

S2, \ nach 3 Sekunden geht die jeweilige Pumpe an

3": if Q<=2 [@rechts, @links]  
@rechts: on^Pumperechts; add a; on^Futterlicht ---> S3  
@links: on^Pumpelinks; add b; on^Futterlicht ---> S6

S3, \ rechte Pumpe geht nach 500 ms aus

1.0": off^Pumperechts ---> S4

S4, \wenn Belohnung abgeholt wird, wird diese angezeigt.

#R^sensor: off^FUTTERLICHT; add c, f; show 1, rewRE, c; show5, rewGES, f  
f---> S5

S5, \Auswahl der Pumpe

3": randdQ=G; set R(s)=Q --->s2

S6, \ linke Pumpe geht nach 500 ms aus

1.0": off^Pumpelinks; ---> S7

S7, \wenn Belohnung abgeholt wird, zeige diese an und Futterlich aus!

#R^sensor: off^Futterlicht; add e, f; show 2, rewLI, e; show5, rewGES, f  
---> S8

s8, \Auswahl der Pumpe

3": randdQ=G; set R(s)=Q --->s2

S.S.2 \Programm endet nach 30 min

S1,

#R^Schalter: --->s2

S2,

30': off^Pumperechts; off^Pumpelinks; off^Hauslicht ---> stopabortflush

### 9.1.9 Habituation für Flüssigkeitsbelohnung - VM1

```

\Konditionierung für Flüssigbelohnung
\Inputs und Outputs
^linkeTaste=1
^rechteTaste=2

\Inputs

^Sensor=3
^Schalter=4

\Outputs

^Pumpelinks=3
^Pumperechts=4
^Lichtlinks=5
^Lichtrechts=6
^Hauslicht=7
^Futterlicht=8

S.S.1,

S1,
  #R^Schalter: on^hausLicht; on^linkeTaste; on^rechteTaste --->S2

S2, \wenn linke Taste gedrückt wird
  #R^linkeTaste: --->S3
  #R^rechteTaste: --->S7

s3, \warte bis linkeTaste losgelassen wird
  #R^LinkeTaste: --->s3
  0.01": ---> S4

S4, \Pumpe und Futterlicht gehen an, Anzahl Belohnung wird angezeigt.
  0.1":on^Pumpelinks; on^Futterlicht; add a; show 1, rewLi, a ---> S5

S5, \linke Pumpe geht nach 500 ms aus
  1.0": off^Pumpelinks; ---> S6

S6, \wenn Belohnung abgeholt wird, zeige diese an und Futterlicht aus!
  #R^sensor: off^Futterlicht ---> S2

s7, \warte bis rechte Taste losgelassen wird
  #R^rechteTaste: --->s7
  0.01": ---> S8

S8, \Pumpe und Futterlicht gehen an, Anzahl Belohnung wird angezeigt.
  0.1":on^Pumperechts; on^Futterlicht; add b; show 2, rewre, b ---> S9

S9, \linke Pumpe geht nach 500 ms aus
  1.0": off^Pumperechts; ---> S6

S.S.2 \Unterschleife, Programm endet 30 min nach Tür schließen
S1,
  #R^Schalter: --->s2

S2,
  30':off^Hauslicht ---> stopabortflush

```

### 9.1.10 Habituation für Flüssigkeitsbelohnung - VM100B

```

\trainings programme

\Inputs and Outputs
^leftLever=1
^rightLever=2

\Inputs
^Sensor=3
^Switch=4

\Outputs
^Pumpleft=3
^Pumpright=4
^Lightleft=5
^Lightright=6
^centrallight=7
^Traylight=8

List G=1,2,3,4
dim R=105
\ a = amount of rewards left
\ b = amount of rewards right
\ f = amount of all rewards
\ G = assignment of lever
\ k = time loop right
\ l = time loop left
\ Q = lever selection

S.S.1,
S1, \ centrallight is illuminated, lever assignment, documentation of
lever assignment

#R^Switch: on^centrallight; randd Q=G; set R(f+1)=Q ----> S2

S2, \ if Q is less than 2, insert rightlever, if not insert left
\ lever, sent z1 to stateset 3 and z3-Pulse
\ to stateset 4
1.5": if Q<=2 [@right, @left]
@right: on^rightLever; z1 ----> S3
@left: on^leftLever; z3 ----> S9
#z2: setk=0;on^centrallight ---->s2
#z4: setl=0;on^centrallight ---->s2

S3, \ wait for lever press

#R^rightLever: set K=0 ---->S4

S4, \wait for lever release

#R^rightLever: ---->s4
0.01": ----> S5

S5, \turn on liquid pump and traylight
0.1":on^Pumpright; on^traylight ----> S6

S6, \ turn off liquid pump
0.5": off^Pumpright ----> S7

```

```

S7, \when animal collects reward turn off traylight and show number of
reward, turn off lever and central light
  #R^sensor: off^traylight; add b, f; show 1, rewRE, b; show5, rewGES, f;
off^rightLever; off^centrallight ---> S8

S8, \choose lever, after 100 trials stop programme
  2": if f<=100 [@go, @stop]
    @go: on^centrallight; randdQ=G; set R(f)=Q --->s2
    @stop: off^rightLever; off^centrallight --->stopabortflush

s9, \ wait for lever press
  #R^leftLever: set l=0 --->S10

s10, \wait for lever release
  #R^leftLever: --->s10
  0.01":off^lightlinks ---> S11

s11,\turn on liquid pump and traylight
  0.1":on^Pumpleft; on^traylight --->s12

s12,\ turn off liquid pump
  0.5": off^Pumpleft; ---> S13

s13, \when animal collects reward turn off traylight and show number of
reward, turn off lever and central light
  \wenn Belohnung abgeholt wird, zeige diese an und Futterlich aus!
  #R^sensor: off^traylight; add a, f; show 2, rewLI, a; show5, rewGES, f;
off^leftLever; off^centrallight ---> S14

S14, \choose lever, after 100 trials stop programme
  2": if f<=100 [@go, @stop]
    @go: on^centrallight; randdQ=G; set R(f)=Q --->s2
    @stop: off^leftLever; off^centrallight --->stopabortflush

S.S.2 \Programme stops after 45 min
S1,
  #R^Switch: --->s2

S2,
  30': off^rightLever; off^leftLever; off^centrallight ---> stopabortflush

s.s.3
s1, \wait for z1-pulse from stateset 1
#z1:--->s2

s2, \count 10 s, if after
1": addk; if k<=10 [@hungry, @satt]
  @hungrig: --->s2
  @satt:off^rightLever; off^centrallight; z2 --->s1

s.s.4
s1,
#z3:--->s2

s2,
1": addl; if l<=10 [@hungry, @satt]
  @hungrig: --->s2
  @satt:off^leftLever; off^centrallight; z4 --->s1

