

Neurobiologische Substrate repetitiven Verhaltens im Quinpirol Rattenmodell der Zwangsstörung

Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades des
Doktors der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)

eingereicht im Fachbereich Biologie, Chemie, Pharmazie
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

FRANZISKA WIESKE

aus Eberswalde-Finow

2015

Obligatorische Angaben

Diese Arbeit wurde im Zeitraum von Mai 2010 bis Januar 2015 unter der Leitung von Frau Prof. Dr. Christine Winter in der Arbeitsgruppe Experimentelle Psychiatrie der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie am Universitätsklinikum Carl Gustav Carus der Technischen Universität Dresden durchgeführt.

1. Gutachter: Frau Prof. Dr. med. Christine Winter

2. Gutachter: Herr Prof. Dr. rer. nat. Hans-Joachim Pflüger

Disputation am 29.05.2015

Christian und meiner Familie

Danksagung

Allen voran möchte ich mich bei Frau Prof. Dr. Christine Winter bedanken, die es mir als Biologin ermöglichte in einem von Medizinerinnen dominierten Forschungsbereich zu arbeiten und mir so meinen Wunsch nach tierexperimentellem Arbeiten vor einem neurobiologischen Hintergrund erfüllte. Sie betreute mich während meiner Promotion nicht nur fachlich. Herzlichen Dank.

Ich bedanke mich auch bei Herrn Prof. Dr. Pflüger, der durch seine Betreuung die externe Arbeit ermöglichte.

Mein Dank gilt auch Frau Christiane Kölske und Frau Renate Winter, die mir neben ihrem technischen Rat auch all ihre Lebenserfahrung zu Gute kommen ließen.

Ich bedanke mich für Rat und Tat bei Herrn Dr. Reinhard Sohr, Frau Dr. Julia Shababi-Klein und Jennifer Altschüler.

Für den Spaß im Labor- und Arbeitsalltag bedanke ich mich bei meinen Doktorandengeschwisterinnen Julia Rummel, Claudia Reinel, Henriette Edemann Callesen und Anne Schwerk. Ein ganz besonderer Dank gilt dabei meiner Doktorandenschwester Mareike Voget für Motivation und bedarfsweiser Stimmungsaufhellung.

Inhaltsverzeichnis

Obligatorische Angaben	2
Danksagung.....	4
Inhaltsverzeichnis	5
Abbildungsverzeichnis	7
Tabellenverzeichnis	8
Abkürzungsverzeichnis	9
1 Einleitung.....	10
1.1 Repetitives Verhalten	10
1.2 Symptomatik und Therapie der Zwangsstörung	10
1.3 Ätiologie, Pathogenese und Pathophysiologie.....	11
1.3.1 Biochemische Hypothesen.....	12
1.3.2 Neuroanatomische Hypothesen.....	16
1.3.3 mögliche Krankheitsentstehung	19
1.4 Das Quinpirol-Zwangsmo­dell der Ratte	19
1.5 Ziele und Hypothesen	20
2 Material und Methoden.....	22
2.1 Versuchstiere	22
2.2 Experimentelles Design.....	22
2.3 Injektionen	23
2.4 Verhaltensanalyse.....	23
2.5 Probengewinnung	25
2.6 HPLC	25
2.7 Immunhistochemie	27
2.8 Cytochrom-Oxidase-Histochemie	29
2.9 Zellzählung	29
2.10 Densitometrie	30
2.11 Datenanalyse	30
3 Ergebnisse.....	31
3.1 Phänotypinduktion.....	31
3.2 Gesamt-Transmitter-Gehalte und -DA-Umsatz.....	32
3.2.1 regionenspezifischer DA- und DOPAC-Gehalt und DA-Umsatz.....	35
3.2.2 regionenspezifischer 5-HT- und 5-HIAA-Gehalt	38
3.2.3 regionenspezifischer Glutamat- Glutamin- und GABA-Gehalt.....	41
3.3 TH, NeuN und VMAT2	44
3.4 Neuronale Aktivität	47
3.5 Proliferationsmarker BrdU und Ki67.....	51

4	Diskussion	52
4.1	detaillierte Betrachtung des experimentellen Designs	53
4.2	Expositionseffekte	56
4.3	QNP-Effekte	60
4.4	Neurobiologische Substrate repetitiven Verhaltens	63
	Ausblick	66
	Zusammenfassung	68
	Abstract	69
	Literaturverzeichnis	70
	Erklärung	93

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: vereinfachte schematische Darstellung des phasisch-tonischen	15
Abb. 2: vereinfachte schematische Darstellung eines deregulierten phasisch-tonischen	15
Abb. 3: Lage und Zusammensetzung der Basalganglien	16
Abb. 4: vereinfachte schematische Darstellung des CSTC- Regelkreises	18
Abb. 5: vereinfachte schematische Darstellung des pathologischen CSTC- Regelkreises	18
Abb. 6: schematische Darstellung des Experimentellen Designs	23
Abb. 7: schematische Darstellung des modifizierten OF	24
Abb. 8: Phänotypinduktion.....	32
Abb. 9: Gesamtgehalt der Transmitter in $\mu\text{M/g}$ Protein.....	33
Abb. 10: Gesamt-DA-Umsatz	34
Abb. 11: DA- und DOPAC-Gehalt und DA-Umsatz pro Region	36
Abb. 12: 5-HT- und 5-HIAA-Gehalt pro Region.....	39
Abb. 13: Glutamat-, Glutamin- und GABA-Gehalt pro Region	42
Abb. 14: TH, NeuN und VMAT2	46
Abb. 15: c-Fos, Zif268 und CO.....	48
Abb. 16: BrdU und Ki67	51

Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Schnitt- und Stanzprotokoll	26
Tab. 2: Übersicht der detektierten Antigene	27
Tab. 3: Transmitter 2-Way-Anova, F-und p-Werte der Haupteffekte	33
Tab. 4: DA 2-Way-Anova, F-und p-Werte der Haupteffekte	37
Tab. 5: DOPAC 2-Way-Anova, F-und p-Werte der Haupteffekte	37
Tab. 6: DA Umsatz 2-Way-Anova, F-und p-Werte der Haupteffekte	38
Tab. 7: 5-HT 2-Way-Anova, F-und p-Werte der Haupteffekte	40
Tab. 8: 5-HIAA 2-Way-Anova, F-und p-Werte der Haupteffekte	40
Tab. 9: Glutamat 2-Way-Anova, F-und p-Werte der Haupteffekte	43
Tab. 10: Glutamin 2-Way-Anova, F-und p-Werte der Haupteffekte	43
Tab. 11: GABA 2-Way-Anova, F-und p-Werte der Haupteffekte	44
Tab. 12: VMAT2 2-Way-Anova, F-und p-Werte der Haupteffekte	45
Tab. 13: c-Fos 2-Way-Anova, F-und p-Werte der Haupteffekte	49
Tab. 14: Zif268 2-Way-Anova, F-und p-Werte der Haupteffekte	49
Tab. 15: CO 2-Way-Anova, F-und p-Werte der Haupteffekte	50

Abkürzungsverzeichnis

5-HIAA	5-Hydroxyindolessigsäure
5-HT	Serotonin
Abb.	Abbildung
AP	Anterior-posterior
BrdU	Bromdesoxyuridin
cAMP	cyklisches Adenosinmonophosphat
Cg1	cingulärer Kortex
CNTF	Ciliary Neurotrophic Factor
CSTC	kortiko-Basalganglien-thalamo-kortikal
CO	Cytochrom-Oxidase
COMT	Catechol-O-Methyltransferase
CPu	Caudate putamen
DA	Dopamin
DAB	Diaminobenzidintetrachlorid
DAT	Dopamintransporter
DG	Gyrus dentatus
DM	dorsomedialer Thalamus
DOPAC	3,4-Dihydroxyphenylelessigsäure
EP	Nucleus entopeduncularis
GABA	γ -Aminobuttersäure
GPe	Globus pallidus pars externa
GPi	Globus pallidus pars interna
HPC	Hippocampus
HPLC	Hochdruckflüssigkeitschromatografie
IEG	immediate early gene
IL	infralimbischer Kortex
LGP	Globus pallidus lateralis
LO	lateraler orbitaler Kortex
MAO	Monoamin-Oxidase
MGP	Globus pallidus medialis
mPFC	medialer präfrontaler Kortex
MSN	medium spiny neurons
Nacc	Nucleus accumbens
NaCl	Natriumchlorid
OF	offenes Feld
OFC	orbitofrontaler Kortex
PBS	Phosphat-gepufferte Saline
PFA	Paraformaldehyd
PrL	prälimbischer Kortex
QNP	Quinpirol
SN	Substantia nigra
SSRI	Selektive Serotoninwiederaufnahmehemmer
STN	Nucleus subthalamicus
SVZ	Subventrikuläre Zone
Tab.	Tabelle
TH	Tyrosinhydroxylase
VMAT2	vesikulärer Monoamintransporter 2
VO	ventraler orbitaler Kortex

1 Einleitung

1.1 Repetitives Verhalten

Repetitives Verhalten, auch als Stereotypie bezeichnet, ist Symptom einer Reihe von psychiatrischen Erkrankungen. Der viel diskutierte Begriff der Zwangsspektrumserkrankungen wird verwendet, um Ähnlichkeiten bezüglich der klinischen Symptome, neurobiologischer Marker, Ansprechen auf Psychopharmaka, familiäre Häufung und Komorbiditäten zur Zwangsstörung deutlich zu machen. Neben der Zwangsstörung an sich, werden Ticstörungen, das Gilles de la Tourette Syndrom, Hoarding (Tierhortung, Messie-Syndrom), Hypochondrie, pathologisches Spielen, körperdysmorphie, sexuelle, Depersonalisations-, Wahn-, Ess- und Impulskontrollstörungen als zum Zwangsspektrum gehörende Erkrankungen diskutiert (McElroy et al. 1994, Hollander & Wong 1995, Niedermeier et al. 1998, Fornaro et al. 2009). Allen gemeinsam sind sich wiederholende, repetitive Störungen; Verhaltensweisen, die man auch bei Autismus (Fischer & Probst 2006), Schizophrenie (Khullar et al. 2001), Demenz (Cipriani et al. 2013) und Parkinson (Kim et al. 2013) beobachtet.

1.2 Symptomatik und Therapie der Zwangsstörung

Kardinalerkrankung repetitiver Störungen ist die Zwangsstörung. Die Prävalenz der Zwangsstörung liegt bei 3-4% und ist damit doppelt so hoch wie die von Schizophrenie oder Panikstörungen (Hollander & Wong 1995). Von Zwangsstörungen betroffene Patienten leiden unter einem inneren Drang bestimmte Dinge zu wiederholen, obgleich ihnen bewusst ist, dass diese Dinge übertrieben und objektiv gesehen sinnlos sind. Obwohl diese intrinsischen Zwänge sie im sozialen und beruflichen Alltag belasten und extrem viel Zeit in Anspruch nehmen, können sich die Betroffenen willentlich dem nicht entgegensetzen (Stein 1996). Die Zwangsstörung umfasst Repetitionen auf einer motorischen und gedanklichen Ebene. Zwangsgedanken sind wiederkehrende, anhaltende Gedanken, Impulse oder Bilder. Zwangshandlungen sind ritualisierte und sich wiederholende Verhaltensweisen, die typischerweise als Reaktionen auf die Zwangsgedanken durchgeführt werden. Die Zwangshandlungen sollen dabei die Belastung durch die Zwangsgedanken reduzieren und die auftretenden Ängste neutralisieren. Der Grund für die Wiederholung der Handlung ist nicht etwa ein schlechtes Gedächtnis, sondern, mehr oder weniger bewusst, die fehlende Reflektion bzw. Rückmeldung der Aufgabenerfüllung (gestörter response-feedback, Szechtman et al. 2001, Hollander 1997), die so zum Anhalten der Zwangsgedanken und erneuter Ausführung der Zwangshandlung führt.

Die Therapie strebt eine Symptomreduktion an und beinhaltet eine kognitive Verhaltenstherapie in Kombination mit einer medikamentösen Therapie mit selektiven Serotonin(5-HT)-Wiederaufnahmehemmern (SSRI). Die Rückfallquote liegt über einen Zeitraum von zwei Jahren bei 20%, wobei diese im Zeitverlauf weiter ansteigt. Therapieresistente Patienten werden mit Dopamin(DA)-Antagonisten behandelt. Studien belegen zudem die Wirksamkeit von Medikamenten, die auf das glutaminerge System abzielen (Lafleur et al. 2006, Dean et al. 2011), als auch von Antihistaminika (Snowman et al. 1990, White & Boyaji 1960, Kubo et al. 1987, Lambert & Gover 2004) und Opioiden (Davidson & Bjorgvinsson 2003, Goldsmith et al. 1999, Koran et al. 2005). Seit 2009 werden therapieresistente Patienten darüber hinaus mit der Tiefen Hirnstimulation behandelt (Lipsman et al. 2007). Schwere Verläufe der Krankheit können in Deutschland seit 1996 sogar mit bis zu 100% Schwerbehinderungsgrad eingestuft werden. Hieraus ist ersichtlich, dass die Belastung der Patienten hoch, die Therapie der Zwangsstörung und damit auch alle anderen psychiatrischen Erkrankungen, die mit repetitiven Störungen einhergehen, bisher jedoch insuffizient und eine Heilung nicht absehbar ist, weil die Pathologie bisher nicht ausreichend verstanden ist.

1.3 Ätiologie, Pathogenese und Pathophysiologie

Trotz jahrelanger Forschung ist die Krankheitsentstehung der Zwangsstörung bis heute weitestgehend ungeklärt. Eine genetische Komponente wird angenommen (Vgl. Taylor 2013). Hierfür spricht auch das gehäufte Auftreten der Krankheit unter Verwandten (Inouye 1965, Grados & Wilcox 2007, Walitza et al. 2008, Butcher et al. 2009, Walitza et al. 2010). Psychologische Erklärungsansätze verweisen auf biografische Zusammenhänge. Immunologische basieren auf Befunden, die zeigen, dass Zwangsstörungen durch Reaktionen auf körpereigene Antikörper ausgelöst werden können (Moretti et al. 2008, Bhattacharyya et al. 2009, Hoekstra & Minderaa 2005, Dale et al. 2005).

Zusammenfassend geht man von einem multifaktoriellen Geschehen aus, bei dem periuterine, lerngeschichtliche und Umweltfaktoren zu einer Vulnerabilität des Gehirns führen, die bei einem Ungleichgewicht von Belastungsfaktoren und coping Strategien zur Symptomanifestation führt, dessen neurobiologisches Korrelat auf unterschiedlichen Ebenen diskutiert wird:

1.3.1 Biochemische Hypothesen

Der Befund, dass Patienten mit Zwangsstörung von SSRI profitieren, legt nahe, dass das 5-HTerge System beteiligt ist (Insel et al. 1985, Flament et al. 1997, Grados et al. 2001, Stahl 1998). Werden diese Medikamente abgesetzt, kommt es zur Rekurrenz der Symptomatik (Benkelfat et al. 1989). Auch die Tatsache, dass es zu akuter Exazerbation nach Blockade postsynaptischer 5-HT-Rezeptoren und Gabe von 5-HT-Agonisten kommt, spricht für die pathophysiologische Beteiligung von 5-HT (Zohar et al. 1987, Hollander et al. 1992). Da aber nur weniger als die Hälfte der Patienten auf SSRI reagiert, die Symptomreduktion nur bei bis zu 40 % liegt und die Mehrzahl der Studien keine veränderten 5-HT-Gehalte feststellen konnte, kann die 5-HT-Hypothese allein nicht weiter aufrechterhalten werden (Thoren et al. 1980, Goodman et al. 1990, Altemus et al. 1992, Stein 1996). Widersprüchlich ist auch, dass die Gabe des 5-HT-Rezeptor-Agonisten meta-Chlorophenylpiperazin (Zohar et al. 1987, Hollander et al. 1992, Zohar & Zohar-Kadouch 1991, Pi et al. 1994) und die des 5-HT-Rezeptor-Antagonisten Metergolin (Benkelfat et al. 1989) jeweils zu einer Verstärkung der Zwangssymptomatik führen, während der 5-HT-Agonist Buspiron zu einer Symptomreduktion führt (Pato et al. 1991). Es wird angenommen, dass einzelne Subtypen der 5-HT-Rezeptoren, die gewisse Verhaltensweisen stimulieren, hyperaktiv, während andere, die neuroendokrine Reaktionen steuern, hyposensitiv sind (Lesch 1991, Zohar & Zohar-Kadouch 1991, Hohagen 1992). Studien zeigen, dass die Wirksamkeit von SSRI unter anderem durch die Reduktion der DA-Rezeptorbindung in den Basalganglien erreicht wird (Davidson und Bjorgvinsson 2003, Kim et al. 2007, Markarian et al. 2010).

DA vermittelt Motivation, Belohnung, emotionale Bewertung und Bewegungsgenerierung - Funktionseinheiten, die bei der Zwangsstörung beeinträchtigt sind (Alexander & Crutcher 1990, Goodman et al. 1990, Marazziti et al. 1992, McDougle et al. 1994, Malison et al. 1995, Wolf et al. 1996, McGrath et al. 1999, Szechtman et al. 1999, McGrath et al. 1999).

Die DA-Wirkung hängt vom postsynaptischen Rezeptortyp ab. Die Bindung an die Subtypen der Klasse D₁ (D₁ und D₅) führt durch Depolarisierung des nachgeschalteten Neurons zu einem exzitatorischem postsynaptischen Potential; die Bindung an die Subtypen der Klasse D₂ (D₂, D₃ und D₄) durch Hyperpolarisation zu einem inhibitorischem postsynaptischen Potential. Präsynaptische D₂-Autorezeptoren regulieren die Synthese und Ausschüttung von DA (Galloway et al. 1986, Fisher et al. 1994) und die Aktivität des DA-Transporters (DAT) (Meiergerd et al. 1993), der DA in die Präsynapse transportiert. Der vesikuläre Monoamintransporter (VMAT) verpackt endozytiertes oder neu aus L-DOPA mittels des Enzyms Tyrosinhydroxylase (TH) synthetisiertes DA in Vesikel zum Schutz der Zelle vor toxisch wirkenden intrazellulären DA-Konzentrationen (Hastings et al. 1996, Barzilai et al. 2003). Freies DA wird durch die Monoamin-Oxidase (MAO) zu 3,4-Dihydroxyphenylethylsäure (DOPAC) oder die Catechol-O-Methyltransferase (COMT) zu 3-Methoxytyramin abgebaut (Elsworth & Roth (1997).

Es existiert eine Vielzahl von Studien zur Untersuchung des DAergen Transmissionssystems bei Patienten mit repetitiven Störungen, die zum Teil widersprüchlich sind.

Eine Reihe von Gehaltsstudien zeigen erhöhte (Cohen et al. 1978, Butler et al. 1979, Singer, 1982, Zahn et al. 1996, Ernst et al. 1999), andere reduzierte (Marazziti et al. 1992) oder keine veränderten DA-Gehalte bzw. der Metabolite bei Patienten im Vergleich zu Gesunden (Thoren et al. 1980, Singer et al. 1990, Benkelfat et al. 1991, Swedo et al. 1992b). Die Studie von Ernst et al. 1999 konnte dabei belegen, dass es sich bei dem erhöhten DA-Gehalt um das DA in der Präsynapse handelt. Auch tierexperimentelle Studien zeigen, dass eine erhöhte DA-Ausschüttung, hervorgerufen durch eine Pargylin-vermittelte Hemmung des DA-Abbaus und eine dadurch entstehende Akkumulation von DA in der Präsynapse, zu repetitivem Verhalten führt (Moja et al. 1976, Holman et al. 1977, Butcher et al. 1990, Di Chiara et al. 1993, Elverfors et al. 1997). Auch der Befund, dass die Blockade des DAT mittels Nomifensin zu einer Akkumulation von perisynaptischem DA und so bei Ratten zu repetitivem Verhalten führt, spricht dafür, dass eine vermehrte DA-Wirkung repetitives Verhalten verursacht (Butcher et al. 1988, Zetterström et al. 1988; Arbuthnott et al. 1990, al-Kathib et al. 1995).

Studien zur D₂-Rezeptor-Verfügbarkeit liefern ebenfalls kein einheitliches Bild. So kann entweder eine erhöhte D₂-Rezeptoren-Dichte mit positiver Korrelation zur Symptomausprägung (Wolf et al. 1996, Wong et al. 1997 & 2008), eine verminderte (Denys et al. 2004, Gilbert et al. 2006, Perani et al. 2008, Sesia et al. 2013) oder keine Veränderung der Rezeptordichte (George et al. 1994, Turjanski et al. 1994, Singer et al. 2002, Hwang et al. 2008, Wong et al. 2008, Denys et al. 2013) dargestellt werden.

Klinische Studien zeigen, dass DA-Antagonisten, -Agonisten und Stimulanzien zu einer Reduktion repetitiver Verhaltensweisen führen (Feinberg & Carroll 1979, Insel et al. 1983, Joffe & Swinson 1987, Joffe et al. 1991, McDougale et al. 1994, Tibbo & Warneke 1999, Thomsen 2004). Zugleich induzieren DA-Antagonisten, der Entzug derer, DAerge Stimulanzien und ein Überangebot von DA repetitive Störungen (Klempel 1974, Feinberg & Carroll 1979, Borchering et al. 1990, Cardoso & Jankovic 1993, Kouris 1998, Lykouras et al. 2003).

Diese zunächst widersprüchlichen klinischen Ergebnisse lassen sich durch das Konzept einer phasisch-tonischen DA-Ausschüttung nach Grace 1993 erklären (siehe Abb. 1): Tonisches DA findet sich kontinuierlich in geringen Konzentrationen im synaptischen Spalt und wird durch kortikostriatale, glutamaterge Projektionen und D₂-Autorezeptoren reguliert (Gobert et al. 1995). Phasisches DA wird als schnelle, vorübergehende Antwort auf Stimuli aus Vesikeln der Präsynapse ausgeschüttet und führt zu hohen ausschließlich synaptischen Gehalten an DA.

Wir nehmen an, dass bei repetitiven Störungen tonisches DA chronisch reduziert ist und zu einer Sensitivierung und Hochregulation postsynaptischer D₂-Rezeptoren führt, was eine stärkere Wirkung vermehrt ausgeschütteten phasischen DAs bedingt. Die postulierte Reduktion tonischen DAs könnte durch einen überaktiven DAT verursacht werden (Singer & Minzer 2003) (Abb. 2).

Und in der Tat zeigt die Mehrheit der Studien eine Überaktivität des DAT (Singer et al. 1991, Malison et al. 1995, Ernst et al. 1999, Müller-Vahl et al., 2000, Albin et al. 2003, Kim et al. 2003 & 2007, Cheon et al. 2004, Serra-Mestres et al. 2004, van der Wee et al. 2004, Liu et al. 2010). Nur wenige Studien sprechen dagegen (Stamenkovic et al. 2001, Hesse et al. 2005, Yeh et al. 2006 & 2007, Hwang et al. 2008). Eine neuere Metaanalyse zeigt unter anderem die Korrelation von DAT-Polymorphismen mit der Zwangsstörung (Taylor 2013).