```

### 9.1.11 Testprogramme für Vanille-Milchexperiment (hohe Belohnung links) - CHPRL5a

```

\liquid reward; choice between two levers with FR on right hand lever,
\and PR on left hand lever          CHPRL5a

\Inputs and Outputs
^linkeTaste   = 1 \left lever
^rechteTaste  = 2 \right lever

\Inputs
^Sensor       = 3
^Schalter     = 4 \switch on operant chamber door

\Outputs
^Pumpelinks   = 3 \liquid pump left
^Pumperechts  = 4 \liquid pump right
^Lichtlinks   = 5 \light above left lever
^Lichtrechts  = 6 \light above right lever
^Hauslicht    = 7 \house light
^Futterlicht  = 8 \tray light

\a = number of reward left
\b = number of reward right
\c = total reward count
\d = number of required lever presses
\e = current lever press count
\f = trial number within group of 5
\v = trial count in forced trials
\x = timer
\u = timer
\y = timer
\z = timer

List G = 1,2
dim J = 74 \output of required lever presses
dim R = 74 \output of reward
dim K = 74 \out hebel bei forced trials
dim S = 74 \Fehlerart?
dim T = 74 \trial Zeit?

S.S.1
s1, \wait for switch or z1 pulse, randomize Q out of G, and set d and v;
    \at programme start d is one, later it increases in steps of 1

    #R^Schalter: on^hausLicht; randd Q=G; set k(c+1)=Q; set d=1, v=1 --->s3

S2,
    #z1: on^hausLicht; randdQ=G; set k(c)=Q; set d=d+1, e=0, v=1; show 3,
    req, d --->s3

s3, \Choice of lever
    2.5": if Q=2 [@rechts, @links]
        @rechts: on^linketaste; z7; z10 --->S4
        @links: on^rechtetaste; z5; z10 --->S10

S4, \ wait for lever press
#z8:--->s16
#R^linkeTaste: --->S5

S5, \wait for lever release

```

```

#R^linkeTaste: --->s5
0.01": add e, i; z7 --->S6

s6, \if number of lever press matches required number give reward
    \and turn on tray light, set number of lever presses to 0
    \else go back to S3
#z8:--->s16
0.2": if e=d [@truex, @falsex]
        @truex: z9; z11; on^Pumpelinks; on^Futterlicht; set e=0,
i=0 --->s7
        @falsex: --->s4

S7, \liquid pump turns off
0.5": off^Pumpelinks --->S8

S8, \if reward is collected tray light off, add reward and trial,
    \retract lever and turn off house light
#R^sensor: off^futterlicht; add c, v; set k(c)=1, R(c)=11; show5,
trial, c;
        off^linketaste; off^hauslicht --->S9

S9, \loop: if only one trial was performed go to the other
    \else go to state set 2 (main programme)
2.5":if v<=2 [@ja, @nein]
        @ja: --->s18
        @nein: set v=1, e=0; z2 --->s2

s10, \wait for lever press
#R^rechteTaste: --->S11
#z6:--->s18
s11, \wait for lever release
#R^rechteTaste: --->s11
0.01": ---> S12

S12, \liquid pump and tray light on
0.1": z11; on^Pumperechts; on^futterlicht --->S13

s13, \turn off liquid pump
0.5": off^Pumperechts --->S14

s14, \if reward is collected tray light off, add reward and trial,
    \retract lever and turn off house light
#R^sensor: off^Futterlicht; add c, v; set k(c)=2, R(c)=22; show5, trial,
c;
        off^rechtetaste; off^hauslicht --->S15

s15, \loop: if only one trial was performed go to the other
    \else go to state set 2 (main programme)
2.5":if v<=2 [@ja, @nein]
        @ja: --->s16
        @nein: set v=1, e=0; z2; z9 --->s2

s16,
25": set e=0; on^hauslicht --->s17

S17,
2.5": on^linketaste; z7 --->s4

S18,
25": set e=0; on^hauslicht --->s19

s19,
2.5": on^rechtetaste; z5 --->s10

```

```

S.S.2
S1, \wait for z2 from s.s.1
    #z2: --->s2

S2, \turn on house light
    2": set e=0; on^hauslicht --->s3

S3, \insert both levers
    2.5": on^linketaste; on^rechteTaste; z3; z10 --->s4

S4, \wait for lever press, then retract the other lever
    #z8: --->S2
    #R^linkeTaste: off^rechtetaste --->s8
    #R^rechtetaste: off^linketaste --->S5
    #z4: --->S2

s5, \wait for lever release and add lever press count
    #R^rechteTaste: --->s5
    0.01": --->s6

S6, \turn on tray light and give reward, add reward to right and total,
show this
    \retract lever and note reward (2 for right) in R
    0.1": z9; z11; on^futterlicht; on^pumperechts; add b, c; show 2, rewre,
b;
        show5, trial, c; off^rechtetaste; Set R(c)=2 --->s7

s7, \turn off liquid pump
    0.5": off^pumperechts --->s11

s8, \wait for lever release
    #R^linkeTaste: --->s8
    0.01": add e, i; z7--->s9

S9, \if lever press count matches required number turn on tray light and
give reward,
    \add reward to left reward and total reward count and show it on
display
    \retract lever and note reward (2 for right) in R and set current
lever press number = 0
    \else go back to s4
    #z8:--->s2
    0.2": if e=d [@true, @false]
        @true: z9; z11; on^futterlicht; on^pumpelinks; add a, c;
show 1, rewli, a;
        show5, trial, c; off^linketaste; Set R(c)=1; set e=0, i=0
--->s10
        @false:--->s4

s10, \turn off liquid pump
    0.5": off^pumpelinks--->S11

s11, \if reward is collect turn off tray light, add trial number and turn
off house light
    #R^sensor: off^Futterlicht; add f; off^hauslicht --->s12
s12, \if trial number is 5, check if required lever presses is 5 or less

```

```

\note required lever presses in J, set trial count = 0 and go to z1 in
S.S.1
\else stop programme
\if trial count is not 5, note required lever presses in J and go back
to S2
25": if f=5 [@true1, @false1]
        @true1: if d<5 [@yes,@no]
                @yes:set J(c)=d; set f=0; off^hauslicht;
z1; z9; set e=0 --->s1
                @no: off^hauslicht --->stopabortflush
        @false1: set J(c)=d--->s2

S.S.3

S1,
  #Z3: --->s2

S2,
  #z9: --->s1
0.1": add x; if x<=300 [@hungrig, @satt]
        @hungrig: --->s2
        @satt: off^linketaste; off^rechtetaste; off^hauslicht; add c, 1;
set R(c)=0;
        show4, FV, 1; show5, trial, c; set e=0; z11 --->s3

#R^linketaste:set x=0 --->s1
#R^rechtetaste:set x=0 --->s1

S3,
  25": set x=0; z4; z9 --->s1

S.S.4

S1,
  #Z5: --->s2

S2,
  #z9: --->s1
  0.1": add y; if y<=300 [@hungrig1, @satt1]
        @hungrig1: --->s2
        @satt1: off^rechtetaste; off^hauslicht; add c, 1; set R(c)=0;
show4, FV, 1;
        show5, trial, c; set e=0; z11 --->s3

#R^rechtetaste:set y=0 --->s1

S3,
  25": set y=0; z6; z9 --->s1

s.s.5

s1,
#z7: --->s2

S2,
  #z9: --->s1
  0.1": add z; if z<=300 [@hungrig2, @satt2]
        @hungrig2: --->s2
        @satt2: off^linketaste; off^hauslicht; add c, 1; set R(c)=0; show4,
FV, 1;
        show5, trial, c; set e=0, S(c)=i; z11 --->s3

#R^linketaste:set z=0 --->s1