Zuletzt soll in diesem Kapitel nicht unerwähnt bleiben, dass eine Reihe von Befunden auch die Beteiligung von Glutamat an der Krankheitsentstehung nahelegt (Pittenger et al. 2006). So konnten bei Zwangspatienten erhöhte Glutamat-Gehalte, eine Korrelation zwischen dessen Metabolit-Gehalten und der Symptomstärke und eine Verbesserung der Symptomatik nach Behandlung mit Glutamat-Antagonisten festgestellt werden (Chakrabarty et al. 2005, Coric et al. 2005, Grant et al. 2007, Starck et al. 2008, Aboujaoude et al. 2009). Eine Korrelation zwischen NMDA-Rezeptor-Polymorphismen und eine erhöhte Anfälligkeit für die Erkrankung und dem Nachweis der Symptomverbesserung nach Behandlung mit NMDA-Rezeptor-Agonisten belegen ebenfalls die pathophysiologische Beteiligung von Glutamat (Arnold et al. 2004, Kushner et al. 2007, Wilhelm et al. 2008). Auch im Tiermodell konnte festgestellt werden, dass stereotypes Verhalten bei Mäusen mit einer striatalen Glutamat-Erhöhung einhergeht (Presti et al. 2004b) und durch Blockade striataler NMDA Rezeptoren verringert werden kann (Presti et al. 2003).

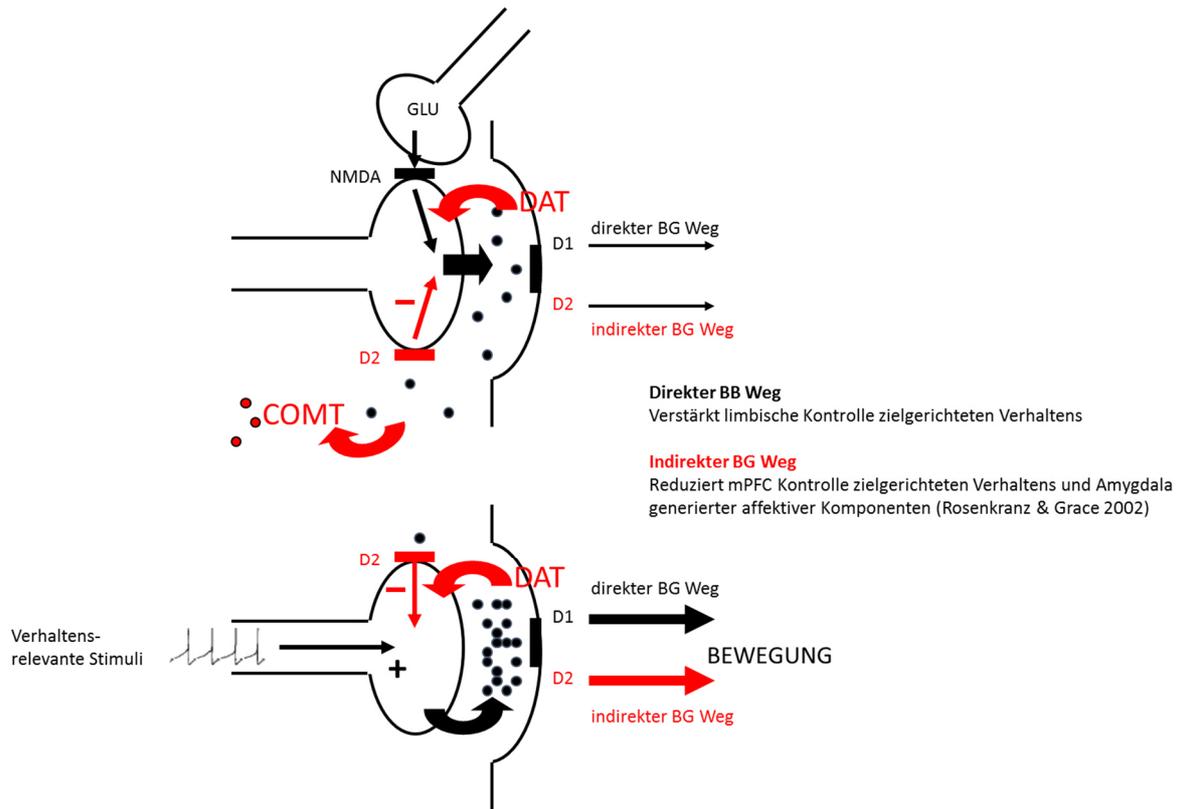


Abb. 1: vereinfachte schematische Darstellung des phasisch-tonischen DA-Systems (zur Verfügung gestellt von Christine Winter)

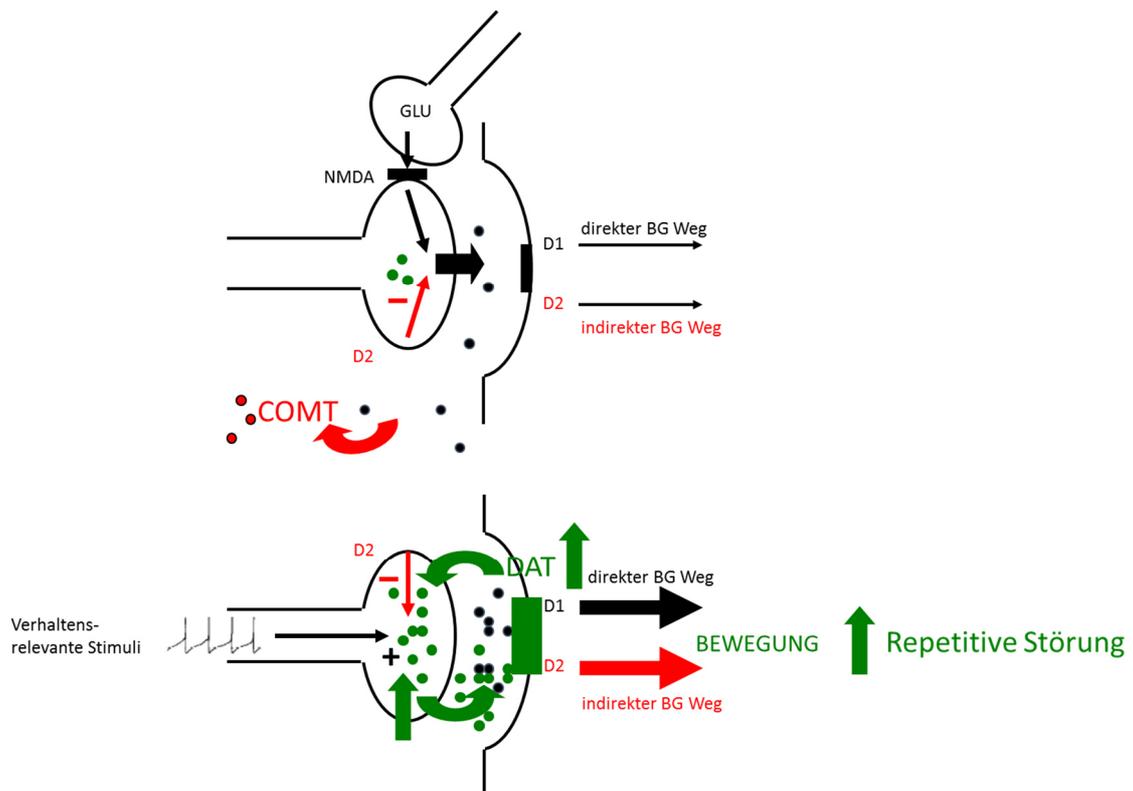


Abb. 2: vereinfachte schematische Darstellung eines deregulierten phasisch-tonischen DA-Systems bei Zwangspatienten (zur Verfügung gestellt von Christine Winter)

1.3.2 Neuroanatomische Hypothesen

Läsionsstudien zeigen eine zeitliche Korrelation zwischen dem Nachweis einer spezifischen Läsion im kortiko-Basalganglien-thalamo-kortikalen (CSTC) Regelkreis und dem Auftreten einer repetitiven Störung (Demirkol et al. 1999, Escalona et al. 1999, Mc Abee et al. 1999, Cardona & Avila 2000, Correia et al. 2010). Gleichzeitig zeigen bildgebende Studien veränderte Aktivitäten im Basalgangliensystem bei Zwangspatienten (Laplane 1989, Laplane et al. 1994). Auch im Tiermodell konnte die Beteiligung des CSTC-Regelkreises in der Manifestation und Therapie repetitiver Symptome dargestellt werden (Joel et al. 2005, Winter et al. 2008, Schilman et al. 2010). So konnte kürzlich gezeigt werden, dass eine chronische Stimulation des orbitofrontalen Cortex (OFC) und ventromedialem Striatum zu Zwang-ähnlichem Verhalten in Mäusen führt und sensitiv auf Fluoxetin (Mittel der Wahl bei Zwangsstörungen) reagiert (Ahmari et al. 2013).

Die Basalganglien sind subkortikal gelegene Kerngruppen, zu denen das Striatum aus Nucleus caudatus und Putamen (zusammen Caudate putamen, CPU), der Nucleus accumbens (Nacc), der Globus pallidus lateralis (LGP) bzw. pars externa (GPe) und medialis (MGP) bzw. pars interna (GPI, das Äquivalent in Nagern hierzu ist der Nucleus entopeduncularis (EP)), der Nucleus subthalamicus (STN) und die Substantia nigra (SN) aus pars compacta und pars reticularis zählen (siehe Abb. 3).

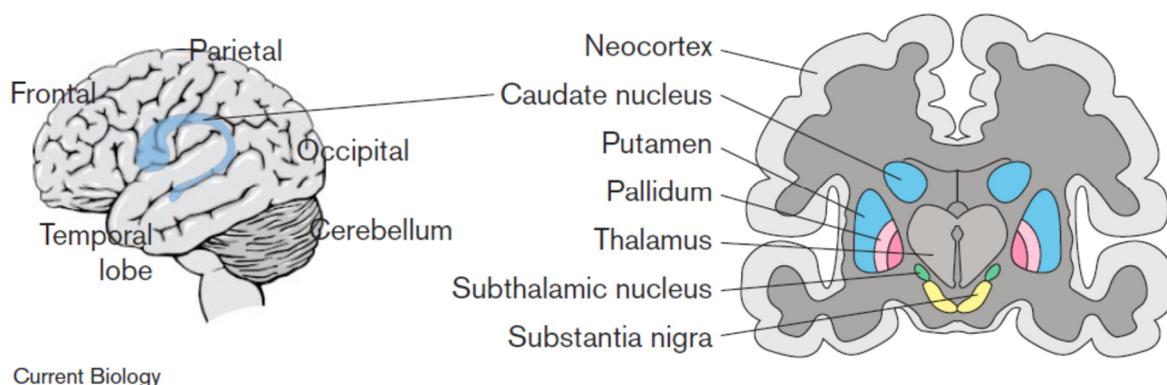


Abb. 3: Lage und Zusammensetzung der Basalganglien (aus Graybiel 2000)

Mit dem Kortex und dem Thalamus bilden sie den CSTC-Regelkreis. Dieser ist keine einzelne Schleife, sondern segregiert in sechs parallele Schleifen, die mehr oder weniger limbische, assoziative und motorische Anteile der einzelnen Strukturen verbinden. Grundsätzlich gilt das Striatum als Eingangsregion der Basalganglien und erhält glutamaterge Afferenzen aus verschiedenen kortikalen Strukturen und einigen Thalamuskernen. Als Ausgangsregion der Basalganglien gelten der GPI und die SNr, die γ -Aminobuttersäure(GABA)-erg auf ventrale Thalamuskern projizieren.

Über zwei parallele Neuronenketten, die als „direkter“ (verhaltensfördernd) und „indirekter Weg“ (verhaltenshemmend) bezeichnet werden, sind Eingangs- und Ausgangsregion miteinander verbunden. Der direkte Weg stellt eine monosynaptische, GABAerge Verbindung zwischen den striatalen medium spiny neurons (MSN) und den Ausgangsstrukturen (GPi und SNr) dar. Dem Gegenüber gestellt ist der indirekte Weg. Hier projizieren die MSN zum GPe und dieser wiederum GABAerg auf die glutamatergen Neurone des STN. Dieser ist seinerseits mit dem GPi bzw. der SNr verschaltet. Eine verstärkte Hemmung (direkter Weg) bzw. eine reduzierte Aktivierung (indirekter Weg) der Ausgangsstrukturen des Basalgangliensystems führt zu einer Verringerung der durch Spontanaktivität induzierten kontinuierlichen Inhibition des Thalamus und damit zu einer Desinhibition thalamo-kortikaler Projektionen mit einer konsekutiven Verstärkung encodierter Handlungen. Moduliert wird die glutamaterge Stimulation des Striatum unter anderem durch den Neurotransmitter DA und dessen Wirkung an den unterschiedlichen DA-Rezeptoren. Die tonische Präsenz von DA im synaptischen Spalt aktiviert vornehmlich über D₁-Rezeptoren den indirekten Weg und verstärkt die mPFC Kontrolle zielgerichteten Verhaltens, während phasisches DA über D₂-Rezeptoren den direkten Weg aktiviert und die limbische Kontrolle zielgerichteten Verhaltens verstärkt (Elsworth & Roth 1997) (Abb. 4).

Wir und andere nehmen an, dass diese Balance zwischen direktem und indirektem Basalganglienweg bei Zwangspatienten gestört ist. Eine veränderte DA-Wirkung im Striatum wirkt sich zugunsten des direkten Basalganglienweges aus, führt zur Desinhibition des Thalamus und verstärkt so die Aktivität des Kortex (Abb. 5) (Ernst & Smelik 1966, Scheel-Kruger et al. 1980, Canales & Graybiel 2000, Chen et al. 2000, Salmi et al. 2000, Werme et al. 2002, Presti et al. 2003 & 2004a, Presti & Lewis 2005).

Entsprechend zeigen Bildgebungsstudien eine vermehrte metabolische Aktivität im CPU nach Symptomprovokation (McGuire et al. 1994, Rauch et al. 1994, Breiter et al. 1996, Adler et al. 2000, Simon et al. 2010) und deren Abklingen nach erfolgreicher Therapie (Benkelfat et al. 1990, Baxter et al. 1992, Swedo et al. 1992a, Perani et al. 1995, Schwartz et al. 1996), einen erhöhten Metabolismus bzw. eine verstärkte Desinhibition des Thalamus (Swedo et al. 1989, Perani et al. 1995, Alptekin et al. 2001, Lacerda et al. 2003) und eine konsekutive Hyperaktivität des präfrontalen Kortex (Ciesielski et al. 1981, Beech et al. 1983, Baxter et al. 1988, Towey et al. 1990, Swedo et al. 1992a, Savage et al. 1994, Stein 1996, Lacerda et al. 2003, Friedlander & Desrocher 2006). Aufbauend auf diesen Befunden entwickelte sich die Tiefe Hirnstimulation, die direkt und spezifisch pathologische Aktivitäten in ihrem Zielgebiet und assoziierten Netzwerken balanciert (Brito 1997, Mallet et al. 2002, Anderson & Ahmed 2003, Nuttin et al. 2003, Sturm et al. 2003, Fontaine et al. 2004, Winter et al. 2008, Huff et al. 2009, Mundt et al. 2009, Denys et al. 2004 & 2010, Djorani-Irani et al. 2011).

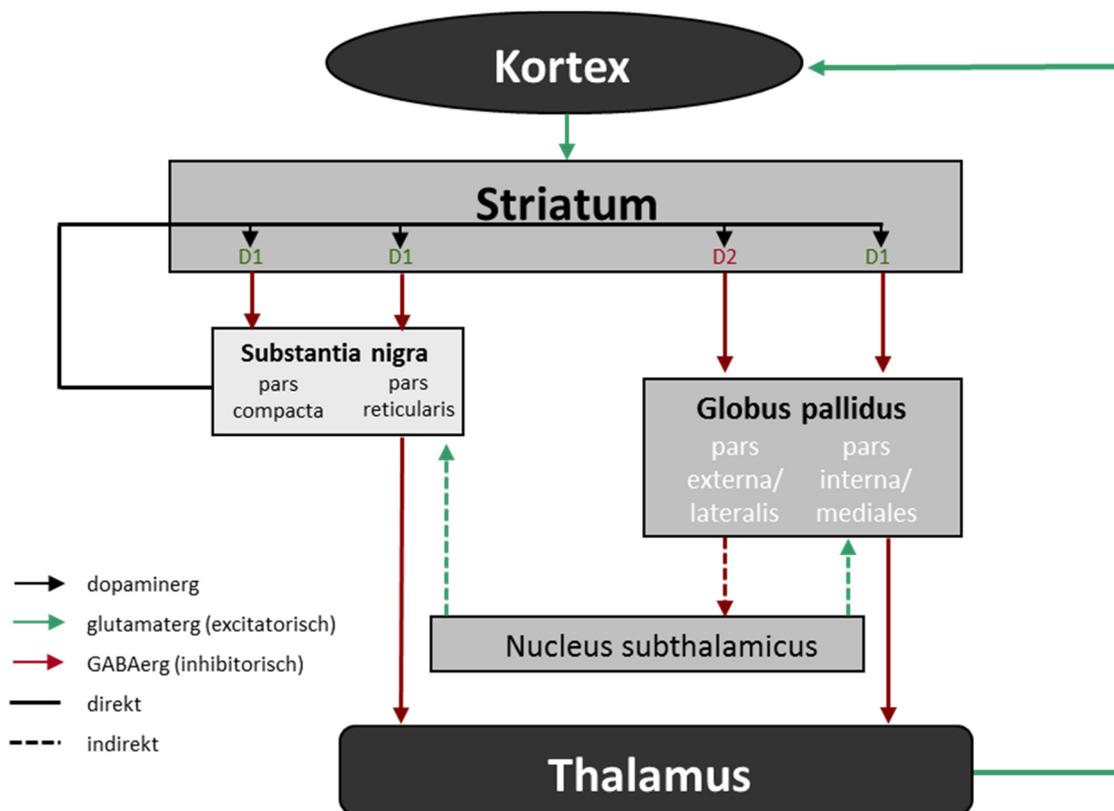


Abb. 4: vereinfachte schematische Darstellung des CSTC- Regelkreises (verändert nach Winter & Heinz 2008)

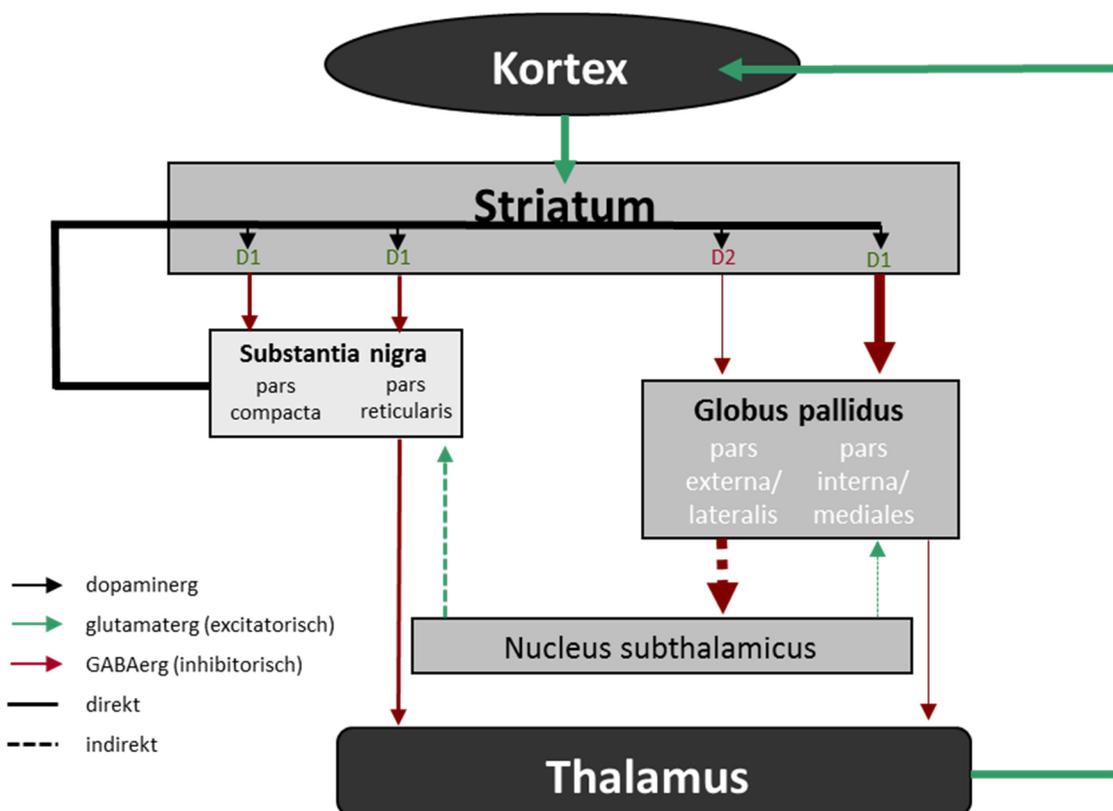


Abb. 5: vereinfachte schematische Darstellung despathologischen CSTC- Regelkreises (verändert nach Winter & Heinz 2008)

1.3.3 mögliche Krankheitsentstehung

Die Zusammenschau dieser Befunde legt nahe, dass repetitiven Störungen ein überaktives DAT System zugrundliegt, das möglicherweise zu einem Überangebot an phasischem DA bei chronischer Reduktion des tonischen DA im Striatum führen könnte. Eine daraus resultierende Überstimulation hochregulierter DAerger Rezeptoren im Nucleus caudatus und eine auf die unterschiedliche Verteilung der DA-Rezeptortypen im Striatum zurückzuführende dysbalancierte Aktivierung zugunsten des direkten Basalganglienpfades würden zu einer Desinhibition des Thalamus und einer fortwährenden Aktivierung des Kortex führen.

Allerdings reicht die zum Teil widersprüchliche Studienlage bisher nicht aus, um diese Annahmen hinreichend zu bestätigen, weshalb weitere Untersuchungen notwendig sind. Vor allem Tiermodelle können hierbei einen hilfreichen Aufschluss darüber geben, wie die einzelnen Komponenten des CSTC-Regelkreises und das DAerge System miteinander interagieren. Entsprechend wurden zur Untersuchung der pathophysiologischen Mechanismen der Zwangsstörung bisher verschiedene Tiermodelle herangezogen (zum Überblick Albelda & Joel 2011).

1.4 Das Quinpirol-Zwangmodell der Ratte

Da DA als hauptverantwortlicher Transmitter in der Pathophysiologie von repetitiven Störungen angenommen werden kann, verwenden wir in dieser Arbeit ein Tiermodell, dessen Zwangähnlicher Phänotyp durch DAerge Manipulation induziert wird. Dieses Tiermodell mit hoher Augenschein-, Konstrukt- und prädiktiver Validität (Joel 2006) basiert auf Untersuchungen von Szechtman et al. (1994), die zeigen, dass die chronisch-intermittierende Applikation des $D_{2/3}$ -Rezeptor-Agonisten Quinpirol (QNP) in Kombination mit einer Symptom-evozierenden Umgebung ritualisiertes Motorverhalten in Ratten induziert. Schon bei oberflächlicher Betrachtung erinnert dies an motorisches Zwangsverhalten von Patienten und reagiert sensitiv auf Clomipramin (5-HTerg wirksames trizyklisches Antidepressivum zur Behandlung von Zwangsstörungen) und Tiefe Hirnstimulation (Szechtman 1998, Winter et al. 2008, Mundt et al. 2009, Djodari-Irani et al. 2011). Der $D_{2/3}$ -Rezeptor-Agonist QNP wird zwei Mal wöchentlich in Verbindung mit der Präsenz auf einem modifizierten offenen Feld (OF, Ahlenius 1991) injiziert. Über einen Zeitraum von fünf Wochen entwickelt sich der Phänotyp des zwanghaften Kontrollverhaltens (frühestens nach sechs Injektionen, Dvorkin et al. 2006) und kann durch kontinuierliche QNP-Gabe aufrechterhalten werden. Die Entstehung des zwanghaften Kontrollierens ist nicht der bloßen Sensibilisierung auf QNP geschuldet, sondern der Kombination aus QNP-Applikation und Präsenz einer Symptom-evozierenden Umgebung (Szechtman et al. 1998 & 2001, Eilam & Szechtman 2005, Eilam et al. 2012, Einat & Szechtman 1993, Einat 1996).

1.5 Ziele und Hypothesen

Diese Arbeit ist Teil eines Gesamtprojektes, das ein besseres Verständnis der zugrunde liegenden pathophysiologischen Mechanismen der Zwangsstörung zum Ziel hat. Wir gehen davon aus, dass die DAerge Innervation des CSTC-Regelkreises offensichtlich von entscheidender pathophysiologischer Relevanz ist. Wir wollen zeigen, wie sich DAerge Defizite und repetitive Verhaltensweisen im pharmakologischen QNP-Zwangmodell der Ratte und in einem transgenen Rattenmodell darstellen.

Während das transgene Rattenmodell mit einem überexprimierten DAT ein neuartiger Ansatz ist, existieren bereits eine ganze Reihe von Studien, die sich mit der Untersuchung des QNP-Zwangmodell beschäftigten, wobei diese sich mit der Charakterisierung des induzierten Verhaltens oder der Manipulation dessen befassen, während bisher nur wenige Befunde existieren, die Aufschluss über neurobiologische Korrelate des induzierten Phänotyps geben (Sullivan et al. 1998).

Fraglich ist also, wie sich der DA-Gehalt im CSTC-Regelkreis verändert und andere Transmitter involviert sind, wie sich die Expression von am DAergen System beteiligten Enzymen und Transportern und von Plastizitätsmarkern im am Regelkreis beteiligten Strukturen verändert und ob Veränderungen im DA-Haushalt Veränderungen in der Proliferation auslösen.

Da diese möglichen Veränderungen in dem hier verwendeten Tiermodell, dessen Zwang-ähnlicher Phänotyp aus der Kombination von chronisch-intermittierender QNP-Applikation und der Exposition auf dem OF resultiert und sowohl Folge der Exposition, der Substanzapplikation oder beidem sein können, wurde die chronisch-intermittierende QNP Applikation und OF-Exposition im Vergleich zu weiteren Gruppen betrachtet:

So erfolgt eine chronisch-intermittierende QNP- bzw. Saline-Applikation in Verbindung mit der OF-Exposition und eine akute QNP- bzw. Saline-Applikation mit akuter OF-Exposition und unmittelbarer bzw. zwei Wochen später erfolgender Dekapitation.

Diese Einteilung in die verschiedenen Gruppen erlaubt nun die Differenzierung in folgende Einzeleffekte:

- i) Effekte, die der OF-Exposition in Abhängigkeit von dessen Häufigkeit geschuldet sind.
- ii) Effekte, die der QNP-Applikation in Abhängigkeit von dessen Häufigkeit geschuldet sind.
- iii) Effekte, die der chronisch-intermittierenden Kombination aus beidem geschuldet sind und möglicherweise den Zwang-ähnlichen Phänotyp begründen.

Wir nehmen an, dass die akute Exposition zu spezifischen Veränderungen der neuronalen Aktivität am CTCS-Regelkreis beteiligter Strukturen gemessen an der c-Fos- und Zif268-Expression und der CO-Aktivität führt. Eine durch die akute Exposition verursachte Veränderung der neuronalen Aktivität geht mit Veränderungen im Gehalt verschiedener Transmitter einher. Diese Veränderungen unterscheiden sich vermutlich von denen, die durch die chronische Exposition verursacht werden.

Wir nehmen des Weiteren an, dass die DAerge Intervention mittels QNP ebenfalls zu spezifischen Veränderungen der neuronalen Aktivität gemessen an der c-Fos- und Zif268-Expression und der CO-Aktivität führt und mit Veränderungen im Gehalt verschiedener Transmitter, vor allem aber DA einhergeht. Diese Veränderungen werden sich zwischen einmaliger und wiederholter Intervention unterscheiden.

Schließlich nehmen wir an, dass die Kombination aus beidem spezifische Veränderungen induziert und so zu dem Zwang-ähnlichem Verhalten führt. Dies zeigt sich vermutlich an einer erhöhten Aktivität des CPu gemessenen anhand der c-Fos-Expression und Veränderungen in der DAergen Transmission.

So soll diese Arbeit Aufschluss darüber geben, wie sich im hier verwendeten Tiermodell der Zwang-ähnliche Phänotyp entwickelt und welche neurobiologischen Veränderungen diesen bedingen.

Wie bereits kurz erwähnt, ist die vorliegende Arbeit Teil eines Gesamtprojektes. Ein weiteres Teilprojekt untersucht in einem molekularbiologischen Ansatz am QNP-Modell, ob die chronisch-intermittierende Gabe des D₂-Rezeptor-Agonisten zu Veränderungen in der Expression der D₁-Rezeptor-Dichte, des VMAT2 und der COMT führt. Hier wird auch untersucht, ob dies mit einer erhöhten Expression des DAT und der D₂-Rezeptor-Dichte einhergeht. Eine Reduktion tonischen und Erhöhung phasischen DA wäre die Folge. Eine vermehrte DA-Wirkung begünstigt die Aktivierung des indirekten Basalganglienpfades aufgrund der unterschiedlichen DA-Rezeptor-Verteilung und führt so zu repetitivem Verhalten. Diese und alle hier vorliegenden Untersuchungen werden parallel auch am kurz erwähnten transgenen Rattenmodell durchgeführt.

Die Befunde der vorliegenden Arbeit, die des anderen Teilprojektes und alle Daten, die aktuell zum transgenen Tiermodell generiert werden, können zusammenfassend einen großen Beitrag zum pathophysiologischen Verständnis zu leisten.

2 Material und Methoden

2.1 Versuchstiere

120 männliche Wistar Ratten (Harlan Winkelmann, Borcheln, Deutschland) im Alter von sechs Wochen wurden nach der Empfehlung des Ausschusses für tiergerechte Labortierhaltung der GV-Solas (Tiergerechte Haltung von Laborratten) in Standardkäfigen (70x40x20cm) mit Nestmaterial und Röhrensystemen in Gruppen zu je fünf Tieren bei +/-22°C und 40-70% Luftfeuchte gehalten. Es wurde ein kontinuierlicher zwölf Stunden Tag-Nacht-Rhythmus mit einer Helligkeitsphase von 6:00 bis 18:00 Uhr eingehalten, wobei alle Experimente im Tagesverlauf und nach ausreichendem Handling durchgeführt wurden. Wasser und Futter (Altromin 1324 Standard, Lage, Deutschland) waren jederzeit unbegrenzt verfügbar. Die Tierversuche wurden nach §8 Abs. 1 des Tierschutzgesetzes der BRD unter der Versuchsnummer G0183/09 von der Senatsverwaltung für Gesundheit und Soziales in Berlin genehmigt.

2.2 Experimentelles Design

Die Tiere wurden entweder einmalig (akutes Design) oder chronisch-intermittierend (chronisches Design) behandelt. Im akuten Design wurde den Ratten QNP oder Natriumchlorid (NaCl, Kontrolle) einmalig in Kombination mit der Präsenz des OF appliziert. Die Dekapitation erfolgte 90 Minuten (akut(-)) oder, in ausgewählten Untersuchungen, 14 Tage nach der Behandlung (akut(+)). Im chronisch-intermittierenden Design wurde den Ratten QNP bzw. NaCl zwei Mal wöchentlich im Abstand von drei bzw. vier Tagen über einen Zeitraum von sieben Wochen (14 Versuchstage) in Kombination mit der Präsenz des OF appliziert. Die Dekapitation erfolgte hier 90 Minuten nach der letzten Applikation (Abb. 6).

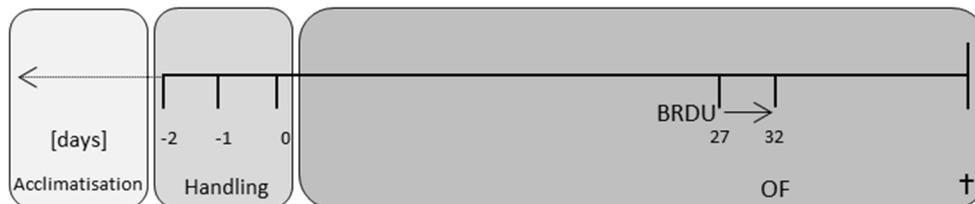
Daraus ergeben sich sechs Tiergruppen: (i) QNP chronisch (QNPc, n=30), ii) NaCl chronisch (NaClc, n=30), iii) QNP akut(-) (QNPa(-), n=22), (iv) NaCl akut(-) (NaCla(-), n=18), v) QNP akut(+) (QNPa(+), n=20) und vi) NaCl akut(+) (NaCla(+), n=20).

Während der Präsenz auf dem OF wurden Parameter zur Überprüfung des zwanghaften Verhaltens gemessen. Nach der Dekapitierung erfolgten die neurobiologischen post mortem Untersuchungen in vornehmlich am CSTC-Regelkreis beteiligten Strukturen (OFC: ventraler orbitaler Kortex (VO), lateraler orbitaler Kortex (LO), medialer präfrontaler Kortex (mPFC): cingulärer Kortex (Cg1), infralimbischer Kortex (IL), prälimbischer Kortex (PrL), Nucleus accumbens (Nacc), Caudate putamen (CPu), lateraler Globus pallidus (LGP), Hippocampus (HPC), dorsaler medialer Thalamus (DM), Nucleus entopeduncularis (EP), Nucleus subthalamicus (STN), Substantia nigra (SN)).

Akut ohne Auswaschung QNPa-/NaCl-



Akut mit Auswaschung QNPa+/NaCl+



Chronisch QNPc/NaClc

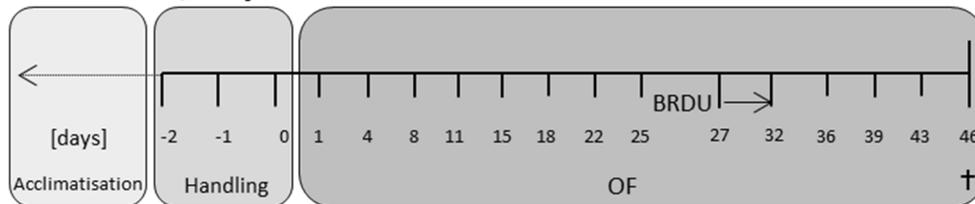


Abb. 6: schematische Darstellung des Experimentellen Designs

2.3 Injektionen

Die Injektionen erfolgten subkutan in die Nackenfalte der Ratten und 15 Minuten bevor sie auf das OF gesetzt wurden. QNP ((-)-QNP-Hydrochlorid, Sigma-Aldrich, Steinheim, Deutschland) wurde in einer Dosis von 0.5mg/kg Körpergewicht in 0,9% NaCl (Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland) appliziert. Die Kontrollgruppen erhielten dasselbe Volumen an 0,9% NaCl.

Für den immunhistochemischen Proliferationsnachweis wurde den jeweiligen Ratten Bromdesoxyuridin (BrdU, 5-Bromo-2'-deoxyuridin, Sigma-Aldrich, Steinheim, Deutschland) in einer Dosis von 50mg/kg Körpergewicht in 0,9% NaCl über fünf Tage vor dem relevanten Versuchstag zwei Mal täglich im Abstand von zwölf Stunden (zehn Injektionen) intraperitoneal injiziert (Abb. 6).

2.4 Verhaltensanalyse

Fünfzehn Minuten nach subkutaner QNP-Injektion wurden die Ratten dreißig Minuten auf einem modifizierten OF nach Eilam und Golani (1989) beobachtet (Abb. 7). Die Plattform mit Maßen von 140x140x60cm befand sich mit einem Wandabstand von 20cm in einer abgeschirmten Versuchsbox von 2x2x2,4m.

Auf der Plattform befand sich eine Glasscheibe, die 25 3x3cm große schwarze Markierungen in zu einander identischen Abständen von 40cm trug (Subareale). An vier dieser Subareale befanden sich anstelle der Markierungen Plexiglaswürfel mit Maßen von 8x8x8cm, die jeweils zu einer Seite hin geöffnet waren. Über dem Zentrum der Plattform befand sich eine Kamera, die mit einem Bildschirm außerhalb der Versuchsbox verbunden war und so die Verhaltensanalyse ermöglichte. Die Glasplatte wurde nach jeder Ratte mit Descosept gereinigt. Kontroll- und Experimentalratten zeigen eine Präferenz zu einem der Subareale. Das Subareal, das im akuten Design bei der einmaligen bzw. im chronischen Design bei der zehnten Substanzapplikation am häufigsten besucht wurde, wurde als „Heim“ definiert. Die Analyse zwanghaften Verhaltens erfolgte in Bezug auf dieses „Heim“ und nach jeder QNP bzw. NaCl Applikation.

Die Kriterien für zwanghaftes Verhalten wurden von Szechtman, Sulis und Eilam (1998) definiert: i) Die Ratte kehrt zu einem oder zwei Arealen auf dem OF übermäßig oft und ii) schnell zurück und iii) besucht nur wenige andere Areale im Vergleich zu dem präferierten Areal und mit Kontrolltieren; iv) die Präferenz zu dem entsprechendem Subareal ist nach Manifestation zwanghaften Verhaltens stabil; v) die Ratte zeigt ein ritualisiertes Bewegungsmuster bei der Näherung zum präferierten Subareal (nicht ausgewertet).

Folgende Parameter wurden zur Analyse zwanghaften Verhaltens über die 30 Minuten ausgewertet:

1. Anzahl der Heimbesuche
2. Heimrückkehrrate (berechnet aus der Division der Anzahl der Heimbesuche und der Anzahl aller Stopps geteilt durch die Anzahl aller besuchten Areale zur Lokomotionsunabhängigen Beurteilung des Verhaltens)
3. die Heimrückkehrzeit
4. Halte an anderen Subarealen vor der Heimrückkehr (berechnet aus der Anzahl aller Stopps geteilt durch die Anzahl der Heimbesuche).

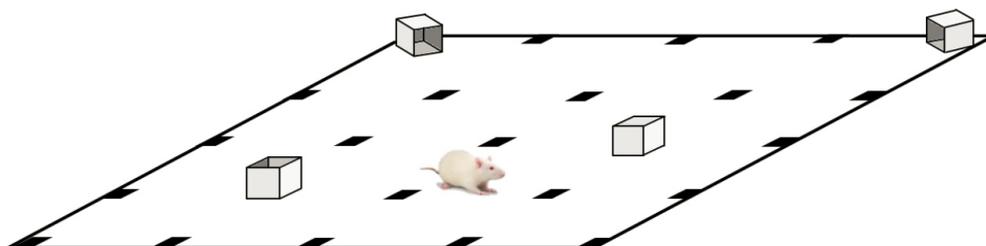


Abb. 7: schematische Darstellung des modifizierten OF (zur Verfügung gestellt von Timo Thorsten Schmidt)

2.5 Probengewinnung

Nach Beendigung der Verhaltensuntersuchungen wurde jeweils die Hälfte der Tiere einer Gruppe mittels intraperitonealer Injektion von Chloralhydrat (200mg/kg Körpergewicht in 0,9% NaCl) narkotisiert und dekapitiert. Die Gehirne wurden entnommen und in mittels flüssigen Stickstoff auf -20 bis -40°C temperiertem 2-Methylbutan (Sigma-Aldrich, Steinheim, Deutschland) für zwei Minuten schockgefroren und anschließend bei -80°C gelagert.

Die andere Hälfte der Tiere einer Gruppe wurde transkardial perfundiert. Dazu erfolgte die Thorakotomie und Inzision des rechten Atriums um einen Ablauf der Perfusionsflüssigkeit zu gewährleisten. Eine mit einer Pumpe verbundene Kanüle wurde nach Einschnitt des Apex cordis über den linken Ventrikel in die Pars ascendens der Aorta eingeführt, über die die Ratten mit zunächst 80ml auf Raumtemperatur angewärmter 0,1M Phosphat-gepufferter Kochsalzlösung (PBS, alle Chemikalien von Carl Roth, Karlsruhe, Deutschland) und anschließend 250ml gekühlten 4%iges Paraformaldehyds (PFA; Sigma-Aldrich, Steinheim, Deutschland) in 0,1M PBS (pH 7,4) perfundiert wurden. Nach Präparation der Gehirne wurden diese über Nacht in 4%igem PFA gekühlt postfixiert und anschließend zur Kryoprotektion für 3 Tage in 30% Saccharoselösung (Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland) in 0,1M PBS pH 7,4 gekühlt gelagert. Anschließend erfolgte das Gefrieren in mittels flüssigen Stickstoffs auf -60 bis -80°C temperiertes 2-Methylbutan für 50 Sekunden und die Lagerung bei -80°C.

2.6 HPLC

Die gefrorenen, nicht perfundierten Gehirne wurden am Kryostaten bei -15°C in Scheiben geschnitten (Tab. 1). Vor und nach jeder Scheibe wurde ein 20µm dicker Schnitt zur Orientierung auf Objektträger aufgenommen und anschließend nach Nissl gefärbt (70%, 90%, 96% und 100% Ethanol für je zwei Minuten, 2x Xylol für je 20 Minuten, 100%, 96%, 90% 70% Ethanol für je zwei Minuten, destilliertes Wasser für zwei Minuten, kurzes Schwenken in 1% Kresylviolett (Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland) in destilliertem Wasser, 70%, 90%, 96% und 100% Ethanol für je zwei Minuten, 2x Xylol für je zwei Minuten, Entellan®). Aus den Scheiben wurden auf Trockeneis Stanzen mit einem Durchmesser von 1mm entnommen.

Die Proben wurden unmittelbar danach auf Eis per Ultrahomogenisator in entsprechendem Volumen (Tab. 1) von 0,1M Perchlorsäure (Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland) homogenisiert. Ein Volumen von 100µl des Homogenats wurde in 100µl 1M Natriumhydroxid (Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland) zur Proteinbestimmung nach Lowry aufgenommen. Das übrige Homogenat wurde bei 17000g für zehn Minuten bei 4°C zentrifugiert. Vom Überstand wurden 20µl in 20µl 0,5M Boratpuffer für die Gehaltsbestimmungen der Aminosäuren Glutamat, Glutamin und GABA mittels HPLC aufgenommen. Der verbliebene Überstand wurde für die Gehaltsbestimmungen der Monoamine DA, DOPAC, 5-HT und 5-Hydroxyindolessigsäure (5-HIAA) mittels HPLC verwendet:

Tab. 1: Schnitt- und Stanzprotokoll. Koordinaten bezogen auf Bregma, nach Paxinos & Watson Atlas 1998

Scheibe	AP-Koordinate	Stanze	Stanzkoordinate (mediolateral/dorsoventral)	Perchlorsäure
1	3,2 - 2,2	Cg1	Unilateral 0/2	250µl
1	3,2 - 2,2	PrL	Unilateral 0/3,8	250µl
1	3,2 - 2,2	IL	Unilateral 0/5,2	250µl
1	3,2 - 2,2	VO	Bilateral 2/5,3	500 µl
1	3,2 - 2,2	LO	Bilateral 3,2/5,2	500 µl
2	1,7 - 0,7	Nacc	Bilateral 1,4/6,8	500 µl
3	0,7 - -0,3	CPu	Bilateral 2/4	500 µl
4	-0,8 - -1,3	LGP	Bilateral 2,6/6,6	250µl
5	-2,1 - -3,1	HPC	Bilateral 0,6/4	500 µl
5	-2,1 - -3,1	DM	Unilateral 0/5	250µl
5	-2,1 - -3,1	EP	Bilateral 2,6/7,6	500 µl
6	-3,6 - -4,1	STN	Bilateral 2,4/8	250µl
7	-4,8 - -5,8	SN	Bilateral 1,4/8,2	500 µl

Die Säule (Prontosil 120-3-C18-SH; Länge 150 mm, innerer Durchmesser 3mm, Bischoff Analysetechnik und –geräte GmbH, Leonberg, Germany) der HPLC mit elektrochemischer Detektion (beschrieben von Felice et al. 1978, Sperk 1982) bei einer Flussrate von 0,55ml/min und einem Strom von 50nA wurde mit 50µl Analytbeinhaltender Perchlorsäure befüllt. Die mobile Phase bestand aus 80mM Natriumhydrogenphosphat, 0,85mM 1-Octansulfonsäure Natriumsalzmonohydrat, 0,5mM Dinatriumdihydrogenethylen-diamintetraacetat-2-hydrat, 0,92mM Phosphorsäure und 4% 2-Propanol (alle Chemikalien von Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland). Die Monoamine wurden mittels elektrochemischer Detektion (41000, Chromsystems Instruments & Chemicals GmbH München, Deutschland) bei einem Elektrodenpotential von 0,8V bestimmt. Vor und nach Probenaufnahme wurden 20µl einer Standardlösung mit bekannter Konzentration (0,1µM DOPAC, 5-HIAA und 5-HAT und 1µM DA) bei einem Strom von 50nA gemessen. Die Aminosäuren wurden mittels der von Piepponen und Skujins (2001) beschriebenen Methode bestimmt. Sie wurden durch eine Vorsäule mit O-Phthalaldehyd-2-Mercaptoethanol mittels einem gekühlten Autoinjektor derivatisiert und durch eine HPLC Säule (ProntoSil C18 ace-EPS) mit einer Flussgeschwindigkeit von 0,6ml/min und einer Temperatur von 40°C getrennt. Die mobile Phase beinhaltete 50mM Natriumacetat pH 5,7 mit einem linearen Gradienten von 5% bis 21% Acetonitril. Derivatisierte Aminosäuren wurden mit einer Fluoreszenzanregung bei 450nm bei einer Exzitation von 330nm detektiert. Die Probenanalyse erfolgte auf computerbasierender (CSW 1.7 dataApex Ltd., Prag, Tschechien) Berechnung der Fläche unter der Kurve in Bezug auf den Mittelwert der zweifach applizierten Standardlösung. Die Konzentrationen der Transmitter der Regionen VO und LO (zusammen OFC) sowie Cg1, PrL und IL (zusammen mPFC) wurden gemittelt.