```

```
S3,  
  25": set z=0, i=0; z8; z9 ---->s1  
  
s.s.6 \trial timer  
  
S1,  
  #Z10: ---->s2  
  
S2,  
  #z11: set t(c)=u*10; set u=0---->s1  
  0.1": add u; if u<=10000 [@trial, @notrial]  
    @trial: ---->s2  
    @satt1: set u=0 ---->s1  
  
s.s.7 \ Versuchszeit  
  
s1,  
  
#r^schalter:---->s2  
  
s2,  
  
45':off^linketaste; off^rechtetaste; off^hauslicht---->stopabortflush
```

### 9.1.12 Testprogramme für Vanille-Milchexperiment (hohe Belohnung rechts) - CHPRR5a

```

\liquid reward; choice between two levers with FR on right hand lever,
\and PR on right hand lever    CHPRR5a
\Inputs and Outputs

^linkeTaste    = 1 \left lever
^rechteTaste   = 2 \right lever

\Inputs

^Sensor        = 3
^Schalter      = 4 \switch on operant chamber door

\Outputs

^Pumpelinks    = 3 \liquid pump left
^Pumperechts   = 4 \liquid pump right
^Lichtlinks    = 5 \light above left lever
^Lichtrechts   = 6 \light above right lever
^Hauslicht     = 7 \house light
^Futterlicht   = 8 \tray light

\a = number of reward left
\b = number of reward right
\c = total reward count
\d = number of required lever presses
\e = current lever press count
\f = trial number within group of 5
\v = trial count in forced trials
\x = timer
\u = timer
\y = timer
\z = timer

List G = 1,2
dim J = 74 \output of required lever presses
dim R = 74 \output of reward
dim K = 74 \hebel bei Forced Trials
dim S = 74 \Fehlerart?
dim T = 124 \trial timer?

S.S.1

s1, \wait for switch or z1 pulse, randomize Q out of G, and set d and v;
    \at programme start d is one, later it increases in steps of 1

    #R^Schalter: on^hausLicht; randd Q=G; set K(c+1)=Q; set d=1, v=1 --->s3

s2,
    #z1: on^hausLicht; randdQ=G; set k(c)=Q; set d=d+1, e=0, v=1; show 3,
    req, d --->s3

s3, \Choice of lever
    2.5": if Q=2 [@rechts, @links]
        @rechts: on^rechtetaste; z5; z10 --->S4
        @links: on^linketaste; z7; z10 --->S10

```

```

S4, \ wait for lever press
    #R^rechteTaste: --->S5
    #z6: --->s16

S5, \wait for lever release
    #R^rechteTaste: --->s5
    0.01": add e,i; z5 --->S6

s6, \if number of lever press matches required number give reward
    \and turn on tray light, set number of lever presses to 0
    \else go back to S3
    #z6: --->s16
    0.2": if e=d [@truex, @falsex]
            @truex: z9; z11; on^Pumperechts; on^Futterlicht; set e=0,
            i=0 --->s7
            @falsex: --->s4

S7, \liquid pump turns off
    0.5": off^Pumperechts --->S8

S8, \if reward is collected tray light off, add reward and trial,
    \retract lever and turn off house light
    #R^sensor: off^futterlicht; add c, v; Set k(c)=2, R(c)=22; show5, trial,
c;
            off^rechtetaste; off^hauslicht --->S9

S9, \loop: if only one trial was performed go to the other
    \else go to state set 2 (main programme)
    2.5":if v<=2 [@ja, @nein]
            @ja: --->s18
            @nein: set v=1, e=0; z2 --->s2

s10, \wait for lever press
    #R^linkeTaste: --->S11
    #z8: --->s18

s11, \wait for lever release
    #R^LinkeTaste: --->s11
    0.01": ---> S12

S12, \liquid pump and tray light on
    0.1": z11; on^Pumpelinks; on^futterlicht --->S13

s13, \turn off liquid pump
    0.5": off^Pumpelinks --->S14

s14, \if reward is collected tray light off, add reward and trial,
    \retract lever and turn off house light
    #R^sensor: off^Futterlicht; add c, v; Set k(c)=1, R(c)=11; show5, trial,
c;
            off^linketaste; off^hauslicht --->S15

s15, \loop: if only one trial was performed go to the other
    \else go to state set 2 (main programme)
    2.5": if v<=2 [@ja, @nein]
            @ja: --->s16
            @nein: set v=1, e=0; z2; z9 --->s2

s16,

25": set e=0; on^hauslicht --->s17

S17,
2.5": on^rechtetaste; z5 --->s4

```

```

S18,
25": set e=0; on^hauslicht --->s19

s19,
2.5": on^linketaste; z7 --->s10

S.S.2
S1, \wait for z2 from s.s.1
    #z2: --->s2

S2, \turn on house light
    2": set e=0; on^hauslicht --->s3

S3, \insert both levers
    2.5": on^linketaste; on^rechteTaste; z3; z10 --->s4

S4, \wait for lever press, then retract the other lever
    #z6: --->s2
    #R^linkeTaste: off^rechtetaste --->s5
    #R^rechtetaste: off^linketaste --->s8
    #z4: --->s2

s5, \wait for lever release and add lever press count
    #R^linkeTaste: --->s5
    0.01": --->s6

S6, \turn on tray light and give reward, add reward to right and total,
show this
    \retract lever and note reward (2 for right) in R
    0.1": z9; z11; on^futterlicht; on^pumpelinks; add a, c; show 1, rewli,
a; show5, trial, c;
        off^linketaste; Set R(c)=1 --->s7

s7, \turn off liquid pump
    0.5": off^pumpelinks --->s11

s8, \wait for lever release
    #R^rechteTaste: --->s8
    0.01": add e,i; z5--->s9

S9, \if lever press count matches required number turn on tray light and
give reward,
    \add reward to left reward and total reward count and show it on
display
    \retract lever and note reward (2 for right) in R and set current
lever press number = 0
    \else go back to s4
    #z6: --->s2
    0.2": if e=d [@true, @false]
        @true: z9; z11; on^futterlicht; on^pumperechts; add b, c;
show 2, rewre, b;
        show5, trial, c; off^rechtetaste; Set R(c)=2; set e=0,
i=0 --->s10
        @false:--->s4

s10, \turn off liquid pump

```

```

0.5": off^pumperechts--->S11

s11, \if reward is collect turn off tray light, add trial number and turn
off house light
  #R^sensor: off^Futterlicht; add f; off^hauslicht --->s12

s12, \if trial number is 5, check if required lever presses is 5 or less
  \note required lever presses in J, set trial count = 0 and go to z1 in
S.S.1
  \else stop programme
  \if trial count is not 5, note required lever presses in J and go back
to S2
  25": if f=5 [@true1, @false1]
    @true1: if d<5 [@yes,@no]
      @yes:set J(c)=d; set f=0; off^hauslicht;
z1; z9; set e=0 --->s1
      @no: off^hauslicht --->stopabortflush
    @false1: set J(c)=d --->s2

S.S.3

S1,
  #Z3: --->s2

S2,
  #z9:--->s1
  0.1": add x; if x<=300 [@hungrig, @satt]
    @hungrig: --->s2
    @satt: off^linketaste; off^rechtetaste; off^hauslicht; add c,1; set
R(c)=0;
    show4, FV, 1; show5, trial, c; set e=0 --->s3

  #R^linketaste:set x=0 --->s1
  #R^rechtetaste:set x=0 --->s1

S3,
  25": set x=0; z4; z9 --->s1

S.S.4

S1,
  #Z5: --->s2

S2,
  #z9: --->s1
  0.1": add y; if y<=300 [@hungrig1, @satt1]
    @hungrig1: --->s2
    @satt1: off^rechtetaste; off^hauslicht; add c, 1; set R(c)=0,
s(c)=i;
    show4, FV, 1; show5, trial, c; set e=0; z11 --->s3

  #R^rechtetaste:set y=0 --->s1

S3,
  25": set y=0, i=0; z6; z9 --->s1

s.s.5

s1,
#z7: --->s2