2.7 Immunhistochemie

Die perfundierten gefrorenen Gehirne wurden am Kryostaten bei -21°C in $40\mu\text{m}$ dicke, koronale Schnitte geschnitten und alternierend in 24 Serien frei flotierend in Kryoprotectant (25% Glycerin (Applichem, Darmstadt, Deutschland), 25% Ethylenglykol (Applichem, Darmstadt, Deutschland) in 0,1M PBS pH7,4 aus 18g NaCl, 5,26g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ und 28,9g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) aufgenommen.

Folgende Antigene wurden immunhistochemisch nachgewiesen (Tab. 2):

Tab. 2: Übersicht der detektierten Antigene

Antigen	Funktion	Primärantikörper	Sekundärantikörper (biotinyliert)
BrdU	Thymidinanalogon, wird vom Zeitpunkt der Applikation während der Mitose statt Thymidin in die DNA-Sequenz eingebaut, Proliferationsmarker	1/500 rat anti BrdU AbED Serotec OBT0030	1/500 Donkey anti Rat Dianova 712-065-150
c-Fos	Transkriptionsfaktor, dessen Gen nach Generierung eines Aktionspotentials exprimiert wird, Aktivitätsmarker	1/500 rabbit anti c-Fos Santa Cruz sc-52	1/1000 Goat anti rabbit Vector BA1000
Ki67	Protein, während der G0-Phase der Mitose nicht nachweisbar, zeigt sich teilende Zellen an, Proliferationsmarker	1/500 rabbit anti Ki67pNcl Novocastra NCL-Ki67p	1/1000 Goat anti rabbit Vector BA1000
NeuN	Markiert alle neuronalen Kerne	1/5000 mouse anti NeuN Millipore MAB377	1/1000 Goat anti mouse Vector BA9200
TH	Schrittmacherenzym zur DA-Synthese	1/10000 mouse anti TH Sigma T1299	1/1000 Goat anti mouse Vector BA9200
VMAT2	Transportiert Monoamine wie DA und 5-HT aus dem synaptischen Spalt zurück in die Präsynapse	1/100 rabbit anti VMAT2 Santa Cruz sc-7721	1/1000 Goat anti rabbit Vector BA1000
Zif268	Transkriptionsfaktor, dessen Gen nach synaptischer Exocytose exprimiert wird, Aktivitätsmarker	1/50 rabbit anti Zif268 Santa Cruz sc-189	1/1000 Goat anti rabbit Vector BA1000

Folgendes Protokoll fand zur Färbung frei flotierender Hirnschnitte Anwendung:

- 3 x 10min 0,1M PBS pH7,4
- 15min 0,6% H₂O₂ (Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland) in 0,1M PBS pH 7,4
- 3 x 10min 0,1M PBS pH7,4
- Nur bei BrdU:
30min bei 37°C 2N HCl, 10min 0,1M Boratpuffer pH8,5, 6 x 5min 0,1M PBS pH7,4
- 30min 0,3% Triton®X-100 (Ferak Berlin, Berlin, Deutschland) in 0,1M PBS pH 7,4 und 5% des jeweiligen Serums (Vector, Burlingame, USA) von der Hostspezies des Sekundärantikörpers in 0,1M PBS pH7,4
- 24h bei 8°C Primärantikörper in der jeweiligen Konzentration in 0,3% Triton®X-100 in 0,1M PBS pH 7,4 und 5% des jeweiligen Serums von der Hostspezies des Sekundärantikörpers in 0,1M PBS pH7,4
- 3 x 15min 0,1M PBS pH7,4
- 30min 0,2% Bovines Serumalbumin (Sigma-Aldrich, Steinheim, Deutschland) in 0,1M PBS pH7,4
- 24h bei 8°C biotinylierter Sekundärantikörper in der jeweiligen Konzentration in 0,2% Bovinen Serumalbumin in 0,1M PBS pH7,4
- 3 x 15min 0,1M PBS pH7,4
- 1h Vector ABC PK6100 (nach Herstellerprotokoll)
- 3 x 15min 0,1M PBS pH7,4
- 5min 0,025% 3,3-Diaminobenzidintetrachlorid (DAB, Sigma-Aldrich, Steinheim, Deutschland), 1,6% H₂O₂, 10% 0,1M TBS pH7,4 (Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland) in destilliertem Wasser
- 6 x 5min 0,1M PBS pH7,4
- Aufziehen auf Objektträger (Thermo Scientific Superfrost®Plus, Gerhard Menzel GmbH, Braunschweig, Deutschland)
- Je 2min 70%, 90%, 96% 100% Ethanol (JT Baker, Deventer, Niederlande)
- 2min Xylol (Sigma-Aldrich, Steinheim, Deutschland)
- Aufbringen von Deckgläsern (R. Langenbrinck, Emmendingen, Deutschland) mit Hilfe von Entellan® (Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland)

2.8 Cytochrom-Oxidase-Histochemie

Die Hälfte der gefrorenen, nicht perfundierten Gehirne pro Gruppe wurde am Kryostaten bei 15°C in 20µm dicke, koronale Schnitte geschnitten, wobei von jeder relevanten Region (VO, LO, Cg1, IL, PrL 3,2; 1,7 Nacc; CPu 0,7; LGP -0,8; HPC, DM, EP -2,12; STN -3,6, SN -4,8; jeweils AP-Koordinaten bezogen auf Bregma, nach Paxinos & Watson Atlas 1998) drei konsequente Schnitte auf Objektträger aufgenommen wurden. Die Färbung erfolgte nach Nobrega et al. 1998. In einer Inkubationslösung aus 168mg DAB, 30mg Cytochrome C Type III (Sigma-Aldrich, Steinheim, Deutschland) und 8g Saccharose in 180ml 0,1M PBS pH7,4 wurden je 20 Objektträger simultan für eine Stunde bei 37°C in Dunkelheit inkubiert. Nach viermaligem Spülen in kaltem 0,1M PBS pH7,4 und anschließendem Trocknen durchliefen die Objektträger eine aufsteigende Alkoholreihe (70%, 90%, 96% 100% für je 2 Minuten). Nach zweimaligen Schwenken in Xylol wurden mit Entellan® Deckgläser aufgebracht. Die Auswertung erfolgte densitometrisch.

2.9 Zellzählung

BRDU- und Ki67-positive Zellen wurden in den Zonen der adulten Neurogenese (subventrikulären Zone (SVZ), granuläre Zellschicht des Gyrus dentatus (DG)) und in der SN (Vgl. Steiner et al. 2006) in jedem zwölften Schnitt bilateral und manuell am Lichtmikroskop gezählt. Die Anzahl aller positiven Zellen wurde über die Anzahl der Schnitte und Hemisphären gemittelt.

NeuN- und TH-positive Zellen wurden in der SN (Syntheseort) auf Höhe des medialen Nucleus des accessorischen optischen Traktes (AP-Koordinate 5,2 bezogen auf Bregma, nach Paxinos & Watson Atlas 1998) bilateral und manuell am Lichtmikroskop gezählt. Die Anzahl aller positiven Zellen wurde über die Hemisphären gemittelt.

C-Fos- und Zif268-positive Zellen wurden nach Carson et al. 2010 in 14 verschiedenen Regionen (Cg1, PrL, IL, VO, LO, 3,2; 1,7 Nacc; CPu 0,7; LGP -0,8; HPC, DM, EP -2,12; STN -3,6, SN -4,8; jeweils AP Koordinaten bezogen auf Bregma, nach Paxinos & Watson Atlas 1998) in je einem Schnitt innerhalb eines Zählrahmens mit einer Größe von 0,5x0,5mm bei einem 20fach vergrößerndem Objektiv bilateral und manuell am Lichtmikroskop gezählt. Die Anzahl aller positiven Zellen wurde über die Hemisphären gemittelt. Die Anzahl der positiven Zellen der Regionen VO und LO (zusammen OFC) wurden ebenso wie die von Cg1, PrL und IL (zusammen mPFC) addiert.

2.10 Densitometrie

Die immunhistochemische Färbung von CO und VMAT2 (Regionen siehe c-Fos und Zif268) sowie NeuN und TH im CPu (Sekretionsort) wurden densitometrisch ausgewertet (Nobrega et al. 1998). Die Objektträger wurden auf einen von unten beleuchteten Tisch gebracht und der zu messende Schnitt mit einer Kamera, die mit einem Computer verbunden war, fotografiert. Die Graustufen innerhalb einer Zählregion, die manuell und bilateral in die jeweilige Region gelegt wurde, wurden mittels MCID (Abkürzung) Software gemessen, wobei jede Region in Relation zum Corpus callosum auf demselben Schnitt bezogen wurde. Gemessen wurde die integrierte optische Dichte gemittelt über die gemessene Fläche. Die optische Dichte wurde über die Hemisphären gemittelt. Der Mittelwert der optischen Dichte der Regionen VO und LO (zusammen OFC) wurden ebenso wie die von Cg1, PrL und IL (zusammen mPFC) gemittelt.

2.11 Datenanalyse

Das Verhalten im OF, die Zellzahlen für die jeweiligen Antigene pro Region, die optischen Dichten für die jeweiligen Antigene pro Region und der jeweilige Transmittergehalt pro Region wurden mittels zweifacher Varianzanalyse (engl. Two-Way-ANOVA) mit den Faktoren Behandlung (QNP und NaCl) und Behandlungsdauer (akut(-), akut(+), chronisch) ausgewertet. Für die Ergebnisse der Verhaltensanalyse wurden die zwei akuten Gruppen zusammengefasst, da sich zum Zeitpunkt der Verhaltensanalyse zwischen den beiden akuten Gruppen noch kein Unterschied ergibt. Um paarweise multiple Vergleiche anzustellen, wurde der Holm-Sidak post-hoc-Test angewendet. Das Signifikanzniveau war bei $p \leq 0,05$. Die Ergebnisse sind angegeben als Mittelwert \pm Standardabweichung.

3 Ergebnisse

3.1 Phänotypinduktion

Die chronisch-intermittierende, nicht jedoch die akute Gabe von QNP, in Verbindung mit der Präsenz auf einem modifizierten OF über einen Zeitraum von fünf Wochen induziert nach den Kriterien von Szechtman et al. (1998) Kontrollverhalten bei den Ratten.

In der Anzahl der Heimbesuche ergibt sich ein Haupteffekt in der Behandlung ($F(1,112)=56,449$; $p<0,001$), der Behandlungsdauer ($F(1,112)=27,803$; $p<0,001$) und ein Interaktionseffekt ($F(1,112)=42,822$; $p<0,001$). QNPc Ratten besuchen ihr „Heim“ häufiger als NaClc und QNPa Ratten (je $p\leq 0,001$) (Abb. 8a).

In der Heimrückkehrrate ergibt sich ebenfalls ein Haupteffekt in der Behandlung ($F(1,112)=39,409$; $p<0,001$), der Behandlungsdauer ($F(1,112)=56,808$; $p<0,001$) und ein Interaktionseffekt ($F(1,112)=40,914$; $p<0,001$). Das Verhältnis von tatsächlicher zur erwarteten Heimrückkehr der QNPc Ratten höher ist als das von NaClc und QNPa Ratten (je $p\leq 0,001$) (Abb. 8b).

Für die Zeit, die die Ratten zur Heimrückkehr benötigten, ergibt sich ebenso ein Haupteffekt in der Behandlung ($F(1,110)=15,987$; $p<0,001$), ein nahezu signifikanter Haupteffekt in der Behandlungsdauer ($F(1,110)=3,747$; $p=0,055$) und ein Interaktionseffekt ($F(1,110)=9,852$; $p=0,002$). QNPc Ratten kehren schneller als NaClc und QNPa Ratten zu ihrem „Heim“ zurück (je $p\leq 0,001$) (Abb. 8c).

Für die Halte an anderen Arealen vor der Rückkehr zum „Heim“ ergibt sich schließlich auch ein Haupteffekt in der Behandlung ($F(1,98)=8,433$; $p=0,005$), der Behandlungsdauer ($F(1,98)=41,870$; $p<0,001$) und ein Interaktionseffekt ($F(1,98)=4,451$; $p=0,037$). QNPc Ratten halten weniger häufig vor der Heimrückkehr als NaClc ($p=0,005$) und QNPa ($p\leq 0,001$) Ratten. Die Ergebnisse zeigen auch, dass NaClc Ratten weniger häufig vor der Heimrückkehr Halt machen als NaCla Ratten ($p=0,004$). Dies weist auf einen Gewöhnungseffekt in den Kontrollratten hin, die das OF mit wiederholter Exposition weniger ausführlich explorieren (Abb. 8d).

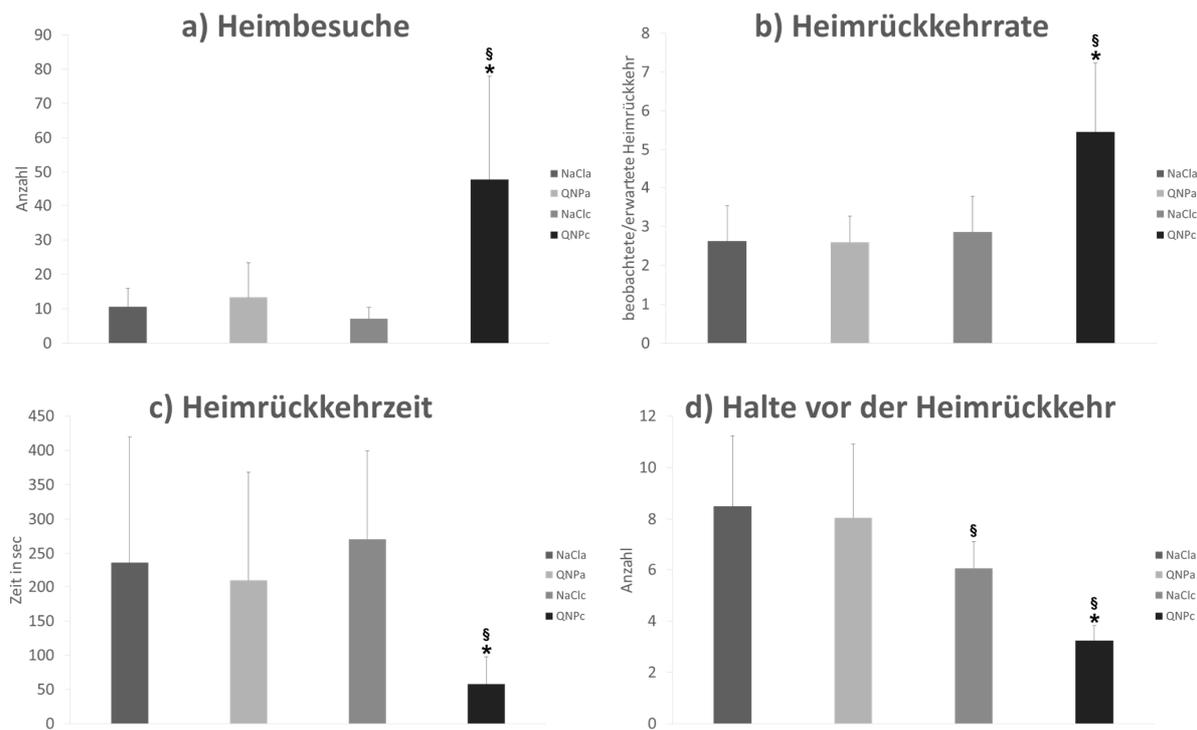


Abb. 8: Phänotypinduktion, Daten \pm SD, $p \leq 0,05$, NaCl $n=37$, QNPa $n=39$, NaClc $n=20$, QNPc $n=20$, * signifikant vs. jeweilige NaCl Gruppe, § vs. jeweilige akut(a) Gruppe

3.2 Gesamt-Transmitter-Gehalte und -DA-Umsatz

Zunächst wurden für jeden Transmitter die Gehalte der Regionen gepoolt, um eine allgemeine Aussage über den Gehalt des jeweiligen Transmitters in den Gehirnen der Ratten treffen zu können. Tab. 3 zeigt etwaige Haupt- und Interaktionseffekte. Der Gehalt an DA ist bei QNPc Ratten im Vergleich zu NaClc ($p=0,006$), QNPa(+) ($p=0,044$) und QNPa(-) ($p=0,024$) Ratten höher. Der Gehalt an DOPAC ist bei diesen Ratten im Vergleich zu NaClc und QNPa(+) Ratten geringer (je $p \leq 0,001$). Auch QNPa(-) Ratten zeigen geringere Gehalte von DOPAC im Vergleich zu NaCl(-) und QNPa(+) Ratten (je $p \leq 0,001$). Für den Gehalt an 5-HT und 5-HIAA ergeben sich keine signifikanten Unterschiede. Für den Gehalt an Glutamat ergibt sich ein Haupteffekt in der Behandlung - mit QNP behandelte Ratten weisen geringere Gehalte im Vergleich zu Kontrollratten auf. Für den Gehalt an Glutamin zeigen die Daten, dass chronisch ($p=0,018$) und a(+) ($p=0,023$) behandelte Ratten weniger aufweisen als a(-) behandelte. Im GABA-Gehalt zeichnet sich ein Trend zur höheren Werten bei chronisch ($p=0,099$) und a(-) ($p=0,089$) behandelten Ratten im Vergleich zu a(+) behandelten ab (Abb. 9).

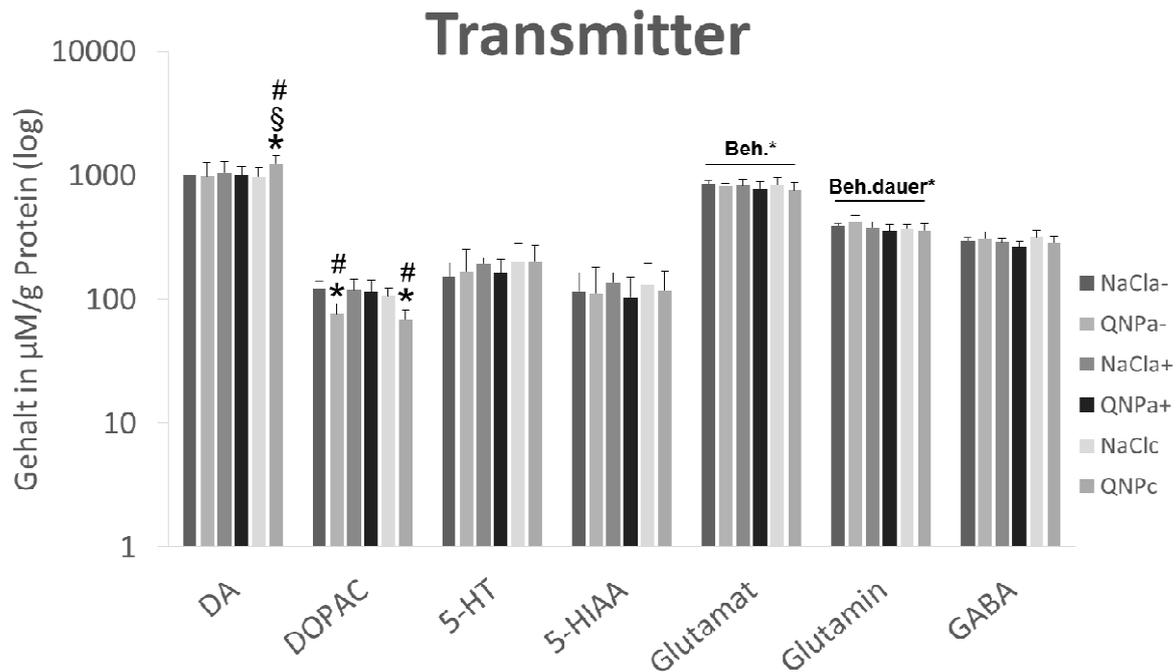


Abb. 9: Gesamtgehalt der Transmitter in $\mu\text{M/g Protein}$, Daten \pm -SD, $p \leq 0,05$, NaCl(-) $n=10$, QNPa(-) $n=10$, NaCl(+) $n=9$, QNPa(+) $n=10$, NaClc $n=10$, QNPc $n=10$, * signifikant vs. jeweilige NaCl Gruppe, § vs. jeweilige a(-) Gruppe, # vs. jeweilige a(+) Gruppe, Beh.* Haupteffekt Behandlung, Beh.dauer* Haupteffekt Behandlungsdauer

Tab. 3: Transmitter 2-Way-Anova, F- und p-Werte der Haupteffekte

Region	Effekte	F	p
DA	Haupteffekt Behandlung	(1,51)=1,511	0,225
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,51)=1,377	0,261
	Interaktionseffekt	(2,51)=3,717	0,031
DOPAC	Haupteffekt Behandlung	(1,53)=32,615	<0,001
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,53)=11,945	<0,001
	Interaktionseffekt	(2,53)=6,658	0,003
5-HT	Haupteffekt Behandlung	(1,53)=0,085	0,771
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,53)=2,235	0,117
	Interaktionseffekt	(2,53)=0,868	0,426
5-HIAA	Haupteffekt Behandlung	(1,53)=1,365	0,248
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,53)=0,150	0,861
	Interaktionseffekt	(2,53)=0,425	0,656
Glutamat	Haupteffekt Behandlung	(1,53)=5,017	0,029
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,53)=0,797	0,456
	Interaktionseffekt	(2,53)=0,155	0,857
Glutamin	Haupteffekt Behandlung	(1,53)=0,008	0,928
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,53)=5,055	0,010
	Interaktionseffekt	(2,53)=1,953	0,152
GABA	Haupteffekt Behandlung	(2,53)=2,572	0,115
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(1,53)=2,972	0,060
	Interaktionseffekt	(2,53)=2,012	0,144

Um Aussagen über die Umsatzrate von DA machen zu können, wurde die Ratio DOPAC/DA berechnet (Onzawa et al. 2012, Zhu et al. 2012). Andere DA-Metabolite wurden vernachlässigt, da Hauptendprodukt von DA bei Ratten DOPAC ist (Elsworth & Roth 1997). Zunächst wurden alle Ratio der Regionen gepoolt, um allgemeine Aussagen über den DA-Umsatz treffen zu können. Die Daten zeigen einen Haupteffekt in der Behandlung ($F(1,53)=66,266$; $p<0,001$), der Behandlungsdauer ($F(2,53)=18,9771$; $p<0,001$) und einen Interaktionseffekt ($F(2,53)=17,846$; $p<0,001$). QNPc und QNPa(-) Ratten weisen geringere DA Umsatzraten auf als ihre jeweilige Kontrolle und QNPa(+) Ratten (je $p<0,001$). QNPc Ratten weisen zudem einen noch geringeren DA Umsatz auf als QNPa(-) Ratten ($p<0,001$) (Abb. 10).

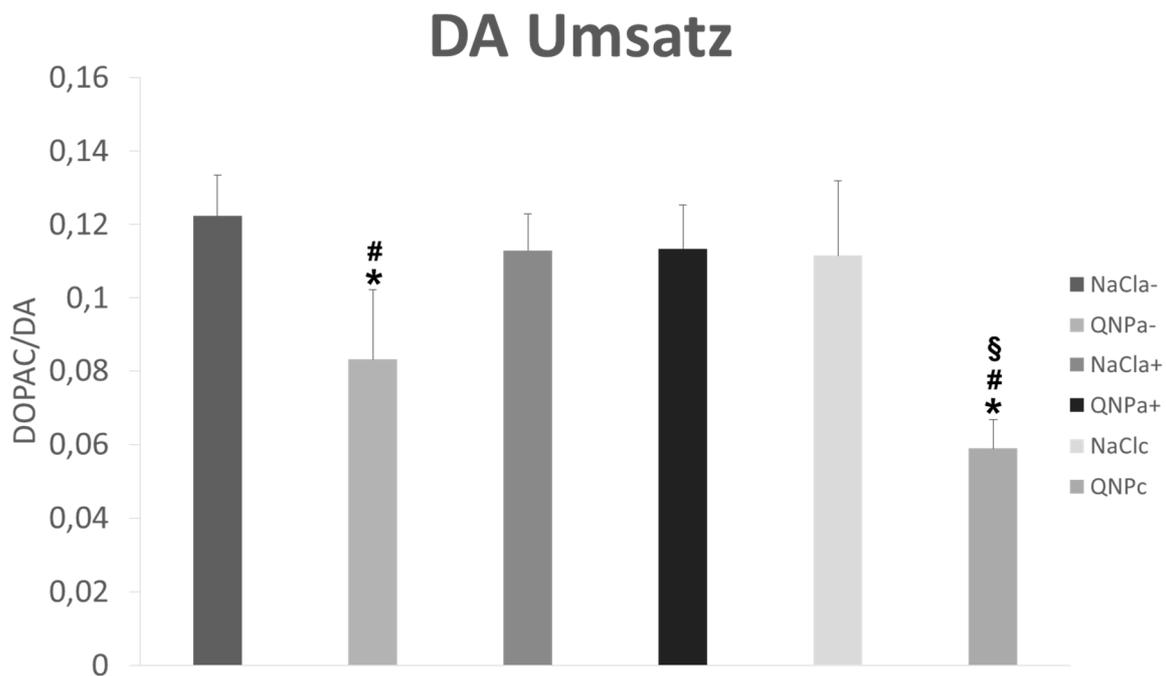


Abb. 10: Gesamt-DA-Umsatz, Daten +/-SD, $p<0,05$, NaCl a- n=10, QNPa a- n=10, NaCl a+ n=9, QNPa a+ n=10, NaCl c n=10, QNPc n=10, * signifikant vs. jeweilige NaCl Gruppe, § vs. jeweilige a(-) Gruppe, # vs. jeweilige a(+) Gruppe

3.2.1 regionenspezifischer DA- und DOPAC-Gehalt und DA-Umsatz

Der Unterschied im Gesamt-DA-Gehalt lässt sich nicht regionenspezifisch darstellen, denn die DA-Gehalte in den einzelnen Gehirnarealen unterscheiden sich nicht signifikant voneinander. Tab. 4 zeigt etwaige Haupt- und Interaktionseffekte. Im mPFC zeichnet sich ein Trend zu einem geringeren DA-Gehalt bei QNPa(+) Ratten im Vergleich zu NaCl(+)
($p=0,006$) und QNPa(-) ($p=0,071$) Ratten ab. Im CPU und DM zeichnet sich ein tendenziell höherer DA-Gehalt bei QNPc Ratten im Vergleich zu NaClc Ratten (je $p=0,034$), im DM auch im Vergleich zu QNPa(+) ($p=0,012$) und QNPa(-) ($p=0,019$) Ratten ab (Abb. 11a).

Der DOPAC-Gehalt unterscheidet sich hingegen regionenspezifisch. Tab. 5 zeigt etwaige Haupt- und Interaktionseffekte. Im mPFC, (tendenziell auch im OFC), CPU und in der SN weisen mit QNP behandelte Ratten weniger DOPAC auf als Kontrollen. Im Nacc zeigt sich ein geringerer DOPAC-Gehalt bei QNPc und QNPa(-) Ratten im Vergleich zu den jeweiligen NaCl Ratten und QNP(a+) Ratten (je $p\leq 0,001$). Auch die NaCl(-) Ratten weisen hier weniger DOPAC als NaClc Ratten auf ($p=0,026$). Im LGP zeichnet sich ein Trend zu einem höheren DOPAC-Gehalt bei a(+) Ratten im Vergleich zu a(-) Ratten ($p=0,061$), im CPU zu einem geringeren DOPAC-Gehalt von chronisch zu a(+) behandelten Ratten ab ($p=0,085$) (Abb. 11b).

Auch der Umsatz von DA unterscheidet sich regionenspezifisch. Tab. 6 zeigt etwaige Haupt- und Interaktionseffekte. Die Umsatzrate ist im OFC und LGP bei QNP behandelten geringer als bei Kontrollen. Im Nacc und CPU weisen QNPc und QNPa(-) Ratten geringere Umsatzraten auf als ihre jeweilige Kontrolle und QNPa(+) Ratten (je $p<0,001$). Im CPU weisen QNPc Ratten zudem einen noch geringeren als QNPa(-) Ratten ($p=0,002$) und NaCl(-) Ratten einen höheren DA Umsatz im Vergleich zu NaCl(+)
Ratten ($p=0,047$) auf. In der SN zeigt sich Ähnliches - QNPc ($p\leq 0,001$) und QNPa(-) Ratten ($p=0,002$) weisen geringere Umsatzraten auf als ihre jeweilige Kontrolle, QNPc auch als QNPa(+) Ratten ($p\leq 0,001$) (Abb. 11c).

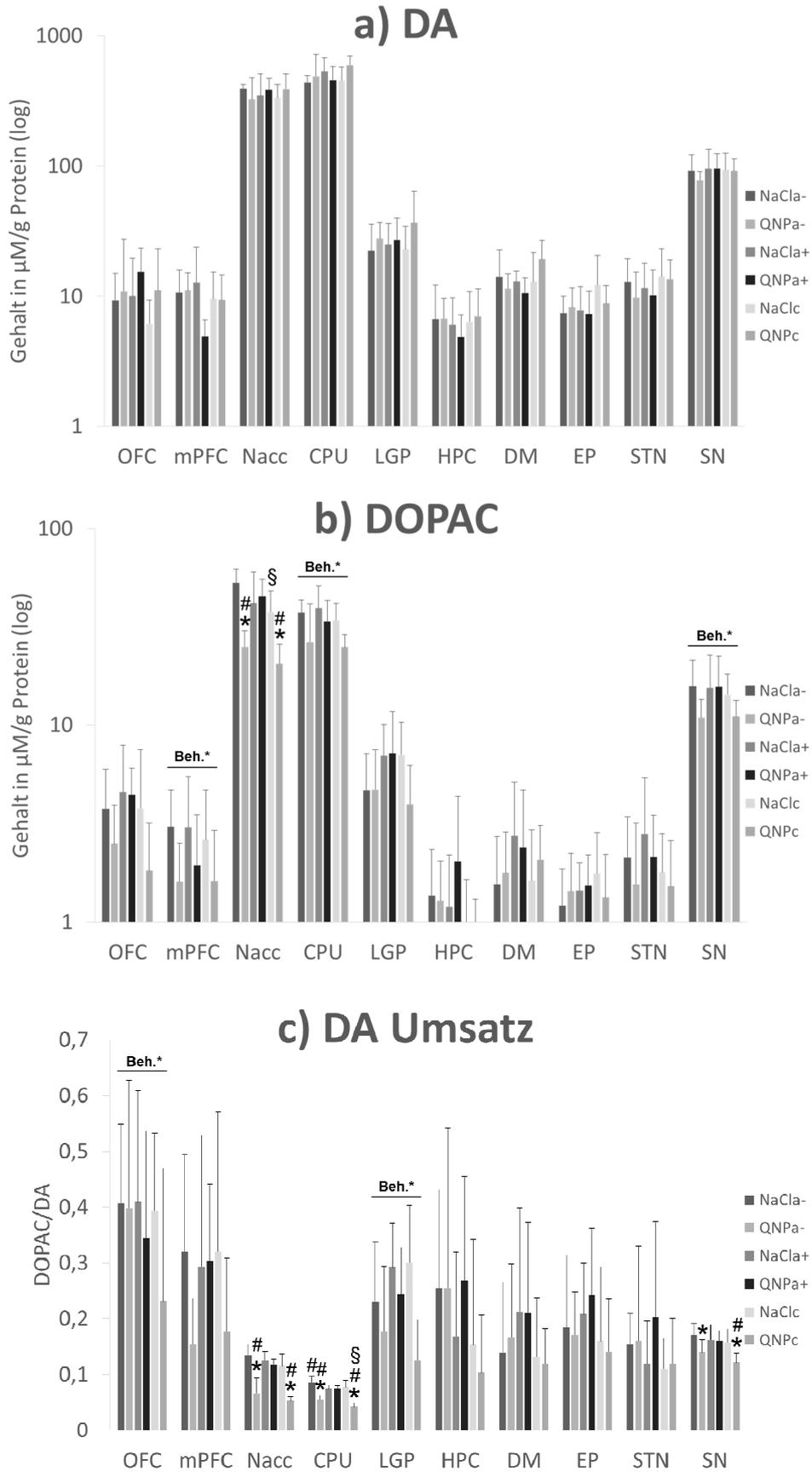


Abb. 11: DA- und DOPAC-Gehalt und DA-Umsatz pro Region, Daten +/-SD, $p < 0,05$, NaCl(-) $n=10$, QNPa(-) $n=10$, NaCl(+) $n=9$, QNPa(+) $n=10$, NaClc $n=10$, QNPc $n=10$, * signifikant vs. jeweilige NaCl Gruppe, § vs. jeweilige a(-) Gruppe, # vs. jeweilige a(+) Gruppe, Beh.* Haupteffekt Behandlung, Beh.dauer* Haupteffekt Behandlungsdauer

Tab. 4: DA 2-Way-Anova, F- und p-Werte der Haupteffekte

Region	Effekte	F	p
OFC	Haupteffekt Behandlung	(1,49)=2,003	0,163
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,49)=0,693	0,505
	Interaktionseffekt	(2,49)=0,194	0,825
mPFC	Haupteffekt Behandlung	(1,53)=2,654	0,109
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,53)=0,606	0,549
	Interaktionseffekt	(2,53)=2,884	0,065
Nacc	Haupteffekt Behandlung	(1,49)=0,072	0,789
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,49)=0,022	0,977
	Interaktionseffekt	(2,49)=1,313	0,278
CPU	Haupteffekt Behandlung	(1,49)=0,972	0,329
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,49)=0,757	0,474
	Interaktionseffekt	(2,49)=2,697	0,077
LGP	Haupteffekt Behandlung	(1,49)=2,635	0,111
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,49)=0,444	0,644
	Interaktionseffekt	(2,49)=0,591	0,558
HPC	Haupteffekt Behandlung	(1,53)=0,015	0,903
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,53)=0,582	0,562
	Interaktionseffekt	(2,53)=0,258	0,774
DM	Haupteffekt Behandlung	(1,52)=0,063	0,801
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,52)=2,408	0,100
	Interaktionseffekt	(2,52)=3,041	0,056
EP	Haupteffekt Behandlung	(1,52)=0,721	0,400
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,52)=2,464	0,095
	Interaktionseffekt	(2,52)=1,042	0,360
STN	Haupteffekt Behandlung	(1,48)=0,882	0,352
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,48)=1,104	0,340
	Interaktionseffekt	(2,48)=0,184	0,832
SN	Haupteffekt Behandlung	(1,52)=0,514	0,477
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,52)=0,733	0,486
	Interaktionseffekt	(2,52)=0,353	0,704

Tab. 5: DOPAC 2-Way-Anova, F- und p-Werte der Haupteffekte

Region	Effekte	F	p
OFC	Haupteffekt Behandlung	(1,50)=3,004	0,089
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,50)=2,386	0,102
	Interaktionseffekt	(2,50)=0,648	0,528
mPFC	Haupteffekt Behandlung	(1,53)=6,998	0,011
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,53)=0,226	0,799
	Interaktionseffekt	(2,53)=0,094	0,910
Nacc	Haupteffekt Behandlung	(1,48)=22,151	<0,001
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,48)=9,047	<0,001
	Interaktionseffekt	(2,48)=9,425	<0,001
CPU	Haupteffekt Behandlung	(1,49)=10,358	0,002
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,49)=2,576	0,086
	Interaktionseffekt	(2,49)=0,327	0,723
LGP	Haupteffekt Behandlung	(1,50)=1,261	0,267
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,50)=2,950	0,061
	Interaktionseffekt	(2,50)=1,474	0,239
HPC	Haupteffekt Behandlung	(1,53)=0,434	0,513
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,53)=2,399	0,101
	Interaktionseffekt	(2,53)=0,913	0,407
DM	Haupteffekt Behandlung	(1,52)=0,065	0,799
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,52)=1,595	0,213
	Interaktionseffekt	(2,52)=0,302	0,741
EP	Haupteffekt Behandlung	(1,51)=0,033	0,855
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,51)=0,449	0,641
	Interaktionseffekt	(2,51)=0,930	0,401
STN	Haupteffekt Behandlung	(1,49)=1,475	0,230
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,49)=1,377	0,262
	Interaktionseffekt	(2,49)=0,082	0,921
SN	Haupteffekt Behandlung	(1,52)=4,015	0,050
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,52)=1,656	0,201
	Interaktionseffekt	(2,52)=1,249	0,295

Tab. 6: DA Umsatz 2-Way-Anova, F- und p-Werte der Haupteffekte

Region	Effekte	F	p
OFC	Haupteffekt Behandlung	(1,49)=4,136	0,047
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,49)=1,090	0,344
	Interaktionseffekt	(2,49)=1,276	0,288
mPFC	Haupteffekt Behandlung	(1,53)=1,101	0,299
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,53)=1,556	0,220
	Interaktionseffekt	(2,53)=2,357	0,105
Nacc	Haupteffekt Behandlung	(1,49)=79,102	<0,001
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,49)=18,475	<0,001
	Interaktionseffekt	(2,49)=14,629	<0,001
CPU	Haupteffekt Behandlung	(1,49)=84,455	<0,001
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,49)=14,344	<0,001
	Interaktionseffekt	(2,49)=22,402	<0,001
LGP	Haupteffekt Behandlung	(1,49)=12,844	<0,001
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,49)=2,399	0,101
	Interaktionseffekt	(2,49)=2,470	0,095
HPC	Haupteffekt Behandlung	(1,53)=0,223	0,639
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,53)=3,299	0,045
	Interaktionseffekt	(2,53)=0,448	0,641
DM	Haupteffekt Behandlung	(1,52)=0,016	0,899
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,52)=2,049	0,139
	Interaktionseffekt	(2,52)=0,125	0,883
EP	Haupteffekt Behandlung	(1,52)=0,001	0,981
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,52)=2,187	0,123
	Interaktionseffekt	(2,52)=0,320	0,727
STN	Haupteffekt Behandlung	(1,48)=1,668	0,203
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,48)=1,122	0,334
	Interaktionseffekt	(2,48)=1,166	0,320
SN	Haupteffekt Behandlung	(1,52)=16,926	<0,001
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,52)=5,157	0,009
	Interaktionseffekt	(2,52)=3,399	0,041

3.2.2 regionenspezifischer 5-HT- und 5-HIAA-Gehalt

Auch regionenspezifisch unterscheiden sich die 5-HT- und 5-HIAA-Gehalte zwischen den verschiedenen Gruppen kaum voneinander unterscheiden. Tab. 7 und 8 zeigen etwaige Haupt- und Interaktionseffekte. Lediglich im LGP zeigt sich ein geringerer 5-HT-Gehalt bei QNPa(+) Ratten im Vergleich zur Kontrolle ($p=0,025$), wobei diese Kontrollratten signifikant höhere 5-HT-Gehalte aufweisen als NaCl(-) Ratten ($p=0,015$). QNPc Ratten weisen hier höhere 5-HT-Gehalte auf als QNPa(+) ($p=0,018$) und QNPa(-) Ratten ($p=0,011$). Im OFC zeichnet sich ein Trend zu einem höheren 5-HT-Gehalt bei mit QNP behandelten Ratten im Vergleich zu den Kontrollen ab. Im mPFC zeichnet sich ein Trend zu höheren 5-HT-Gehalten bei chronisch im Vergleich zu a(-) behandelten Ratten ab ($p=0,050$) (Abb. 12).

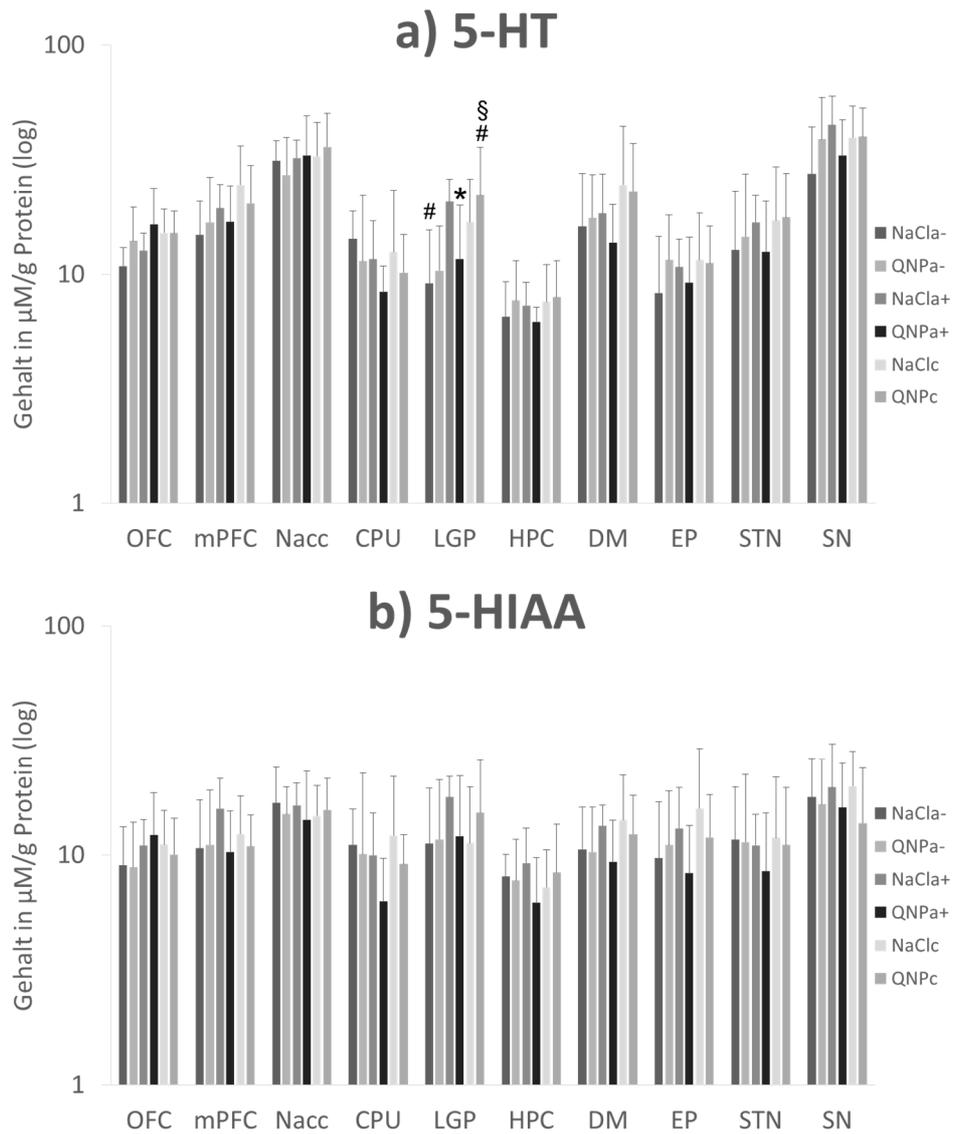


Abb. 12: 5-HT- und 5-HIAA-Gehalt pro Region, Daten \pm SD, $p < 0,05$, NaCl(-) $n=10$, QNPa(-) $n=10$, NaCl(+) $n=9$, QNPa(+) $n=10$, NaClc $n=10$, QNPc $n=10$, * signifikant vs. jeweilige NaCl Gruppe, § vs. jeweilige a(-) Gruppe, # vs. jeweilige a(+) Gruppe

Tab. 7: 5-HT 2-Way-Anova, F- und p-Werte der Haupteffekte

Region	Effekte	F	p
OFC	Haupteffekt Behandlung	(1,53)=3,701	0,060
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,53)=2,027	0,142
	Interaktionseffekt	(2,53)=0,973	0,385
mPFC	Haupteffekt Behandlung	(1,53)=0,480	0,492
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,53)=3,133	0,052
	Interaktionseffekt	(2,53)=0,708	0,497
Nacc	Haupteffekt Behandlung	(1,49)=0,001	0,981
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,49)=0,758	0,474
	Interaktionseffekt	(2,49)=0,372	0,691
CPU	Haupteffekt Behandlung	(1,48)=1,980	0,166
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,48)=0,641	0,531
	Interaktionseffekt	(2,48)=0,020	0,980
LGP	Haupteffekt Behandlung	(1,50)=0,148	0,702
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,50)=6,151	0,004
	Interaktionseffekt	(2,50)=3,363	0,043
HPC	Haupteffekt Behandlung	(1,53)=0,025	0,875
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,53)=0,609	0,547
	Interaktionseffekt	(2,53)=0,746	0,479
DM	Haupteffekt Behandlung	(1,52)=0,224	0,638
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,52)=2,199	0,121
	Interaktionseffekt	(2,52)=0,283	0,755
EP	Haupteffekt Behandlung	(1,52)=0,085	0,772
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,52)=0,387	0,681
	Interaktionseffekt	(2,52)=0,901	0,412
STN	Haupteffekt Behandlung	(1,50)=0,055	0,816
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,50)=0,699	0,502
	Interaktionseffekt	(2,50)=0,442	0,645
SN	Haupteffekt Behandlung	(1,52)=0,001	0,978
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(1,52)=0,999	0,375
	Interaktionseffekt	(1,52)=2,539	0,089

Tab. 8: 5-HIAA 2-Way-Anova, F- und p-Werte der Haupteffekte

Region	Effekte	F	p
OFC	Haupteffekt Behandlung	(1,53)=0,001	0,999
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,53)=1,575	0,217
	Interaktionseffekt	(2,53)=0,297	0,744
mPFC	Haupteffekt Behandlung	(1,53)=1,968	0,167
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,53)=0,660	0,521
	Interaktionseffekt	(2,53)=1,261	0,292
Nacc	Haupteffekt Behandlung	(1,49)=0,370	0,546
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,49)=0,059	0,943
	Interaktionseffekt	(2,49)=0,359	0,700
CPU	Haupteffekt Behandlung	(1,49)=1,516	0,224
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,49)=0,658	0,253
	Interaktionseffekt	(2,49)=0,139	0,871
LGP	Haupteffekt Behandlung	(1,50)=0,034	0,854
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,50)=0,760	0,473
	Interaktionseffekt	(2,50)=1,404	0,255
HPC	Haupteffekt Behandlung	(1,53)=0,560	0,457
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,53)=0,012	0,988
	Interaktionseffekt	(2,53)=1,535	0,225
DM	Haupteffekt Behandlung	(1,52)=1,845	0,180
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,52)=1,188	0,313
	Interaktionseffekt	(2,52)=0,515	0,600
EP	Haupteffekt Behandlung	(1,52)=1,279	0,263
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,52)=1,091	0,344
	Interaktionseffekt	(2,52)=0,774	0,466
STN	Haupteffekt Behandlung	(1,50)=0,272	0,605
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,50)=0,237	0,790
	Interaktionseffekt	(2,50)=0,081	0,923
SN	Haupteffekt Behandlung	(1,52)=2,180	0,146
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,52)=0,063	0,939
	Interaktionseffekt	(2,52)=0,313	0,732

3.2.3 regionenspezifischer Glutamat- Glutamin- und GABA-Gehalt

Der Unterschied im Gesamt-Glutamat-Gehalt lässt sich auch regionenspezifisch darstellen. Tab. 9 zeigt etwaige Haupt- und Interaktionseffekte. So weisen mit QNP behandelte Ratten im mPFC, HPC und tendenziell im CPu weniger Glutamat auf als die Kontrollratten. Chronisch behandelte Ratten weisen im LGP weniger Glutamat auf als a(+) behandelte ($p=0,020$). Allerdings weisen a(+) behandelte Ratten im DM weniger Glutamat auf als beide anderen Gruppen (je $p \leq 0,001$) (Abb. 13a).