```

```
S2,
  #z9: --->s1
  0.1": add z; if z<=300 [@hungrig2, @satt2]
    @hungrig2: --->s2
    @satt2: off^linketaste; off^hauslicht; add c, 1; set R(c)=0,
s(c)=e;
    show4, FV, 1; show5, trial, c; set e=0; z11 --->s3

  #R^linketaste:set z=0 --->s1

S3,
  25": set z=0; z8; z9 --->s1

s.s.6 \trial timer

S1,
  #Z10: --->s2

S2,
  #z11: set t(c)=u*10; set u=0--->s1
  0.1": add u; if u<=10000 [@trial, @notrial]
    @trial: --->s2
    @satt1: set u=0 --->s1

s.s.7 \ Versuchszeit

s1,
#r^schalter:--->s2

s2,

45':off^linketaste; off^rechtetaste; off^hauslicht--->stopabortflush
```

## 10 Literaturverzeichnis

(2001) Lexikon der Neurowissenschaften. Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag.

Amalric M, Koob GF (1987) Depletion of dopamine in the caudate nucleus but not in nucleus accumbens impairs reaction-time performance in rats. *J Neurosci* 7:2129-2134.

Amiez C, Joseph JP, Procyk E (2005) Anterior cingulate error-related activity is modulated by predicted reward. *Eur J Neurosci* 21:3447-3452.

Arnsten AF (1997) Catecholamine regulation of the prefrontal cortex. *J Psychopharmacol* 11:151-162.

Arnsten AF, Li BM (2005) Neurobiology of executive functions: catecholamine influences on prefrontal cortical functions. *Biol Psychiatry* 57:1377-1384.

Arnsten AFT (1998) Catecholamine modulation of prefrontal cortical cognitive function. *Trends in Cognitive Sciences* 2:436-447.

Baldwin AE, Sadeghian K, Kelley AE (2002) Appetitive instrumental learning requires coincident activation of NMDA and dopamine D1 receptors within the medial prefrontal cortex. *J Neurosci* 22:1063-1071.

Balleine B, Killcross S (1994) Effects of ibotenic acid lesions of the nucleus accumbens on instrumental action. *Behav Brain Res* 65:181-193.

Baunez C, Amalric M, Robbins TW (2002) Enhanced food-related motivation after bilateral lesions of the subthalamic nucleus. *J Neurosci* 22:562-568.

Baxter MG, Murray EA (2002) The amygdala and reward. *Nat Rev Neurosci* 3:563-573.

Bechara A, Damasio H, Tranel D, Damasio AR (1997) Deciding advantageously before knowing the advantageous strategy. *Science* 275:1293-1295.

Bechara A (2003) Risky business: emotion, decision-making, and addiction. *J Gambli Stud* 19:23-51.

Beggs JM, Brown TH, Byrne JH, Crow T, LeDoux JE, LeBar K, Thompson RF (1999) Learning and Memory: Basic Mechanisms. In: *Fundamental Neuroscience* (Zigmond MJ, Bloom FE, Landis SC, Roberts JL, Squire LR, eds), S 1411-1454. San Diego: Academic Press.

Berger B, Gaspar P, Verney C (1991) Dopaminergic innervation of the cerebral cortex: unexpected differences between rodents and primates. *Trends Neurosci* 14:21-27.

Berridge KC, Robinson TE (1998) What is the role of dopamine in reward: hedonic impact, reward learning, or incentive salience? *Brain Res Brain Res Rev* 28:309-369.

Berridge KC, Robinson TE (2003) Parsing reward. *Trends Neurosci* 26:507-513.

Berridge KC (2004) Motivation concepts in behavioral neuroscience. *Physiol Behav* 81:179-209.

Björklund A, Lindvall O (1984) Dopamine-containing systems in the CNS. In: *Handbook of chemical neuroanatomy. Vol. 2: Classical Neurotransmitters in the CNS, Part I* (Björklund A, Hökfelt T, eds), S 55-122. New York: Elsevier Science Publishers B. V.

Black IB (1993) *Symbole, Synapsen und Systeme - Die molekulare Biologie des Geistes*. Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag.

Bohn I, Gierler C, Hauber W (2003a) Orbital prefrontal cortex and guidance of instrumental behaviour in rats under reversal conditions. *Behav Brain Res* 143:49-56.

Bohn I, Gierler C, Hauber W (2003b) NMDA receptors in the rat orbital prefrontal cortex are involved in guidance of instrumental behaviour under reversal conditions. *Cereb Cortex* 13:968-976.

Botvinick M, Nystrom LE, Fissell K, Carter CS, Cohen JD (1999) Conflict monitoring versus selection-for-action in anterior cingulate cortex. *Nature* 402:179-181.

Botvinick MM, Cohen JD, Carter CS (2004) Conflict monitoring and anterior cingulate cortex: an update. *Trends Cogn Sci* 8:539-546.

Bouwmeester H, Wolterink G, van Ree JM (2002) Neonatal development of projections from the basolateral amygdala to prefrontal, striatal, and thalamic structures in the rat. *J Comp Neurol* 442:239-249.

Bowman EM, Brown VJ (1998) Effects of excitotoxic lesions of the rat ventral striatum on the perception of reward cost. *Exp Brain Res* 123:439-448.

Brodmann K (1909) *Vergleichende Lokalisationslehre der Großhirnrinde*. Leipzig: Barth.

Brog JS, Salyapongse A, Deutch AY, Zahm DS (1993) The patterns of afferent innervation of the core and shell in the "accumbens" part of the rat ventral striatum: immunohistochemical detection of retrogradely transported fluoro-gold. *J Comp Neurol* 338:255-278.

Brown VJ, Bowman EM (1995) Discriminative cues indicating reward magnitude continue to determine reaction time of rats following lesions of the nucleus accumbens. *Eur J Neurosci* 7:2479-2485.

Brozoski TJ, Brown RM, Rosvold HE, Goldman PS (1979) Cognitive deficit caused by regional depletion of dopamine in prefrontal cortex of rhesus monkey. *Science* 205:929-932.

Bubser M, Schmidt WJ (1990) 6-Hydroxydopamine lesion of the rat prefrontal cortex increases locomotor activity, impairs acquisition of delayed alternation tasks, but does not affect uninterrupted tasks in the radial maze. *Behav Brain Res* 37:157-168.

Bubser M (1994) 6-Hydroxydopamine lesions of the medial prefrontal cortex of rats do not affect dopamine metabolism in the basal ganglia at short and long postsurgical intervals. *Neurochem Res* 19:421-425.

Bush G, Frazier JA, Rauch SL, Seidman LJ, Whalen PJ, Jenike MA, Rosen BR, Biederman J (1999) Anterior cingulate cortex dysfunction in attention-deficit/hyperactivity disorder revealed by fMRI and the Counting Stroop. *Biol Psychiatry* 45:1542-1552.

Bush G, Luu P, Posner MI (2000) Cognitive and emotional influences in anterior cingulate cortex. *Trends Cogn Sci* 4:215-222.

Bush G, Vogt BA, Holmes J, Dale AM, Greve D, Jenike MA, Rosen BR (2002) Dorsal anterior cingulate cortex: a role in reward-based decision making. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99:523-528.

Bussey TJ, Muir JL, Everitt BJ, Robbins TW (1996) Dissociable effects of anterior and posterior cingulate cortex lesions on the acquisition of a conditional visual discrimination: facilitation of early learning vs. impairment of late learning. *Behav Brain Res* 82:45-56.

Bussey TJ, Everitt BJ, Robbins TW (1997a) Dissociable effects of cingulate and medial frontal cortex lesions on stimulus-reward learning using a novel Pavlovian autoshaping procedure for the rat: implications for the neurobiology of emotion. *Behav Neurosci* 111:908-919.

Bussey TJ, Muir JL, Everitt BJ, Robbins TW (1997b) Triple dissociation of anterior cingulate, posterior cingulate, and medial frontal cortices on visual discrimination tasks using a touchscreen testing procedure for the rat. *Behav Neurosci* 111:920-936.

Capriles N, Rodaros D, Sorge RE, Stewart J (2003) A role for the prefrontal cortex in stress- and cocaine-induced reinstatement of cocaine seeking in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 168:66-74.

Cardinal RN, Pennicott DR, Sugathapala CL, Robbins TW, Everitt BJ (2001) Impulsive choice induced in rats by lesions of the nucleus accumbens core. *Science* 292:2499-2501.

Cardinal RN, Parkinson JA, Hall J, Everitt BJ (2002a) Emotion and motivation: the role of the amygdala, ventral striatum, and prefrontal cortex. *Neurosci Biobehav Rev* 26:321-352.

Cardinal RN, Parkinson JA, Lachenal G, Halkerston KM, Rudarakanchana N, Hall J, Morrison CH, Howes SR, Robbins TW, Everitt BJ (2002b) Effects of selective excitotoxic lesions of the nucleus accumbens core, anterior cingulate cortex, and central nucleus of the amygdala on autoshaping performance in rats. *Behav Neurosci* 116:553-567.

Cardinal RN, Parkinson JA, Marbini HD, Toner AJ, Bussey TJ, Robbins TW, Everitt BJ (2003) Role of the anterior cingulate cortex in the control over behavior by pavlovian conditioned stimuli in rats. *Behav Neurosci* 117:566-587.

Choi DW (1988) Glutamate neurotoxicity and diseases of the nervous system. *Neuron* 1:623.

Chudasama Y, Passetti F, Rhodes SE, Lopian D, Desai A, Robbins TW (2003) Dissociable aspects of performance on the 5-choice serial reaction time task following lesions of the dorsal anterior cingulate, infralimbic and orbitofrontal cortex in the rat: differential effects on selectivity, impulsivity and compulsivity. *Behav Brain Res* 146:105-119.

Cohen RA, Kaplan RF, Zuffante P, Moser DJ, Jenkins MA, Salloway S, Wilkinson H (1999) Alteration of intention and self-initiated action associated with bilateral anterior cingulotomy. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 11:444-453.

Cooper JR, Bloom FE, Roth RH (2003) *The biochemical basis of neuropharmacology*, 8th Auflage. New York: Oxford University Press.

Cousins MS, Atherton A, Turner L, Salamone JD (1996) Nucleus accumbens dopamine depletions alter relative response allocation in a T-maze cost/benefit task. *Behav Brain Res* 74:189-197.

Creutzfeld OD (1983) *Cortex cerebri*: Springer Verlag.

Crosson B, Sadek JR, Bobholz JA, Gokcay D, Mohr CM, Leonard CM, Maron L, Auerbach EJ, Browd SR, Freeman AJ, Briggs RW (1999) Activity in the paracingulate and cingulate sulci during word generation: an fMRI study of functional anatomy. *Cereb Cortex* 9:307-316.

Dalley JW, Laane K, Theobald DE, Armstrong HC, Corlett PR, Chudasama Y, Robbins TW (2005) Time-limited modulation of appetitive Pavlovian memory by D1 and NMDA receptors in the nucleus accumbens. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102:6189-6194.

Davis M (1989) Sensitization of the acoustic startle reflex by footshock. *Behav Neurosci* 103:495-503.

Delatour B, Gisquet-Verrier P (2001) Involvement of the dorsal anterior cingulate cortex in temporal behavioral sequencing: subregional analysis of the medial prefrontal cortex in rat. *Behav Brain Res* 126:105-114.

Denk F, Walton ME, Jennings KA, Sharp T, Rushworth MFS, Bannerman DM (2005) Differential involvement of serotonin and dopamine systems in cost-benefit decisions about delay or effort. *Psychopharmacology* 179:587.

Devinsky O, Morrell MJ, Vogt BA (1995) Contributions of anterior cingulate cortex to behaviour. *Brain* 118 (Pt 1):279-306.

Dickinson A, Balleine B (1994) Motivational control of goal-directed action. *Animal Learning and Behavior* 22:1.

Eagle DM, Humby T, Dunnett SB, Robbins TW (1999) Effects of regional striatal lesions on motor, motivational, and executive aspects of progressive-ratio performance in rats. *Behav Neurosci* 113:718-731.

Ernst M, Nelson EE, McClure EB, Monk CS, Munson S, Eshel N, Zarah E, Leibenluft E, Zametkin A, Towbin K, Blair J, Charney D, Pine DS (2004) Choice selection and reward anticipation: an fMRI study. *Neuropsychologia* 42:1585-1597.

Feldman RS, Meyer JS, Quenzer LF (1997) *Principles of Neuropsychopharmacology*. Sunderland: Sinauer Associates.

Floresco SB, Braaksma DN, Phillips AG (1999) Thalamic-cortical-striatal circuitry subserves working memory during delayed responding on a radial arm maze. *J Neurosci* 19:11061-11071.

Floresco SB, Ghods-Sharifi S (2006) Amygdala-Prefrontal Cortical Circuitry Regulates Effort-Based Decision Making. *Cereb Cortex*.

Floresco SB, Magyar O (2006) Mesocortical dopamine modulation of executive functions: beyond working memory. *Psychopharmacology (Berl)*.

Floresco SB, Magyar O, Ghods-Sharifi S, Vexelman C, Tse MT (2006) Multiple dopamine receptor subtypes in the medial prefrontal cortex of the rat regulate set-shifting. *Neuropsychopharmacology* 31:297-309.

Fuxe K (1965) The distribution of monoamine terminals in the central nervous system. *Acta Physiol Scand Suppl* 247:37-85.

Fuxe K, Agnati LF, Kalia M, Goldstein M, Andersson K, Härfstrand A (1985) Dopaminergic systems in the brain and pituitary. In: *Basic and clinical aspects of neuroscience. Vol.1 The dopaminergic system* (Halász B, ed). Berlin, Heidelberg: Springer.

Gabriel M (1990) Functions of anterior and posterior cingulate cortex during avoidance learning in rabbits. *Prog Brain Res* 85:467-482; discussion 482-463.