Auch der Unterschied im Gesamt-Glutamin-Gehalt lässt sich regionenspezifisch darstellen. Tab. 10 zeigt etwaige Haupt- und Interaktionseffekte. Chronisch und a(+) behandelte Ratten weisen weniger Glutamin im CPu (c: $p=0,026$, a(+): $p=0,014$) und STN (c: $p=0,052$, a(+): $p=0,060$) auf als a(-) behandelte. Im HPC weisen nur chronisch im Vergleich zu a(-) behandelten Ratten geringere Glutamin-Gehalte auf ($p=0,004$). Im DM zeigen chronisch und a(-) behandelte Ratten höhere Glutamin-Gehalte im Vergleich zu a(+) behandelten (je $p \leq 0,001$) (Abb. 13b).

Obwohl sich im Gesamtgehalt von GABA keine signifikanten Unterschiede darstellen lassen, liegen diese jedoch in einzelnen Regionen vor. Tab. 11 zeigt etwaige Haupt- und Interaktionseffekte. Im mPFC weisen chronisch ($p=0,024$) behandelte weniger, a(-) ($p=0,031$) behandelte Ratten mehr GABA auf als a(+) behandelte Ratten. Chronisch ($p=0,012$) und a(+) ($p=0,016$) behandelte Ratten weisen im CPu weniger GABA auf als a(-) behandelte. Daneben zeichnet sich hier ein Trend zu geringeren GABA-Gehalten bei mit QNP behandelten im Vergleich zu mit NaCl behandelten Ratten ab ($p=0,081$). Im LGP zeigen chronisch behandelte Ratten mehr GABA als beide anderen Gruppen (je $p \leq 0,001$). Im HPC wirkt sich die Behandlung mit QNP reduzierend auf den GABA-Gehalt aus. Zudem ist der GABA-Gehalt bei chronisch behandelten geringer als bei a(-) behandelten ($p=0,033$). In der SN zeigt sich ein geringerer GABA-Gehalt bei a(+) behandelten Ratten im Vergleich zu a(-) behandelten Ratten ($p=0,015$), tendenziell auch im Vergleich zu chronisch behandelten Ratten ($p=0,055$) (Abb. 13c).

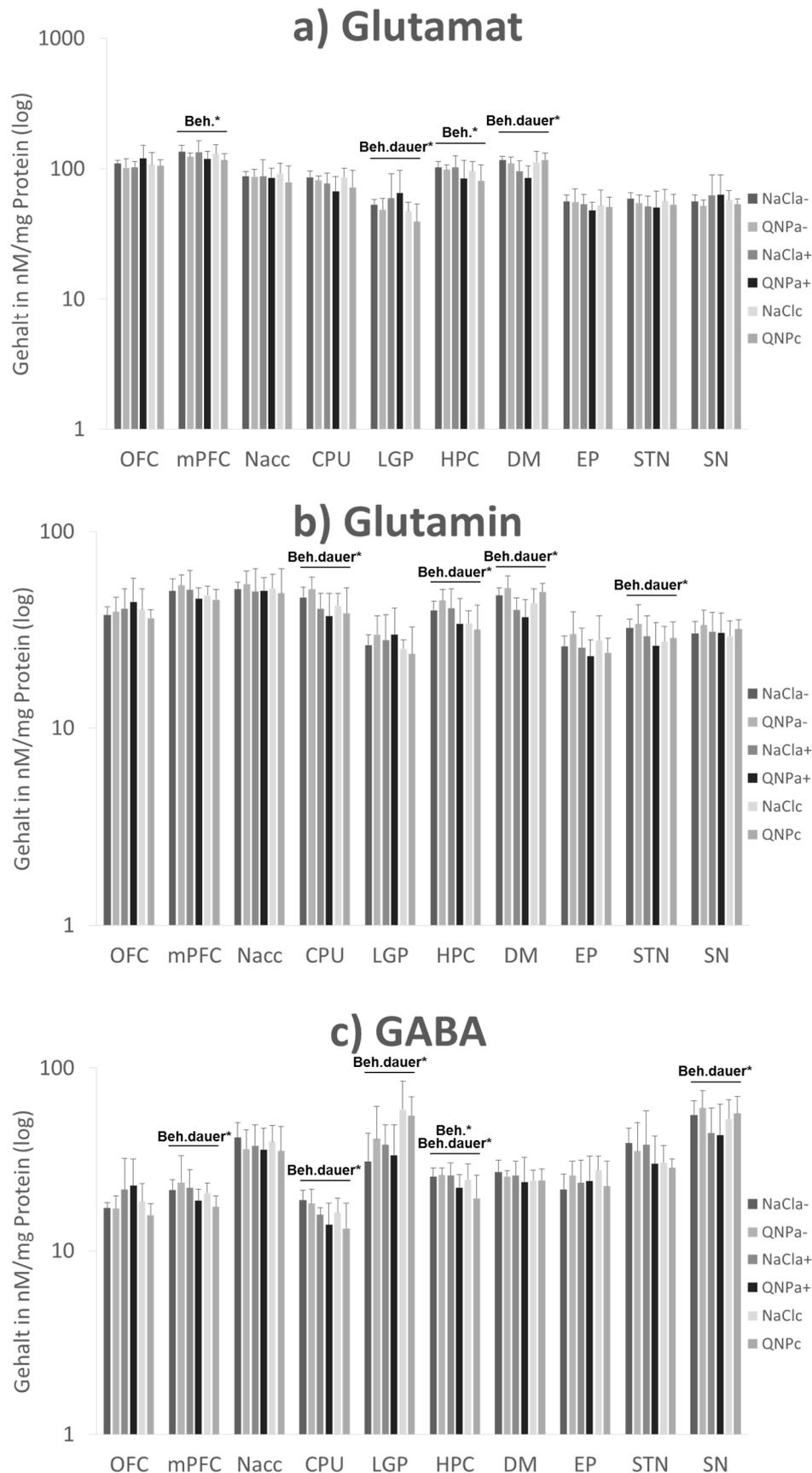


Abb. 13: Glutamat-, Glutamin- und GABA-Gehalt pro Region, Daten +/-SD, $p < 0,05$, NaCl(-) $n=10$, QNPa(-) $n=10$, NaCl(+) $n=9$, QNPa(+) $n=10$, NaClc $n=10$, QNPc $n=10$, Beh.* Haupteffekt Behandlung, Beh.dauer* Haupteffekt Behandlungsdauer

Tab. 9: Glutamat 2-Way-Anova, F- und p-Werte der Haupteffekte

Region	Effekte	F	p
OFC	Haupteffekt Behandlung	(1,53)=0,170	0,681
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,53)=0,445	0,643
	Interaktionseffekt	(2,53)=2,072	0,136
mPFC	Haupteffekt Behandlung	(1,53)=7,901	0,007
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,53)=0,464	0,631
	Interaktionseffekt	(2,53)=0,028	0,972
Nacc	Haupteffekt Behandlung	(1,49)=0,994	0,324
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,49)=0,023	0,977
	Interaktionseffekt	(2,49)=0,579	0,564
CPU	Haupteffekt Behandlung	(1,49)=3,967	0,052
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,49)=2,193	0,122
	Interaktionseffekt	(2,49)=0,342	0,712
LGP	Haupteffekt Behandlung	(1,51)=0,198	0,658
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,51)=4,073	0,023
	Interaktionseffekt	(2,51)=0,541	0,585
HPC	Haupteffekt Behandlung	(1,53)=5,080	0,028
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,53)=1,401	0,255
	Interaktionseffekt	(2,53)=0,621	0,541
DM	Haupteffekt Behandlung	(1,52)=0,938	0,337
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,52)=11,183	<0,001
	Interaktionseffekt	(2,52)=1,003	0,374
EP	Haupteffekt Behandlung	(1,52)=0,629	0,431
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,52)=1,288	0,284
	Interaktionseffekt	(2,52)=0,253	0,777
STN	Haupteffekt Behandlung	(1,50)=0,991	0,324
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,50)=1,192	0,312
	Interaktionseffekt	(2,50)=0,119	0,888
SN	Haupteffekt Behandlung	(1,53)=0,450	0,505
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,53)=1,654	0,201
	Interaktionseffekt	(2,53)=0,124	0,884

Tab. 10: Glutamin 2-Way-Anova, F- und p-Werte der Haupteffekte

Region	Effekte	F	p
OFC	Haupteffekt Behandlung	(1,53)=0,015	0,902
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,53)=1,149	0,325
	Interaktionseffekt	(2,53)=0,853	0,432
mPFC	Haupteffekt Behandlung	(1,53)=0,447	0,507
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,53)=2,332	0,107
	Interaktionseffekt	(2,53)=1,476	0,238
Nacc	Haupteffekt Behandlung	(1,49)=0,003	0,955
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,49)=0,306	0,738
	Interaktionseffekt	(2,49)=0,300	0,742
CPU	Haupteffekt Behandlung	(1,49)=0,082	0,776
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,49)=4,987	0,011
	Interaktionseffekt	(2,49)=1,063	0,353
LGP	Haupteffekt Behandlung	(1,51)=0,371	0,545
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,51)=1,734	0,187
	Interaktionseffekt	(2,51)=0,494	0,613
HPC	Haupteffekt Behandlung	(1,53)=0,497	0,484
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,53)=5,745	0,006
	Interaktionseffekt	(2,53)=2,319	0,108
DM	Haupteffekt Behandlung	(1,52)=1,650	0,205
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,52)=13,289	<0,001
	Interaktionseffekt	(2,52)=2,339	0,106
EP	Haupteffekt Behandlung	(1,52)=0,215	0,645
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,52)=1,572	0,217
	Interaktionseffekt	(2,52)=2,055	0,138
STN	Haupteffekt Behandlung	(1,50)=0,013	0,910
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,50)=3,695	0,032
	Interaktionseffekt	(2,50)=0,602	0,552
SN	Haupteffekt Behandlung	(1,53)=1,107	0,298
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,53)=0,230	0,795
	Interaktionseffekt	(2,53)=0,433	0,651

Tab. 11: GABA 2-Way-Anova, F- und p-Werte der Haupteffekte

Region	Effekte	F	p
OFC	Haupteffekt Behandlung	(1,53)=1,415	0,240
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,53)=2,420	0,099
	Interaktionseffekt	(2,53)=1,867	0,165
mPFC	Haupteffekt Behandlung	(1,53)=0,180	0,673
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,53)=4,586	0,015
	Interaktionseffekt	(2,53)=0,577	0,565
Nacc	Haupteffekt Behandlung	(1,49)=1,864	0,178
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,49)=0,167	0,846
	Interaktionseffekt	(2,49)=0,153	0,859
CPU	Haupteffekt Behandlung	(1,46)=3,191	0,081
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,46)=5,493	0,007
	Interaktionseffekt	(2,46)=0,369	0,693
LGP	Haupteffekt Behandlung	(1,50)=0,007	0,930
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,50)=9,316	<0,001
	Interaktionseffekt	(2,50)=1,204	0,309
HPC	Haupteffekt Behandlung	(1,53)=5,297	0,025
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,53)=3,486	0,038
	Interaktionseffekt	(2,53)=2,136	0,128
DM	Haupteffekt Behandlung	(1,52)=0,792	0,378
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,52)=0,750	0,478
	Interaktionseffekt	(2,52)=0,232	0,794
EP	Haupteffekt Behandlung	(1,52)=0,003	0,960
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,52)=0,263	0,770
	Interaktionseffekt	(2,52)=2,396	0,101
STN	Haupteffekt Behandlung	(1,50)=2,044	0,159
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,50)=2,019	0,144
	Interaktionseffekt	(2,50)=0,306	0,738
SN	Haupteffekt Behandlung	(1,53)=0,372	0,545
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,53)=4,652	0,014
	Interaktionseffekt	(2,53)=0,238	0,789

3.3 TH, NeuN und VMAT2

In der nigralen Anzahl NeuN-positiver Zellen ergibt sich kein Haupteffekt in der Behandlung ($F(1,43)=0,00463$; $p=0,946$), der Behandlungsdauer ($F(2,43)=0,0126$; $p=0,987$) und kein Interaktionseffekt ($F(2,43)=2,474$; $p=0,098$) (Abb. 13a). In der nigralen Anzahl TH-positiver Zellen ergibt sich ein Haupteffekt in der Behandlung ($F(1,42)=5,227$; $p=0,027$) und Behandlungsdauer ($F(2,42)=22,724$; $p<0,001$), aber kein Interaktionseffekt ($F(2,42)=1,575$; $p=0,219$). Mit QNP behandelte Ratten zeigen eine höhere Anzahl TH-positiver Zellen im Vergleich zu den Kontrollen. Im chronischen Design sind mehr TH-positive Zellen zu zählen als in beiden akuten Modellen (je $p<0,001$) (Abb. 14a). In der striatalen Dichte NeuN-positiver Strukturen ergibt sich weder ein Haupteffekt in der Behandlung ($F(1,48)=0,213$; $p=0,646$), noch ein Interaktionseffekt ($F(2,48)=1,158$; $p=0,324$), aber ein Haupteffekt in der Behandlungsdauer ($F(2,48)=17,945$; $p<0,001$). Chronisch und a(+) behandelte Ratten weisen weniger NeuN-positive Strukturen auf als a(-) behandelte Ratten (je $p<0,001$) (Abb. 14b). In der striatalen Dichte TH-positiver Strukturen ergibt sich kein Haupteffekt in der Behandlung ($F(1,42)=2,499$; $p=0,121$) und kein Interaktionseffekt ($F(2,42)=0,369$; $p=0,693$), aber wie bei NeuN ein Haupteffekt in der Behandlungsdauer ($F(2,42)=8,133$; $p=0,001$). Chronisch ($p<0,001$) und a(+) ($p=0,045$) behandelte Ratten weisen weniger TH-positive Strukturen auf als a(-) behandelte Ratten (Abb. 14c).

Bezieht man die nigrale Anzahl TH-positiver Zellen prozentual auf die Anzahl NeuN-positiver Zellen, so ergibt sich ein Haupteffekt in der Behandlung ($F(1,37)=7,125$; $p=0,011$), der Behandlungsdauer ($F(2,37)=19,819$; $p<0,001$) und ein Interaktionseffekt ($F(2,37)=3,348$; $p=0,046$). QNPa(+) Ratten weisen mehr TH-positive Neurone auf als NaCl(+), QNPc Ratten mehr als QNPa(+) ($p=0,004$) und QNPa(-) ($p<0,001$) Ratten. Selbiges zeigt sich für die Kontrollen (a(+): $p<0,001$, a(-): $p=0,017$) (Abb. 13c). Bei der Summierung der optischen Dichte VMAT2-positiver Strukturen aller Regionen ergibt sich kein Haupteffekt in der Behandlung ($F(1,42)=0,307$; $p=0,583$) und kein Interaktionseffekt ($F(2,42)=0,126$; $p=0,882$), aber ein Haupteffekt in der Behandlungsdauer ($F(2,42)=7,524$; $p=0,002$). Chronisch ($p=0,007$) und a(+) ($p=0,003$) behandelte weisen eine geringere Dichte VMAT2-positiver Strukturen auf als a(-) behandelte (Abb. 14d). Dies lässt sich auch regionenspezifisch darstellen. Tab. 12 zeigt etwaige Haupt- und Interaktionseffekte. Chronisch und a(+) behandelte zeigen weniger VMAT2-positive Strukturen im Nacc (je $p<0,001$), CPU (c: $p<0,001$, a(+): $p=0,008$), STN (c: $p<0,001$, a(+): $p=0,002$) und in der SN (je $p<0,001$) als a(-) behandelte Ratten. Im CPU weisen chronisch behandelte sogar noch weniger als a(+) behandelte Ratten auf ($p=0,018$). Im DM weisen a(-) behandelte Ratten mehr VMAT2-positive Strukturen auf als chronisch ($p=0,023$) und a(+) ($p<0,001$) behandelte und QNP weniger als NaCl Ratten. Im HPC weisen chronisch behandelte mehr VMAT2-positive Zellen als akut behandelte auf (je $p<0,001$) (Abb. 14e).

Tab. 12: VMAT2 2-Way-Anova, F- und p-Werte der Haupteffekte

Region	Effekte	F	p
VO/LO	Haupteffekt Behandlung	(1,42)=0,001	0,975
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,42)=1,276	0,290
	Interaktionseffekt	(2,42)=0,119	0,888
mPFC	Haupteffekt Behandlung	(1,42)=1,661	0,205
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,42)=0,300	0,742
	Interaktionseffekt	(2,42)=0,623	0,541
Nacc	Haupteffekt Behandlung	(1,42)=0,889	0,351
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,42)=12,827	<0,001
	Interaktionseffekt	(2,42)=0,557	0,577
CPU	Haupteffekt Behandlung	(1,42)=0,300	0,587
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,42)=15,126	<0,001
	Interaktionseffekt	(2,42)=0,370	0,693
LGP	Haupteffekt Behandlung	(1,42)=0,085	0,773
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,42)=1,596	0,215
	Interaktionseffekt	(2,42)=1,908	0,161
HPC	Haupteffekt Behandlung	(1,42)=0,454	0,504
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,42)=9,914	<0,001
	Interaktionseffekt	(2,42)=0,115	0,891
DM	Haupteffekt Behandlung	(1,42)=5,925	0,019
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,42)=9,522	<0,001
	Interaktionseffekt	(2,42)=0,441	0,647
EP	Haupteffekt Behandlung	(1,42)=0,166	0,686
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,42)=0,969	0,388
	Interaktionseffekt	(2,42)=0,457	0,636
STN	Haupteffekt Behandlung	(1,41)=0,347	0,559
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,41)=9,805	<0,001
	Interaktionseffekt	(2,41)=0,066	0,936
SN	Haupteffekt Behandlung	(1,42)=1,794	0,188
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,42)=13,411	<0,001
	Interaktionseffekt	(2,42)=0,510	0,604

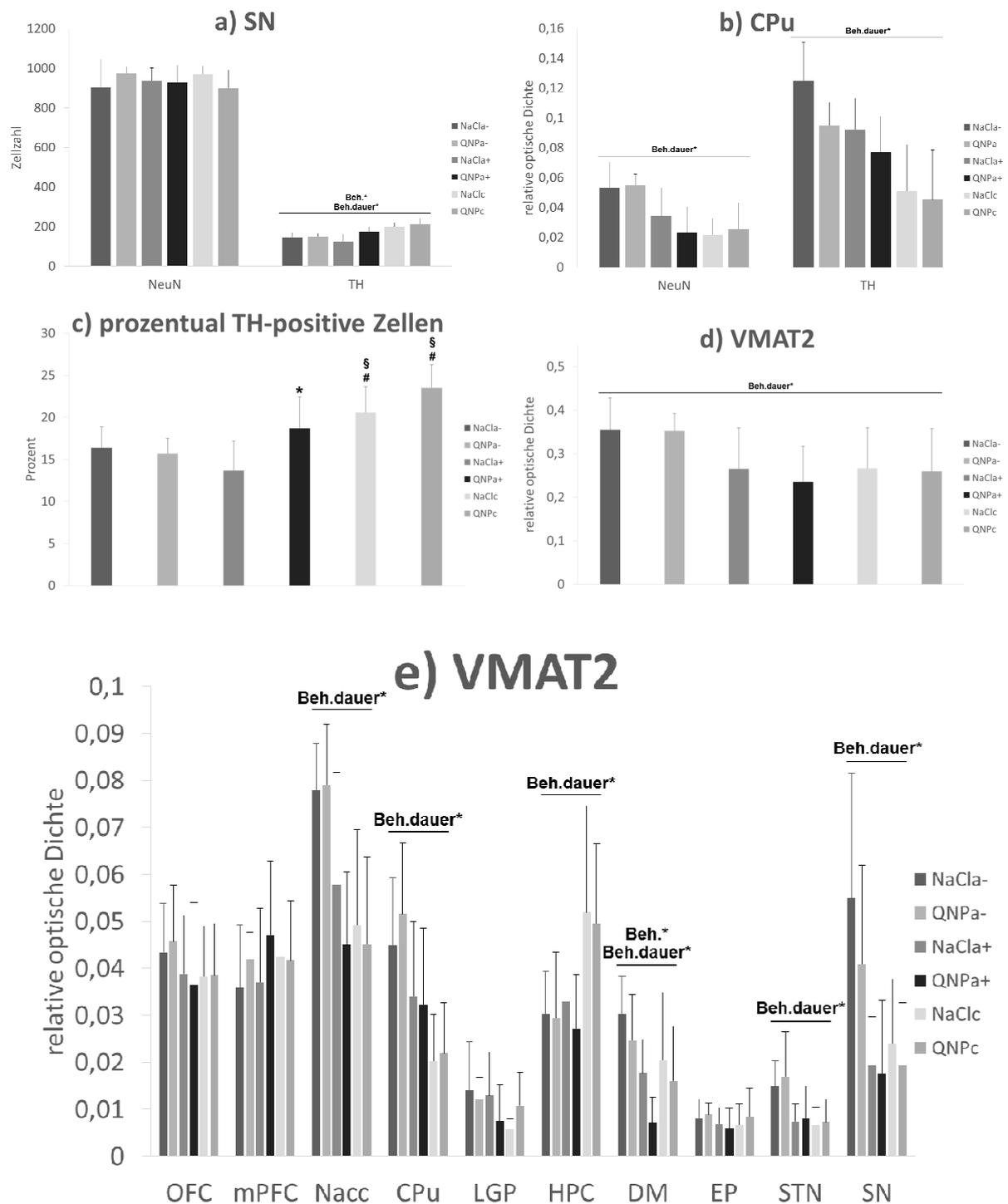


Abb. 14: TH, NeuN und VMAT2, Daten +/- SD, $p < 0,05$, je $n = 8$, * signifikant vs. jeweilige NaCl Gruppe, § vs. jeweilige a(-) Gruppe, # vs. jeweilige a(+) Gruppe, Beh.* Haupteffekt Behandlung, Beh.dauer* Haupteffekt Behandlungsdauer