Gabriel M, Kubota Y, Sparenborg S, Straube K, Vogt BA (1991) Effects of cingulate cortical lesions on avoidance learning and training-induced unit activity in rabbits. *Exp Brain Res* 86:585-600.

Gaspar P, Bloch B, Le Moine C (1995) D1 and D2 receptor gene expression in the rat frontal cortex: cellular localization in different classes of efferent neurons. *Eur J Neurosci* 7:1050-1063.

Gehring WJ, Goss B, Coles MGH, Meyer DE, Donchin E (1993) A neural system for error detection and compensation. *Psychol Sci* 4:385-390.

Giertler C (2003) Die Rolle des Nucleus accumbens bei der Akquisition und Expression von instrumentellem Verhalten der Ratte. In: Fakultät Geo- und Biowissenschaften. Stuttgart: Universität Stuttgart.

Giertler C, Bohn I, Hauber W (2003) The rat nucleus accumbens is involved in guiding of instrumental responses by stimuli predicting reward magnitude. *Eur J Neurosci* 18:1993-1996.

Granon S, Passeti F, Thomas KL, Dalley JW, Everitt BJ, Robbins TW (2000) Enhanced and impaired attentional performance after infusion of D1 dopaminergic receptor agents into rat prefrontal cortex. *J Neurosci* 20:1208-1215.

Gurden H, Takita M, Jay TM (2000) Essential role of D1 but not D2 receptors in the NMDA receptor-dependent long-term potentiation at hippocampal-prefrontal cortex synapses in vivo. *J Neurosci* 20:RC106.

Haber SN, Fudge JL (1997) The primate substantia nigra and VTA: Integrative circuitry and function. *Crit Rev Neurobiol* 11:323-342.

Hadland KA, Rushworth MF, Gaffan D, Passingham RE (2003) The anterior cingulate and reward-guided selection of actions. *J Neurophysiol* 89:1161-1164.

Hauber W, Lutz S (1999) Blockade of dopamine D2, but not of D1 receptors in the rat globus pallidus induced Fos-like immunoreactivity in the caudate-putamen, substantia nigra and entopeduncular nucleus. *Neurosci Lett* 271:73-76.

Hauber W, Bohn I, Giertler C (2000) NMDA, but not dopamine D(2), receptors in the rat nucleus accumbens are involved in guidance of instrumental behavior by stimuli predicting reward magnitude. *J Neurosci* 20:6282-6288.

Hauber W, Giertler C, Bohn I (2001) NMDA and dopamine D2 receptors in the caudate-putamen are not involved in control of motor readiness in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 155:43-51.

- Heidbreder CA, Groenewegen HJ (2003) The medial prefrontal cortex in the rat: evidence for a dorso-ventral distinction based upon functional and anatomical characteristics. *Neurosci Biobehav Rev* 27:555-579.
- Hernandez PJ, Andrzejewski ME, Sadeghian K, Panksepp JB, Kelley AE (2005) AMPA/kainate, NMDA, and dopamine D1 receptor function in the nucleus accumbens core: a context-limited role in the encoding and consolidation of instrumental memory. *Learn Mem* 12:285-295.
- Herremans AH, Hijzen TH, Welborn PF, Olivier B, Slangen JL (1996) Effects of infusion of cholinergic drugs into the prefrontal cortex area on delayed matching to position performance in the rat. *Brain Res* 711:102-111.
- Hershberger WA (1986) An approach through the looking-glass. *Animal Learning and Behavior* 14:443.
- Hodos W (1961) Progressive ratio as a measure of reward strength. *Science* 134:943-944.
- Holland PC, Gallagher M (1999) Amygdala circuitry in attentional and representational processes. *Trends Cogn Sci* 3:65-73.
- Holroyd CB, Coles MG (2002) The neural basis of human error processing: reinforcement learning, dopamine, and the error-related negativity. *Psychol Rev* 109:679-709.
- Holroyd CB, Nieuwenhuis S, Yeung N, Nystrom L, Mars RB, Coles MG, Cohen JD (2004) Dorsal anterior cingulate cortex shows fMRI response to internal and external error signals. *Nat Neurosci* 7:497-498.
- Horowski R (1999) Antidepressiva. In: *Pharmakologie und Toxikologie*, 2. Auflage (Oberdisse E, Hackenthal E, Kuschinsky K, eds), S 145-153. Berlin: Springer-Verlag.
- Ito S, Stuphorn V, Brown JW, Schall JD (2003) Performance monitoring by the anterior cingulate cortex during saccade countermanding. *Science* 302:120-122.
- Johansen JP, Fields HL (2004) Glutamatergic activation of anterior cingulate cortex produces an aversive teaching signal. *Nat Neurosci* 7:398-403.
- Jonsson G, Sachs C (1975) Actions of 6-hydroxydopamine quinones on catecholamine neurons. *Journal of Neurochemistry* 25:509-516.
- Kalivas PW, Nakamura M (1999) Neural systems for behavioral activation and reward. *Curr Opin Neurobiol* 9:223-227.
- Kandel ER, Schwartz JH, Jessel TM (1995) *Neurowissenschaften*. Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag.

Karnath HO, Thier P (2006) Neuropsychologie, 2. Auflage. Heidelberg: Springer Medizin Verlag.

Kelley AE, Domesick VB, Nauta WJ (1982) The amygdalostriatal projection in the rat--an anatomical study by anterograde and retrograde tracing methods. *Neuroscience* 7:615-630.

Kirsch P, Schienle A, Stark R, Sammer G, Blecker C, Walter B, Ott U, Burkart J, Vaitl D (2003) Anticipation of reward in a nonaversive differential conditioning paradigm and the brain reward system: an event-related fMRI study. *Neuroimage* 20:1086-1095.

Kita H, Kitai ST (1990) Amygdaloid projections to the frontal cortex and the striatum in the rat. *J Comp Neurol* 298:40-49.

Krebs, Davies (1993) *An Introduction to Behavioural Ecology*. Oxford: Blackwell Scientific Publications.

Kruk ZL, Pycock CJ (1991) Dopamine. In: *Neurotransmitters and drugs* (Kruk ZL, Pycock CJ, eds), S 87-116. London: Chapman & Hall.

Kupfermann I, Kandel ER, Iversen S (2000) Motivational and addictive states. In: *Principles of Neural Science*, 4th Auflage (Kandel ER, Schwartz JH, Jessel TM, eds). New York: McGraw-Hill Companies.

Liotti M, Woldorff MG, Perez R, Mayberg HS (2000) An ERP study of the temporal course of the Stroop color-word interference effect. *Neuropsychologia* 38:701-711.

McDonald AJ (1991) Organization of amygdaloid projections to the prefrontal cortex and associated striatum in the rat. *Neuroscience* 44:1-14.

McDonald AJ, Mascagni F, Guo L (1996) Projections of the medial and lateral prefrontal cortices to the amygdala: a Phaseolus vulgaris leucoagglutinin study in the rat. *Neuroscience* 71:55-75.

McFarland D (1999) *Biologie des Verhaltens*, 2. Aufl. Auflage. Heidelberg: Spektrum Wissenschaftlicher Verlag.

Meunier M, Jaffard R, Destrade C (1991) Differential involvement of anterior and posterior cingulate cortices in spatial discriminative learning in a T-maze in mice. *Behav Brain Res* 44:133-143.

Morrison JH, Molliver ME, Grzanna R, Coyle JT (1979) Noradrenergic innervation patterns in three regions of medial cortex: an immunofluorescence characterization. *Brain Research Bulletin* 4:849-857.

Nicola SM, Deadwyler SA (2000) Firing rate of nucleus accumbens neurons is dopamine-dependent and reflects the timing of cocaine-seeking behavior in rats on a progressive ratio schedule of reinforcement. *J Neurosci* 20:5526-5537.

Nowend KL, Arizzi M, Carlson BB, Salamone JD (2001) D1 or D2 antagonism in nucleus accumbens core or dorsomedial shell suppresses lever pressing for food but leads to compensatory increases in chow consumption. *Pharmacol Biochem Behav* 69:373-382.

Öngür D, Price JL (2000) The organization of networks within the orbital and medial prefrontal cortex of rats, monkeys and humans. *Cereb Cortex* 10:206-219.

Pardo JV, J. PP, Janer KW, Raichle ME (1999) The anterior cingulate cortex mediates processing selection in the Stroop attentional conflict paradigm. *Proc Natl Acad Sci* 87:256-259.

Parkinson JA, Willoughby PJ, Robbins TW, Everitt BJ (2000) Disconnection of the anterior cingulate cortex and nucleus accumbens core impairs Pavlovian approach behavior: further evidence for limbic cortical-ventral striatopallidal systems. *Behav Neurosci* 114:42-63.

Paxinos G, Watson C (1997) *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*, 3rd Auflage. San Diego: Academic Press, Inc.

Petrovich GD, Gallagher M (2003) Amygdala subsystems and control of feeding behavior by learned cues. *Ann N Y Acad Sci* 985:251-262.

Preuss TM, Kaas JH (1999) Human Brain Evolution. In: *Fundamental Neuroscience* (Zigmond MJ, Bloom FE, Landis SC, Roberts JL, Squire LR, eds), S 1283-1311. San Diego: Academic Press.

Ragozzino ME, Adams S, Kesner RP (1998) Differential involvement of the dorsal anterior cingulate and prelimbic-infralimbic areas of the rodent prefrontal cortex in spatial working memory. *Behav Neurosci* 112:293-303.

Ragozzino ME, Kesner RP (1998) The effects of muscarinic cholinergic receptor blockade in the rat anterior cingulate and Prelimbic/Infralimbic cortices on spatial working memory. *Neurobiol Learn Mem* 69:241-257.

Ragozzino ME, Wilcox C, Raso M, Kesner RP (1999) Involvement of rodent prefrontal cortex subregions in strategy switching. *Behav Neurosci* 113:32-41.

Ragozzino ME (2000) The contribution of cholinergic and dopaminergic afferents in the rat prefrontal cortex to learning, memory, and attention. *Psychobiology* 28:238.

Ragozzino ME (2002) The effects of dopamine D(1) receptor blockade in the prelimbic-infralimbic areas on behavioral flexibility. *Learn Mem* 9:18-28.

Ravard S, Herve D, Thiebot MH, Soubrie P, Tassin JP (1989) Anticonflict-like effect of a prefrontal dopaminergic lesion in rats: permissive role of noradrenergic neurons. *Behav Pharmacol* 1:255-259.

Reep RL, Goodwin GS, Corwin JV (1990) Topographic organization in the corticocortical connections of medial agranular cortex in rats. *J Comp Neurol* 294:262-280.

Remie R (2000) Experimental Surgery. In: *The Laboratory Rat* (Krinke G, ed). San Diego: Academic Press.

Robbins TW, Everitt BJ (1996) Neurobehavioural mechanisms of reward and motivation. *Curr Opin Neurobiol* 6:228-236.

Robbins TW, Everitt BJ (1999) Motivation and Reward. In: *Fundamental Neuroscience*, 1st Auflage (Zigmond MJ, Bloom FE, Landis SC, Roberts JL, Squire LR, eds), S 1245-1260. San Diego: Academic Press.

Rose JE, Woolsey CN (1948) The orbitofrontal cortex and its connections with the mediodorsal nucleus in rabbit, sheep, and cat. *Res Publ Assoc Nerv Mental Dis* 27:210-232.

Rushworth MF, Hadland KA, Gaffan D, Passingham RE (2003) The effect of cingulate cortex lesions on task switching and working memory. *J Cogn Neurosci* 15:338-353.

Rushworth MF, Walton ME, Kennerley SW, Bannerman DM (2004) Action sets and decisions in the medial frontal cortex. *Trends Cogn Sci* 8:410-417.

Salamone JD (1991) Behavioural Pharmacology of Dopamine Systems: a New Synthesis. In: *The Mesolimbic dopamine System: From Motivation to Action* (Willner P, Scheel-Krüger J, eds). Chichester: John Wiley & Sons.

Salamone JD, Steinpreis RE, McCullough LD, Smith P, Grebel D, Mahan K (1991) Haloperidol and nucleus accumbens dopamine depletion suppress lever pressing for food but increase free food consumption in a novel food choice procedure. *Psychopharmacology (Berl)* 104:515-521.

Salamone JD, Cousins MS, Bucher S (1994) Anhedonia or anergia? Effects of haloperidol and nucleus accumbens dopamine depletion on instrumental response selection in a T-maze cost/benefit procedure. *Behav Brain Res* 65:221-229.

Salamone JD, Cousins MS, Snyder BJ (1997) Behavioral functions of nucleus accumbens dopamine: empirical and conceptual problems with the anhedonia hypothesis. *Neurosci Biobehav Rev* 21:341-359.

- Salamone JD, Correa M (2002) Motivational views of reinforcement: implications for understanding the behavioral functions of nucleus accumbens dopamine. *Behav Brain Res* 137:3-25.
- Salamone JD, Correa M, Mingote S, Weber SM (2003) Nucleus accumbens dopamine and the regulation of effort in food-seeking behavior: implications for studies of natural motivation, psychiatry, and drug abuse. *J Pharmacol Exp Ther* 305:1-8.
- Sawaguchi T, Goldman-Rakic PS (1991) D1 dopamine receptors in prefrontal cortex: involvement in working memory. *Science* 251:947-950.
- Schultz W, Dickinson A (2000) Neuronal coding of prediction errors. *Annu Rev Neurosci* 23:473-500.
- Seamans JK, Floresco SB, Phillips AG (1998) D1 receptor modulation of hippocampal-prefrontal cortical circuits integrating spatial memory with executive functions in the rat. *J Neurosci* 18:1613-1621.
- Seeman P, Ulpian C (1988) Dopamine D1 and D2 receptor selectivities of agonists and antagonists. *Adv Exp Med Biol* 235:55-63.
- Sesack SR, Deutch AY, Roth RH, Bunney BS (1989) Topographical organization of the efferent projections of the medial prefrontal cortex in the rat: an anterograde tract-tracing study with Phaseolus vulgaris leucoagglutinin. *J Comp Neurol* 290:213-242.
- Sesack SR, Carr DB, Omelchenko N, Pinto A (2003) Anatomical substrates for glutamate-dopamine interactions: evidence for specificity of connections and extrasynaptic actions. *Ann N Y Acad Sci* 1003:36-52.
- Shidara M, Richmond BJ (2002) Anterior cingulate: single neuronal signals related to degree of reward expectancy. *Science* 296:1709-1711.
- Shima K, Tanji J (1998) Role for Cingulate Motor Area Cells in Voluntary Movement Selection Based on Reward. *Science* 282:1335-1338.
- Stroop JR (1935) Studies of interference in serial verbal reactions. *J Exp Psychol* 18:643-662.
- Sun W, Rebec GV (2005) The role of prefrontal cortex D1-like and D2-like receptors in cocaine-seeking behavior in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 177:315-323.
- Takenouchi K, Nishijo H, Uwano T, Tamura R, Takigawa M, Ono T (1999) Emotional and behavioral correlates of the anterior cingulate cortex during associative learning in rats. *Neuroscience* 93:1271-1287.