3.4 Neuronale Aktivität

Die neuronale Aktivität gemessen anhand der c-Fos Expression weist Haupt- und Interaktionseffekte auf, die in Tab. 13 dargestellt sind. Chronisch und a(+) behandelte Ratten weisen im OFC (c: $p=0,009$, a(+): $p=0,005$), mPFC (je $p\leq 0,001$), HPC (c: $p=0,021$, a(+): $p\leq 0,001$), DM (c: $p=0,002$, a(+): $p\leq 0,001$) und in der SN (c: $p=0,003$, a(+): $p=0,011$) eine niedrigere Anzahl c-Fos-positiver Zellen auf als a(-) behandelte Ratten. Im HPC weisen a(+) behandelte zudem weniger c-Fos auf als chronisch behandelte Ratten ($p=0,014$). Im Nacc weisen mit QNP behandelte Ratten deutlich weniger c-Fos-positive Zellen auf als die Kontrollratten. Im OFC zeigt sich tendenziell Gegenteiliges. Im CPu weisen QNPa(-) Ratten weniger c-Fos-positive Zellen auf als ihre Kontrolle ($p\leq 0,001$) und tendenziell mehr als QNPc Ratten ($p=0,069$). NaClc und NaCl(+/-) Ratten weisen hier deutlich weniger c-Fos-positive Zellen auf als NaCl(-) Ratten (je $p\leq 0,001$). Im STN ($p<0,001$) und tendenziell im EP ($p=0,042$, Interaktionseffekt nicht ausreichend signifikant) weisen QNPa(-) Ratten mehr c-Fos-positive Zellen auf als ihre Kontrolle und QNPc (STN: $p<0,001$, EP: $p=0,016$) und QNPa(+) (STN: $p<0,001$, EP: $p=0,064$) Ratten (Abb. 15a). Die neuronale Aktivität gemessen anhand der Zif268 Expression weist ebenfalls Haupt- und Interaktionseffekte auf, die in Tab. 14 dargestellt sind. Chronisch und a(+) behandelte Ratten weisen eine geringere Anzahl Zif268-positiver Zellen im OFC (je $p\leq 0,001$), mPFC (je $p\leq 0,001$), Nacc (je $p\leq 0,001$) und CPu (c: $p=0,005$, a(+): $p=0,018$) auf als a(-) behandelte. Im LGP weisen QNPa(+) Ratten mehr Zif268-positive Zellen als ihre Kontrolle ($p=0,004$), QNPc und QNPa(-) Ratten (je $p\leq 0,001$) auf. NaCl(-) Ratten weisen hier weniger als NaCl(+/-) Ratten auf ($p=0,046$). In der SN sind bei a(-) behandelten Ratten weniger Zif268-positive Zellen nachweisbar als bei chronisch ($p=0,005$) und a(+) ($p\leq 0,001$) behandelten, wobei bei letzteren sogar mehr als bei chronisch behandelten nachweisbar ist ($p=0,025$). Tendenzial weisen QNPa(-) Ratten im EP mehr Zif268-positive Zellen auf als ihre Kontrolle ($p=0,089$) (Abb. 14b, Tab. 15b). Die neuronale Aktivität hinsichtlich der CO Expression weist keine Haupt- und Interaktionseffekte auf (Tab. 15). Im CPu zeichnet sich ein Trend zu einer geringeren CO-Aktivität bei QNPa(-) im Vergleich zur Kontrolle ab ($p=0,027$). Selbiges trifft für die QNPa(+) Ratten im LGP zu ($p=0,027$). Im HPC zeichnet sich ein Trend zu einer höheren CO-Aktivität bei QNPc ($p=0,072$) (auch im DM, $p=0,019$) und einer geringeren bei QNPa(+) ($p=0,093$) Ratten im Vergleich zu ihren Kontrollen ab (Abb. 15c).

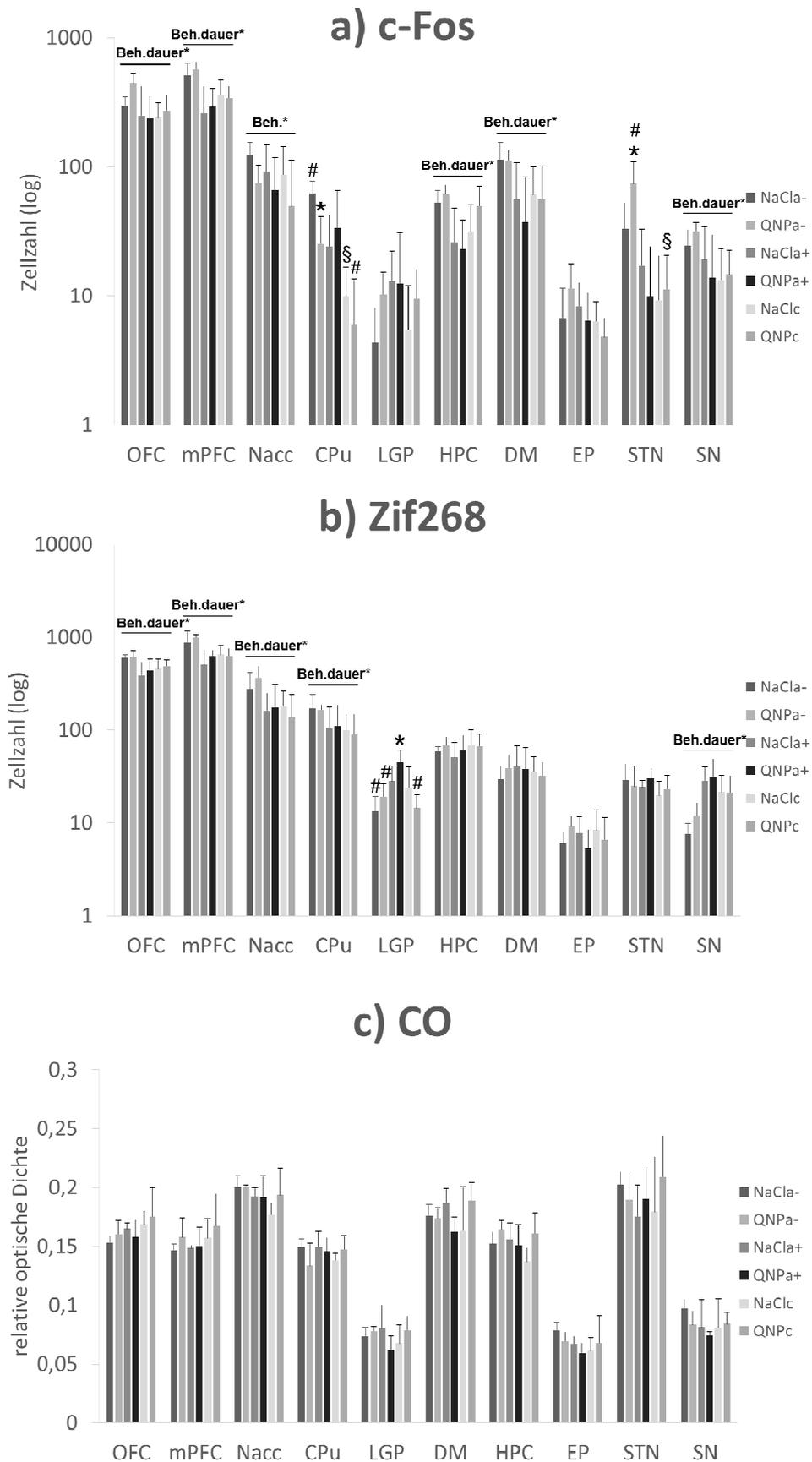


Abb. 15: c-Fos, Zif268 und CO, Daten +/- SD, n=8, p<0,05, * signifikant vs. jeweilige NaCl Gruppe, \$ vs. jeweilige a(-) Gruppe, # vs. jeweilige a(+) Gruppe, Beh.* Haupteffekt Behandlung, Beh.dauer* Haupteffekt Behandlungsdauer

Tab. 13: c-Fos 2-Way-Anova, F-und p-Werte der Haupteffekte

Region	Effekte	F	p
OFC	Haupteffekt Behandlung	(1,42)=3,401	0,072
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,42)=6,765	0,003
	Interaktionseffekt	(2,42)=2,348	0,108
mPFC	Haupteffekt Behandlung	(1,42)=0,479	0,493
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,42)=23,815	<0,001
	Interaktionseffekt	(2,42)=0,532	0,591
Nacc	Haupteffekt Behandlung	(1,42)=8,296	0,006
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,42)=2,000	0,148
	Interaktionseffekt	(2,42)=0,316	0,731
CPU	Haupteffekt Behandlung	(1,42)=3,994	0,052
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,42)=16,245	<0,001
	Interaktionseffekt	(2,42)=7,082	0,002
LGP	Haupteffekt Behandlung	(1,42)=1,235	0,273
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,42)=1,554	0,223
	Interaktionseffekt	(2,42)=0,424	0,657
HPC	Haupteffekt Behandlung	(1,42)=2,319	0,135
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,42)=13,766	<0,001
	Interaktionseffekt	(2,42)=1,565	0,221
DM	Haupteffekt Behandlung	(1,42)=0,456	0,503
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,42)=11,147	<0,001
	Interaktionseffekt	(2,42)=0,206	0,814
EP	Haupteffekt Behandlung	(1,42)=0,105	0,748
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,42)=2,419	0,101
	Interaktionseffekt	(2,42)=2,756	0,075
STN	Haupteffekt Behandlung	(1,42)=4,226	0,046
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,42)=23,769	<0,001
	Interaktionseffekt	(2,42)=6,610	0,003
SN	Haupteffekt Behandlung	(1,42)=0,112	0,739
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,42)=7,115	0,002
	Interaktionseffekt	(2,42)=1,251	0,297

Tab. 14: Zif268 2-Way-Anova, F-und p-Werte der Haupteffekte

Region	Effekte	F	p
OFC	Haupteffekt Behandlung	(1,42)=0,881	0,353
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,42)=13,459	<0,001
	Interaktionseffekt	(2,42)=0,0518	0,950
mPFC	Haupteffekt Behandlung	(1,42)=1,864	0,179
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,42)=21,539	<0,001
	Interaktionseffekt	(2,42)=0,783	0,463
Nacc	Haupteffekt Behandlung	(1,42)=0,405	0,528
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,42)=11,138	<0,001
	Interaktionseffekt	(2,42)=1,370	0,265
CPU	Haupteffekt Behandlung	(1,42)=0,0534	0,818
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,42)=6,384	0,004
	Interaktionseffekt	(2,42)=0,0603	0,942
LGP	Haupteffekt Behandlung	(1,42)=1,810	0,186
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,42)=14,778	<0,001
	Interaktionseffekt	(2,42)=5,559	0,007
HPC	Haupteffekt Behandlung	(1,42)=0,836	0,366
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,42)=1,302	0,283
	Interaktionseffekt	(2,42)=0,357	0,702
DM	Haupteffekt Behandlung	(1,42)=0,0347	0,853
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,42)=0,352	0,705
	Interaktionseffekt	(2,42)=0,505	0,607
EP	Haupteffekt Behandlung	(1,42)=0,223	0,639
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,42)=0,400	0,673
	Interaktionseffekt	(2,42)=3,092	0,056
STN	Haupteffekt Behandlung	(1,42)=0,355	0,555
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,42)=1,339	0,273
	Interaktionseffekt	(2,42)=0,797	0,457
SN	Haupteffekt Behandlung	(1,41)=0,666	0,419
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,41)=16,117	<0,001
	Interaktionseffekt	(2,41)=0,240	0,788

Tab. 15: CO 2-Way-Anova, F-und p-Werte der Haupteffekte

Region	Effekte	F	p
OFC	Haupteffekt Behandlung	(1,24)=0,143	0,708
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,24)=2,336	0,118
	Interaktionseffekt	(2,24)=0,644	0,534
mPFC	Haupteffekt Behandlung	(1,24)=1,632	0,214
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,24)=1,582	0,226
	Interaktionseffekt	(2,24)=0,223	0,802
Nacc	Haupteffekt Behandlung	(1,24)=0,963	0,336
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,24)=2,279	0,124
	Interaktionseffekt	(2,24)=0,841	0,444
CPU	Haupteffekt Behandlung	(1,23)=0,806	0,379
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,23)=0,955	0,400
	Interaktionseffekt	(2,23)=3,212	0,059
LGP	Haupteffekt Behandlung	(1,21)=0,0408	0,842
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,21)=0,350	0,709
	Interaktionseffekt	(2,21)=3,357	0,054
HPC	Haupteffekt Behandlung	(1,24)=0,000396	0,984
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,24)=0,0196	0,981
	Interaktionseffekt	(2,24)=3,313	0,054
DM	Haupteffekt Behandlung	(1,24)=3,398	0,078
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,24)=0,965	0,395
	Interaktionseffekt	(2,24)=2,412	0,111
EP	Haupteffekt Behandlung	(1,14)=0,129	0,725
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,14)=0,610	0,557
	Interaktionseffekt	(2,14)=0,287	0,755
STN	Haupteffekt Behandlung	(1,22)=0,831	0,372
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,22)=0,463	0,635
	Interaktionseffekt	(2,22)=1,308	0,291
SN	Haupteffekt Behandlung	(1,20)=0,637	0,434
	Haupteffekt Behandlungsdauer	(2,20)=0,946	0,405
	Interaktionseffekt	(2,20)=0,470	0,632

3.5 Proliferationsmarker BrdU und Ki67

Für die Anzahl der BrdU-positiven Zellen ergibt sich in der SVZ, im DG und in der SN kein Haupteffekt in der Behandlung (SVZ: $F(1,42)=0,0106$; $p=0,919$, DG: $F(1,42)=0,118$; $p=0,733$, SN: $F(1,41)=0,0825$; $p=0,775$) und kein Interaktionseffekt (SVZ: $F(2,42)=1,037$; $p=0,364$, DG: $F(2,42)=2,761$; $p=0,075$, SN: $F(2,41)=0,491$; $p=0,615$), aber ein Haupteffekt in der Behandlungsdauer (SVZ: $F(2,42)=24,541$; $p<0,001$, DG: $F(2,42)=11,871$; $p<0,001$, SN: $F(2,41)=9,305$; $p<0,001$). Chronisch (SVZ/SN: $p\leq 0,001$, DG: $p=0,021$) und a(+) (SVZ/DG: $p\leq 0,001$, SN: $p=0,006$) behandelte Ratten weisen weniger BrdU-positive Zellen auf als a(-) behandelte. Im DG weisen a(+) behandelte zudem noch weniger BrdU-positive Zellen auf als chronisch behandelte Ratten ($p=0,034$). Im DG zeichnet sich ein Trend zu einer höheren Anzahl von BrdU-positiven Zellen bei QNPa(+) Ratten im Vergleich zur Kontrolle ab ($p=0,055$) (Abb. 16a).

Für die Anzahl der Ki67-positiven Zellen ergibt sich sowohl im DG als auch in der SVZ kein Haupteffekt in der Behandlung (SVZ: $F(1,42)=3,356$; $p=0,074$, DG: $F(1,42)=2,309$; $p=0,136$) und kein Interaktionseffekt (SVZ: $F(2,42)=0,495$; $p=0,613$, DG: $F(2,42)=0,161$; $p=0,852$). Ein Haupteffekt der Behandlungsdauer ergibt sich nur im DG (SVZ: $F(2,42)=1,697$; $p=0,196$, DG: $F(2,42)=27,772$; $p<0,001$). Chronisch und a(+) behandelte Ratten weisen hier weniger Ki67-positive Zellen auf als a(-) behandelte Ratten (je $p<0,001$). In der SVZ zeichnet sich ein Trend zu einer höheren Anzahl von Ki67-positiven Zellen bei mit QNP behandelten Ratten im Vergleich zu Kontrollratten ab (Abb. 16b).

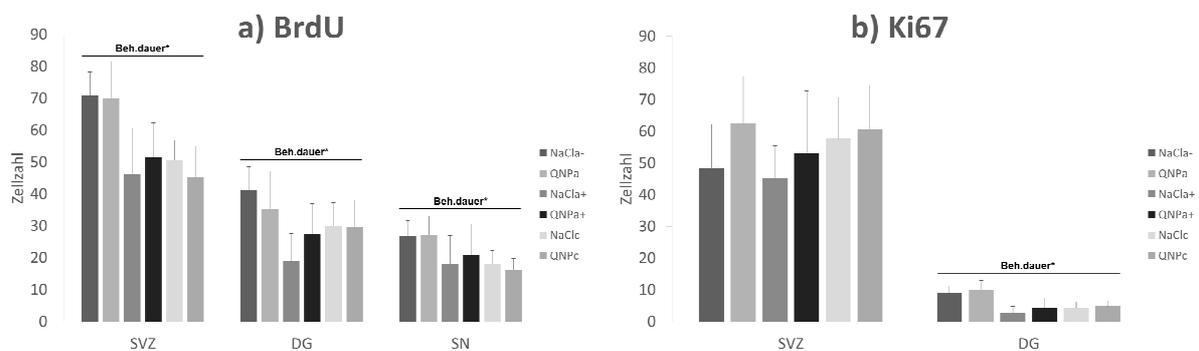


Abb. 16: BrdU und Ki67, Daten +/- SD, n=8, p<0,05, * signifikant vs. jeweilige NaCl Gruppe, § vs. jeweilige a(-) Gruppe, # vs. jeweilige a(+) Gruppe, Beh.* Haupteffekt Behandlung, Beh.dauer* Haupteffekt Behandlungsdauer

4 Diskussion

Repetitive Störungen gehen mit Veränderungen im CSTC Regelkreis und im DAergen System einher. Die Daten hierzu sind jedoch widersprüchlich und erklären nicht, wie beides in der Manifestation repetitiven Verhaltens pathophysiologisch interagiert.

Die vorliegende Arbeit ist Teil eines Projektes, das in einem multidisziplinären Ansatz DAerge Mechanismen repetitiven Verhaltens untersucht. Dazu werden unterschiedliche Pathologiemodelle DAerger Dysregulation vergleichend analysiert.

In der vorliegenden Arbeit wurde das Rattenmodell chronisch-intermittierender QNP-Applikation verwendet, in dem die wiederholte Gabe des $D_{2/3}$ -Rezeptor-Agonisten QNP Kontextabhängig (wiederholte Exposition auf einem Offenen Feld) protrahiert zwanghaftes Verhalten induziert (Szechtman et al. 1994, Winter et al. 2008).

Die DAergen Mechanismen, die mit dieser Verhaltensentwicklung assoziiert sind, wurden unter besonderer Berücksichtigung des CSTC Regelkreises bio- und immunhistochemisch untersucht. Der experimentelle Aufbau half darüber hinaus darzustellen, welche neurobiologischen Veränderungen woher resultieren, ob von der OF-Exposition, der DAergen Intervention oder beidem.

Die Daten dieser Arbeit zeigen wie vermutet, dass die OF-Exposition als neuartige Umgebung zu veränderten Expressionen von IEGs führt, stress-assoziiert ist und so eine veränderte glutamaterge, glutaminerge, GABAerge, serotonerge und schließlich DAerge Transmission bedingt und die Proliferation negativ beeinflusst.

Die DAerge Intervention führt wie vermutet auch zu veränderten Expressionen von IEGs, beeinflusst das 5-HTerge System, hat inhibitorische Effekte auf das glutamaterge und GABAerge System, aktivierende Effekte auf die Proliferation und führt zur erhöhten DA-Synthese und verringertem DA-Abbau.

Die Kombination aus beidem führt wie erwartet zu einem erhöhten DA-Gehalt bei ebenfalls erhöhter Synthese und reduziertem Abbau. Entgegen der Hypothese einer erhöhten c-Fos-Expression im CPu ist diese hier reduziert. Im Übrigen ist auch der 5-HT-Gehalt im LGP erhöht. Die Kombination dieser Veränderungen ist letztlich spezifisch für den zwanghaften Phänotyp, welchen wir nur nach chronisch-intermittierender QNP-Gabe in Verbindung mit der OF-Exposition finden.

4. 1 detaillierte Betrachtung des experimentellen Designs

Die Transmittergehalte von DA und DOPAC wurden mit post mortem HPLC und die Expression von TH und VMAT2 immunhistochemisch in den verschiedenen Strukturen des CSTC Regelkreis dargestellt. Da Neurotransmittersysteme interagieren und neben dem DAergen System auch 5-HT (Insel et al. 1985, Zohar et al. 1987, Benkelfat et al. 1989, Pato et al. 1991, Hollander et al. 1992, Flament et al. 1997, Stahl 1998, Grados et al. 2001) und Glutamat (Presti et al. 2003, Arnold et al. 2004, Presti et al. 2004b, Chakrabarty et al. 2005, Coric et al. 2005, Pittenger et al. 2006, Grant et al. 2007, Kushner et al. 2007, Starck et al. 2008, Wilhelm et al. 2008, Aboujaoude et al. 2009) als pathophysiologisch relevant bei der Induktion und Aufrechterhaltung von repetitiven Störungen beschrieben wurden, untersuchte die vorliegende Arbeit auch diese Neurotransmittersysteme mittels post mortem HPLC.

Verändert regulierte Neurotransmittersysteme sind meist Ausdruck einer veränderten Aktivität innerhalb eines Netzwerkes und wie bereits ausführlich beschrieben, konnten bei Zwangspatienten veränderte Aktivitäten im CSTC Regelkreis festgestellt werden. Solche Anpassungsercheinungen des adulten Gehirns bezeichnet man als Plastizität (Kolb & Whishaw 1998). Komplexe, vielfältig modulierbare Mechanismen regulieren diese Veränderungen, die sowohl funktionelle als auch strukturelle Anpassungen umfassen. Die synaptische Transmission von vermehrt oder vermindert aktiven Neuronen kann durch Langzeitpotenzierung oder -depression verändert werden (Cooke & Bliss 2006). Mikrostrukturelle Veränderungen beziehen sich auf Proliferationsprozesse wie das Auswachsen von Axonen, Dendriten und Synapsen (Harms & Dunaevsky, 2006) sowie die Neubildung von Gliazellen (Gliogenese) und Neuronen (Neurogenese) (Gould & Gross, 2002; Rosenzweig et al. 1962). Adulte Neurogenese findet fortwährend in der SVZ zwischen Striatum und Seitenventrikel und in der subgranulären Zone des DG statt (Eriksson et al. 1998, Kempermann & Gage 1999, Gross 2000). Diese Zonen werden durch DAerge Efferenzen aus der SN und VTA innerviert (Swanson 1982, Diaz et al. 1997, Rakic & Lidow 1995). Eine Unterbrechung der DAergen Innervation reduziert die Proliferation (Baker et al., 2004; Höglinger et al., 2004, Winner et al. 2006, Suzuki et al. 2010). Die Gabe von Levodopa erhöht sie (Höglinger et al. 2004, van Kampen et al. 2004). DA spielt demnach eine entscheidende Rolle bei der Regulation adulter Neurogenese (Veena et al. 2011) und es gibt direkte und indirekte Hinweise dafür, dass gerade auch die hier untersuchten strukturellen Plastizitätsveränderungen bei repetitiven Störungen relevant sind. So konnte beispielsweise bei Zwangspatienten eine verringerte Expression des Brain Derived Neurotrophic Factors (BDNF) nachgewiesen werden (Wang et al. 2011, Hall et al. 2003, Maina et al. 2010, Fontenelle et al. 2012, Suliman et al. 2013); ein Faktor, der essentiell für Zellüberleben, -wachstum und -differenzierung ist und so eine entscheidende Rolle bei der Proliferation und Neurogenese spielt (Acheson et al. 1995, Huang & Reichert 2001).