Thier P (2006) Die funktionelle Architektur des präfrontalen Kortex. In: Neuropsychologie, 2. Auflage (Thier P, Karnath HO, eds). Heidelberg: Springer Medizin Verlag.

Thorndike EL (1911) Animal intelligence: experimental studies. New York: MacMillan.

Tolman EC (1932) Purposive Behavior in Animals and Men. New York: Century.

Uylings HB, van Eden CG (1990) Qualitative and quantitative comparison of the prefrontal cortex in rat and in primates, including humans. *Prog Brain Res* 85:31-62.

Uylings HB, Groenewegen HJ, Kolb B (2003) Do rats have a prefrontal cortex? *Behav Brain Res* 146:3-17.

van Veen V, Cohen JD, Botvinick MM, Stenger VA, Carter CS (2001) Anterior cingulate cortex, conflict monitoring, and levels of processing. *Neuroimage* 14:1302-1308.

van Veen V, Carter CS (2002) The anterior cingulate as a conflict monitor: fMRI and ERP studies. *Physiol Behav* 77:477-482.

van Veen V, Holroyd CB, Cohen JD, Stenger VA, Carter CS (2004) Errors without conflict: implications for performance monitoring theories of anterior cingulate cortex. *Brain Cogn* 56:267-276.

Vincent SL, Khan Y, Benes FM (1993) Cellular distribution of dopamine D1 and D2 receptors in rat medial prefrontal cortex. *J Neurosci* 13:2551-2564.

Walton ME, Bannerman DM, Rushworth MF (2002) The role of rat medial frontal cortex in effort-based decision making. *J Neurosci* 22:10996-11003.

Walton ME, Bannerman DM, Alterescu K, Rushworth MF (2003) Functional specialization within medial frontal cortex of the anterior cingulate for evaluating effort-related decisions. *J Neurosci* 23:6475-6479.

Walton ME, Devlin JT, Rushworth MF (2004) Interactions between decision making and performance monitoring within prefrontal cortex. *Nat Neurosci* 7:1259-1265.

Walton ME, Croxson PL, Rushworth MF, Bannerman DM (2005) The mesocortical dopamine projection to anterior cingulate cortex plays no role in guiding effort-related decisions. *Behav Neurosci* 119:323-328.

Warburton EC, Aggleton JP, Muir JL (1998) Comparing the effects of selective cingulate cortex lesions and cingulum bundle lesions on water maze performance by rats. *Eur J Neurosci* 10:622-634.

Williams JM, Mohler EG, Givens B (1999) The role of the medial prefrontal cortex in attention: Altering predictability of task difficulty. *Psychobiology* 27:462-469.

Winters BD, Robbins TW, Everitt BJ (2004) Selective cholinergic denervation of the cingulate cortex impairs the acquisition and performance of a conditional visual discrimination in rats. *Eur J Neurosci* 19:490-496.

Wise RA (1982) Neuroleptics and Operant-Behavior - the Anhedonia Hypothesis. *Behavioral and Brain Sciences* 5:39-53.

Zahrt J, Taylor JR, Mathew RG, Arnsten AF (1997) Supranormal stimulation of D1 dopamine receptors in the rodent prefrontal cortex impairs spatial working memory performance. *J Neurosci* 17:8528-8535.

Zilles K, Wree A (1995) Cortex. areal and laminar structure. In: *The Rat Nervous System* (Paxinos G, ed), S 649-685. San Diego: Academic Press.

## 11 Danksagung

Abschließend möchte ich mich bei allen bedanken, die zum Gelingen meiner Doktorarbeit beigetragen haben:

Ganz besonders möchte ich mich bei Prof.Dr. Wolfgang Hauber für die sehr gute Betreuung während meiner Arbeit bedanken. Er hatte immer Zeit und ein offenes Ohr, hat sich um die Finanzierung des Projektes gekümmert und sich viel Zeit für das gemeinsame Schreiben und Korrigieren der Artikel und die Korrektur dieser Dissertation genommen.

Weiterer Dank gilt Prof. Dr. Franziska Wollnik für die Begutachtung dieser Arbeit sowie für das gute Arbeitsklima in der Abteilung. Außerdem habe ich bei ihr endlich die Grundlagen der Statistik richtig verstanden.

Bei Dr. Holger Fuchs und Dr. Michael Bubser, die mir beide durch gute Tips bei der methodischen Durchführung der immunhistochemischen Auswertung geholfen haben.

Weiterhin möchte ich mich bei Simone Saft bedanken, die sich trotz enormer Hürden tapfer durch ihre Studienarbeit gekämpft hat und so einen großen Beitrag für das 'zweite' Paper geleistet hat.

Bei Philipp Rommel, Anja Murschall und Susanne Sommer, die mir bei den teilweise sehr Zeit aufwendigen T-Labyrinth-Experimenten geholfen haben.

Den restlichen Kollegen und Kolleginnen der Tierphysiologie gilt auch mein Dank für die nette Zusammenarbeit und die ein oder andere verlängerte Kaffeepause!

Ganz besonders möchte ich mich auch bei meiner Schwester Barbara und meinem Bruder Kristian bedanken, die immer für mich da waren und mich unterstützt haben. Und natürlich auch bei Emilia und Friedrich, bei denen ich ab und zu vom wissenschaftlichen Alltag total abschalten und so neue Kraft schöpfen konnte.

Und schließlich einen ganz großen Dank an meine Eltern, die immer an mich geglaubt haben und mich nicht nur finanziell, sondern vor allem moralisch unterstützt haben. Vielen Dank! Ohne Euch hätte ich es nie so weit gebracht!!!

## 12 Lebenslauf

Name	Judith Schweimer
Eltern	Dr. Georg W. und Sabine Schweimer
Geburtstag und -ort	22. Mai 1976 in Wolfsburg
Familienstand	ledig
Schulausbildung	
1982 – 1987	Alfred-Teves-Schule, Gifhorn
1987 – 1989	Christoph-Columbus-Schule, Gifhorn
1989 – 1996	Otto-Hahn-Gymnasium, Gifhorn <i>Abitur, Mai 1996</i>
Auslandsaufenthalte	
1996 – 1997	Au Pair in Chicago, IL, USA
Hochschulstudium	
1997 – 2002	Studium der Biologie Eberhard-Karls-Universität, Tübingen Hauptfach: Tierphysiologie Nebenfächer: Parasitologie und klinische Pharmakologie <i>Diplom, Juli 2002</i>
2003 – 2006	Promotion bei Prof. Dr. W. Hauber in der Abt. Tierphysiologie des Biologischen Instituts, Universität Stuttgart