In der vorliegenden Arbeit haben wir uns Aktivitätsänderungen durch den immunhistochemischen Nachweis von CO (Sakata et al. 2005) und c-Fos und Zif268 als Produkte von immediate early genes (IEG) und strukturelle Veränderungen mittels Ki6- und BrdU-Immunhistochemie angeschaut.

Die CO als geschwindigkeitsbestimmendes Enzym der oxidativen Phosphorylierung, der Energiegewinnung von Zellen, stellt einen endogenen Stoffwechsellmarker für neuronale Aktivität dar (Wong-Riley 1989). C-Fos wird im Neuron nach Depolarisation, also als Folge eines Aktionspotentials, in dieser exprimiert und kann so als Marker für kürzlich neuronale Aktivität genutzt werden (Sagar et al. 1988, Bullitt 1990, Kovács 1998). Zif268 (NGFI-A, Krox-24, TIS8, ZENK, EGR-1) als Transkriptionsfaktor scheint eine Rolle bei neuronaler Plastizität zu spielen (Knapska & Kaczmarek 2004). Vor allem soll Zif268 bei der Bildung des Langzeitgedächtnisses beteiligt sein (Bozon et al. 2003). Außerdem soll es die Expression von Synaptobrevin II regulieren, ein für die synaptischer Exozytose wichtiges Protein (Petersohn & Thiel 1996). So wird Zif268 sehr wahrscheinlich ebenfalls als Folge eines Aktionspotentials exprimiert, um die Versorgung mit diesem Enzym und so eine Informationsweiterleitung am synaptischen Spalt sicherzustellen. So zeigt auch Zif268 kürzlich stattgefundenene neuronale Aktivität an. Aber obwohl beide als Plastizitätsmarker verwendet werden, ist ihre Co-Aktivierung in derselben neuronalen Region nicht einheitlich (Barbosa et al. 2013). Während c-Fos als vielmehr generischer Indikator für neuronale Aktivität betrachtet wird und nach bestimmten, plötzlichen und starken Ereignissen verändert ist und deren Expression gewissermaßen habituieret, ist der Marker Zif268 eher spezifisch für neuronale Plastizität und verändert sich nach länger anhaltenden Aktivitätsveränderungen (Hughes & Dragunow 1995, Kovacs 1998, Bozon et al. 2002, Davis 2003, Rygh et al. 2006). Beispielsweise erreicht die c-Fos-Expression ihr Maximum nach 30 Minuten und kehrt binnen zwei Stunden auf das Ausgangsniveau zurück, während Zif268 länger anhaltend erhöht bleibt (Yamada et al. 1999, Zangenehpour & Chaudhuri 2002).

Plastizitätsveränderungen haben wir mittels immunhistochemischer Darstellung von BrdU und Ki67 angeschaut. BrdU ist ein Thymidinanalogon, das dem Organismus extern zugeführt wird, um so eine Zellteilung nachzuweisen, da es sich während der S-Phase des Zellzyklusses in die neu synthetisierte DNA einbaut (Falini et al. 1988, Williamson et al. 1993). Hier haben wir ein Applikationsschema gewählt, das alle neu gebildeten Zellen anzeigt, die zum Zeitpunkt des relevanten Phänotyps da sind und diesem gegebenenfalls also unterliegen. Ki67 ist während des gesamten Zellzyklusses in der Zelle nachweisbar, fehlt aber bei ruhenden Zellen (Gerdes et al. 1984, Gerlach et al. 1997a & b, Scholzen & Gerdes 2000) und in Ergänzung zum BrdU-Nachweis sagt es etwas über die grundsätzliche Proliferation zum Zeitpunkt des Todes der jeweiligen Untersuchungsgruppe aus.

All diese Untersuchungen wurden am QNP-Zwangs-Modell der Ratte durchgeführt, bei dem das zwanghafte Verhalten Resultat einer chronisch-intermittierenden Kombination aus DAerger Stimulation und Exposition auf dem OF ist (Szechtman et al. 1998 & 2001, Eilam & Szechtman 2005, Eilam et al. 2012, Einat & Szechtman 1993, Einat 1996). Um das neurobiologische Korrelat eines manifestierten zwanghaften Phänotyps beschreiben zu können, hätte grundsätzlich der Vergleich der Ratten mit dieser Behandlung zu Ratten ohne QNP-Behandlung und OF-Exposition genügt. Um allerdings Modell-übergreifende Schlussfolgerungen ziehen zu können und sagen zu können, welche pathophysiologischen Veränderungen woher kommen und durch welchen Faktor bereits zu erklären sind und so das neurobiologische Korrelat der Entwicklung bis hin zum zwanghaften Phänotyp beschreiben zu können, haben wir zudem untersucht, wie die einzelnen Faktoren a) Dauer der Behandlung aus Substanzapplikation und OF-Exposition (chronisch versus akut) und b) DAerg wirksame Substanzapplikation (QNP versus NaCl) neurobiologisch und Verhaltens-wirksam werden. Dazu haben wir die chronisch-intermittierende QNP Applikation nicht nur im Vergleich zu einer chronisch-intermittierend mit NaCl behandelten Kontrollgruppe, sondern auch im Vergleich zur einmaligen QNP-Applikation mit unterschiedlichem Tötungszeitpunkt und ihren jeweiligen Kontrollen gesetzt. Hieraus ergaben sich folgende Gruppen:

- i) die einmalige Exposition ohne QNP-Applikation mit unmittelbarer Dekapitation: **NaCl(-)**
- ii) die einmalige QNP-Applikation und Exposition mit unmittelbarer Dekapitation: **QNP(-)**
- iii) die einmalige Exposition ohne QNP-Applikation mit zwei Wochen Latenzzeit: **NaCl(+)**
- iv) die einmalige QNP-Applikation und Exposition mit zwei Wochen Latenzzeit: **QNP(+)**
- v) die chronisch-intermittierende Exposition ohne QNP-Applikation: **NaCl**
- vi) die chronisch-intermittierende QNP-Applikation in Verbindung mit der Exposition: **QNP**

Die **QNP(-) und NaCl(-)** Ratten wurden 90 Minuten nach einer einmaligen Substanzapplikation (QNP oder NaCl) in Kombination mit der einmaligen Exposition auf dem OF getötet. Diese Gruppe diente dazu, unmittelbar eintretende Veränderungen (akute Expositions- und Substanzeffekte), die sich über einen Zeitraum von 90 Minuten manifestieren können - wie eine veränderte Expression von IEGs und der daraus entstehenden Produkte – darzustellen. Gleichgerichtete Veränderungen in beiden Gruppen stellen einen QNP-unabhängigen Effekt als unmittelbare Folge der einmaligen Exposition dar (Expositionseffekt). Treten die Veränderungen in nur einer der beiden Gruppen auf, ist dieser Effekt unmittelbares Resultat der einmaligen DAergen Stimulation (Substanzeffekt).

Die **QNP_a(+)** und **NaCl_a(+)** Ratten wurden zwei Wochen nach einer einmaligen Substanzapplikation (QNP oder NaCl) in Kombination mit der einmaligen Exposition auf dem OF getötet. Gleichgerichtete Veränderungen in beiden Gruppen stellen auch hier einen QNP-unabhängigen Effekt als protahierte Folge der einmaligen Exposition dar (Expositionseffekt). Treten die Veränderungen in nur einer der beiden Gruppen auf, ist dieser Effekt folglich protahiert eintretendes Resultat der einmaligen DAergen Stimulation (Substanzeffekt).

Die **QNP_c** und **NaCl_c** Ratten wurden 90 Minuten nach 7-wöchiger chronisch-intermittierender Substanzapplikation (QNP oder NaCl) in Kombination mit der chronisch-intermittierenden Exposition auf dem OF getötet. Gleichgerichtete Veränderungen in beiden Gruppen im Vergleich zu akut behandelten Ratten stellen auch hier einen QNP-unabhängigen Effekt als Folge der wiederholten Exposition dar (Expositionseffekt). Treten die Veränderungen in nur einer der beiden Gruppen und im Vergleich zu akut behandelten Ratten auf, ist dieser Effekt folglich Resultat der chronisch-intermittierenden DAergen Stimulation (Substanzeffekt) und neurobiologisches Korrelat für den Zwang-ähnlichen Phänotyp.

Hier soll erwähnt werden, dass ein direkter Vergleich zu einer allgemeinen Kontrollgruppe, aufgrund des Fehlens einer gänzlich unbehandelten Gruppe, nicht möglich ist und jede spezifische Veränderung für sich betrachtet werden muss, um zu entscheiden, ob eine Erhöhung bzw. Verringerung dessen zu vermessen ist. Eine ganze Reihe von in-vivo Mikrodialyse-Studien (Abercrombie et al. 1989, Puglisi-Allegra et al. 1991, Imperato et al. 1992, McCullough & Salamone 1992, Ladurell et al. 1995, Thiel et al. 1998, Tsukada et al. 1998, McQuade et al. 1999) legt nahe, dass neurochemische Veränderungen bereits nach 90 Minuten und sogar früher gemessen werden können, weshalb solche Veränderungen in Bezug auf die a(+) behandelten Tiere betrachtet werden, da sehr wahrscheinlich zwei Wochen nach Intervention der Ausgangszustand wieder erreicht sein sollte. Da c-Fos und Zif268 Produkte von IEGs sind, ist deren Veränderung ebenso in Bezug auf die a(+) behandelten Tiere zu betrachten. Da der Nachweis einer Interventions-abhängigen Veränderung der Proliferation frühestens nach 20 Stunden (Korr et al. 1975) gesehen werden kann, gehen wir hier davon aus, dass die a(-)-Gruppe einer Baseline entspricht.

4. 2 Expositionseffekte

Der Effekt der alleinigen Exposition ist unabhängig von der Substanzapplikation, sollte also in sowohl mit NaCl als auch mit QNP behandelten Tieren nachweisbar sein. Hier lassen sich Effekte der einmaligen von Effekten der chronischen Exposition differenzieren. Auch Effekte der akuten Exposition, egal ob einmalig oder mehrmals, lassen sich hier aufzeigen.

Unmittelbar eintretende Effekte der einmaligen Exposition, also solche, die sich nur bei a(-) behandelten Ratten nachweisen lassen, zeigen sich vor allem auf der Aktivitätsebene: Die einmalige Exposition auf dem OF führt zu einer erhöhten Expression von c-Fos im OFC, mPFC, HPC, DM und in der SN und einer erhöhten Expression von Zif268 im OFC, mPFC, Nacc und CPu und dessen Verringerung in der SN. Stressfreie (Jenkins et al. 2004, Rhodes et al. 2005, VanElzakker et al. 2008, Albasser et al. 2009 & 2013, Clark et al. 2010 & 2011) und Stress-assoziierte (Morgan et al. 1987, Morgan et al. 1987, Sagar et al. 1988, Bullitt 1990, Gall et al. 1990, Wisden et al. 1990, Campeau et al. 1991, Clark et al. 1991, Sharp et al. 1991, Bhat et al. 1992, Lanaud et al. 1993, Cullinan et al. 1995, Figueiredo et al. 2003, Drouet et al. 2014) Modifikationen führen zu einer relativ unspezifisch veränderten Expression von IEGs in unterschiedlichen Hirnarealen. Studien zeigen, dass z.B. eine einmalige Exposition auf einem OF die Expression von IEGs in vielen Gehirnbereichen, u.a. im mPFC, OFC, CPu, HPC und DM, erhöht (Handa et al. 1993, Nagahara & Handa 1997, Kerr et al. 1996, Koh et al. 2005). In Ergänzung hierzu zeigen wir auch eine erhöhte Expression von c-Fos im Nacc und in der SN. Innerhalb des CSTC Regelkreises erhält der Kortex als „Befehlsgeber“ alle vom DM als „Filterstation“ wichtig eingestuft Sinneseindrücke und integriert diese um sinnvolles Verhalten anzustreben. Die Basalganglien aus CPu, Nacc, LGP, EP, STN und SN als „umsetzendes Organ“ sind Bewegungsinitiator des angestrebten Verhaltens (Haber & Calzavara 2009). Es ist zudem allgemein bekannt, dass der HPC für die Gedächtniskonsolidierung eine Rolle spielt. So verwundert es nicht, dass eben genau diese Gehirnareale bei der erstmaligen Präsenz einer neuen Umgebung eine erhöhte Expression von c-Fos und Zif268 zeigen. Interessant ist, dass festgestellt werden konnte, dass die kortikale, thalamische und hippokampale Expression von c-Fos bei neuartigen Umgebungen im Vergleich zu bekannten Umgebungen deutlich höher ist (Albasser et al. 2013), ein Befund, der auch bei uns tendenziell erkennbar ist vergleicht man akut mit chronisch expositionierten Ratten.

Unmittelbar eintretende Effekte der einmaligen Exposition, zeigen sich auch auf neurochemischer Ebene: Der Gesamt-Glutamin-Gehalt ist erhöht, regionenspezifisch im CPu, HPC und STN. Auch der GABA-Gehalt ist im mPFC, CPu, HPC und in der SN erhöht. Die akute Exposition an sich, also unabhängig davon, ob diese ein- oder mehrmals erfolgt, erhöht den Glutamat- und Glutamin-Gehalt im DM. Im LGP ist der Glutamat-Gehalt verringert. Der Gesamt-GABA-Gehalt ist erhöht. Im LGP ist der GABA-Gehalt nur nach chronischer Exposition erhöht. Instinktiv vermeiden Nagetiere unter natürlichen Bedingungen offene Flächen und grelles Licht, was dafür spricht, dass Ratten das OF und die immer im Zusammenhang damit stehenden Injektionen als Stress wahrnehmen und Veränderungen im Glutamat-, Glutamin- und GABA-Stoffwechsel Folge dieser stress-assoziierten Umgebung sein könnten.

Hierfür gibt es vielfach Hinweise, die neben der engen Interaktion dieser Transmitter (Bak et al. 2006) auch für deren Zusammenhang mit Stress und neurologischer Degeneration sprechen (Coyle & Puttfarcken 1993, Jardim et al. 2004). Humane Studien konnten mehrfach belegen, dass Stress mit der Reduktion von GABA und der Erhöhung von Glutamat einhergeht (Vaiva et al. 2004 & 2006, Centonze et al. 2005, Rossi et al., 2009, Hasler et al. 2010). So resultiert akuter Stress aber auch in der Hochregulierung der Glutamat-Rezeptoren (Yuen et al. 2009). Bei Ratten ist der kortikale GABA-Gehalt nach akutem einmaligem Stress unverändert, aber verringert nach mehrmaligem Stress trotz erhöhtem Umsatz (Otero-Losada 1988 & 1989). In Mäusen konnte eine Reduktion des kortikalen, aber nicht hippocampalen GABA-Gehalts und der GABA/Glutamat-Ratio nach wiederholtem mildem Stress gezeigt werden (Venzala et al. 2013). Einen Tag nach einmaligem Stress ist der Glutamat-Gehalt im HPC von Ratten reduziert (Krugers et al. 1993). Eine aktuelle Studie zeigt, dass einmaliger intensiver Stress den GABA- und Glutamat-Gehalt im mPFC von Ratten erhöht, die Ratio von GABA zu Glutamat demnach unverändert ist. Unter Berücksichtigung der individuellen Stressbelastung konnte aber gezeigt werden, dass es Unterschiede im Verhältnis von GABA zu Glutamat gibt, die sich in unterschiedlichem Verhalten äußern (Drouet et al. 2014). So konnte hier gezeigt werden, dass Ratten mit höherem Stresslevel eine hohe GABA/Glutamat-Ratio haben, weniger gestresste Tiere eine geringere GABA/Glutamat-Ratio aufzeigen. Ebenso konnte eine Reduktion des Glutamat- und Glutamin-Gehalts ohne Veränderung des GABA-Gehalts im mPFC von Ratten sieben Tage nach einmaligem intensiven Stress nachgewiesen werden (Knox et al., 2010). Offensichtlich hängen diese verschiedenen Befunde mit dem unterschiedlichen experimentellen Design zusammen, ist also abhängig von der Art des Stressors, der individuellen Stresswahrnehmung, dem Zeitpunkt, Ort und der Methode der Messung der Transmittergehalte. Nichts desto trotz besteht kein Zweifel am Zusammenhang von Glutamat, GABA und Stress. Die Daten dieser Arbeit untermauern und erweitern bestehende Befunde. Die durch Stress verursachten Veränderungen der Transmittergehalte gehen mit neurophysiologischen Veränderungen einher und führen so zu veränderten Aktivitäten involvierter Gehirnareale.

Weitere neurochemisch wirksame Effekte der einmaligen Exposition sind eine erhöhte Dichte NeuN- und TH-positiver Strukturen im CPU sowie VMAT2-positiver Strukturen, regionspezifisch im CPU, Nacc, DM, STN und in der SN. Diese Kombination spricht für eine erhöhte Synthese von DA nach der Exposition. Neuartige Umgebungen erhöhen die spontane Lokomotion und gehen mit einer vermehrten Aktivierung des DAergen Systems einher (Feenstra et al. 1995, Feenstra & Botterblom 1996, Legault & Wise 2001). Es konnte auch mehrfach nachgewiesen werden, dass Stress zu einer erhöhten Aktivität des DAergen Systems führt (Segal et al. 1973, Thierry et al. 1976, Weiss et al. 1981, Tsuda & Tanaka 1985, Richard et al. 1988, Zigmond 1988, Leviel et al. 1990, Angulo et al. 1991, Lillrank et al. 1999).

Demnach würde man eine erhöhte DA-Synthese erwarten. Dies untermauern auch die Befunde nach chronischer Exposition. Hier lassen sich ein tendenziell verringerter DOPAC-Gehalt im CPU, eine erhöhte Anzahl TH-positiver Zellen in der SN und mehr VMAT2-positive Strukturen im HPC nachweisen. Die chronische OF-Exposition bedeutet eine sich wiederholende vermehrte DA-Ausschüttung und muss durch eine vermehrte DA-Synthese kompensiert werden.

Auf einer strukturellen Ebene ist der Proliferationsmarker BrdU in der SVZ, dem DG und in der SN und der Proliferationsmarker Ki67 im DG protahiert nach einmaliger und chronischer Exposition vermindert. Offensichtlich führt die OF-Exposition in Verbindung mit zuvor erfolgenden Injektionen zu einer verminderten Proliferation. Hierbei ist die Häufigkeit der Intervention nicht entscheidend, da die verminderte Proliferation sowohl nach einmaliger als auch chronischer Exposition vorliegt. Dieser hemmende Effekt ist offensichtlich so stark, dass er dem natürlichen Gleichgewicht von Zellneubildung und Apoptose überwiegt und noch nach zwei Wochen nachweisbar ist. Dieser Befund erscheint zunächst kontraintuitiv, wissen wir doch, dass Proliferation aktivitäts- und reizabhängig aktiviert wird. So kann sowohl körperliche Aktivität als auch ein Leben in reizreicher Umgebung die Neuro- und Gliogenese stimulieren (Kempermann et al. 1997, Brown et al. 2003, Steiner et al. 2004, Van Praag et al. 1999). Offensichtlich führt der Aufenthalt auf einem OF in Verbindung mit den Injektionen nicht zu diesem Effekt. Das OF ist also weniger als enriched environment oder vermehrte körperliche Aktivität zu betrachten, sondern wird von den Ratten, wie die anderen Befunde schon zeigen, eher als Stress wahrgenommen. So belegen Studien, dass sowohl akuter als auch chronischer Stress die Proliferation supprimiert (Bain et al. 2004, Heine et al. 2004). Jedoch weisen a(+) behandelte Ratten eine stärkere Proliferationssupprimierung im DG auf als chronisch behandelte, was dafür spricht, dass die wiederholte körperliche Aktivität oder reizreiche Umgebung den Proliferationssupprimierenden Effekt des Stress leicht kompensiert. Sehr wahrscheinlich führt die chronische Exposition zur Habituation und ist so für die Ratten weniger Stress-assoziiert, also weniger Proliferationssupprimierend. Dafür spricht auch der Befund der erhöhten c-Fos Expression und damit erhöhten neuronalen Aktivität des HPC bei chronisch im Vergleich zu akut behandelten Tieren.

Einige chronische Expositionseffekte wurden bereits erwähnt. Vergleicht man die chronische Exposition mit der einmaligen Exposition, so lässt sich auch ein tendenziell erhöhter Gehalt von 5-HT im mPFC nachweisen. Seit Jahrzehnten wird der Zusammenhang von akutem versus chronischem Stress und 5-HT untersucht, wobei die Ergebnisse hierzu zum Teil widersprüchlich sind, was aber vor allem auf das unterschiedliche experimentelle Design zurückzuführen ist und wohl erheblich von der Art und Dauer des Stressors abhängt (Chaouloff 2000).

So konnte entgegen unserer Befunde gezeigt werden, dass akuter, aber starker Stress mit erhöhten kortikalen 5-HT-Gehalten einhergeht (Curzon et al. 1972, Knott et al. 1973, Morgan et al. 1975, Joseph & Kennet 1981, Kennett & Joseph 1981, Soblosky & Thurmond 1986, Kennett et al. 1986, Dunn 1988a & b, Adell et al. 1988a&b & 1997, Kawahara et al. 1993, Rueter & Jacobs 1996,). Möglichweise ist die einmalige Exposition auf dem OF in Verbindung mit Injektionen nicht derart Stress-behaftet wie die Stressoren in diesen Studien. Es konnte aber auch, wie in dieser Arbeit, ein erhöhter kortikaler 5-HT-Gehalt nach chronischem Stress nachgewiesen werden (Weiss et al. 1981, Adell et al. 1988 a&b, Mitchell & Thomas 1988).

4.3 QNP-Effekte

QNP wird in erste Linie neurochemisch wirksam und hat eine ganze Reihe von Effekten auf das DAerge System (Bolaños-Jiménez et al. 2011). Hier können wir zwei grundsätzliche Effekte unterscheiden: Effekte, die sowohl nach einmaliger als auch chronischer QNP-Applikation auftreten, also unabhängig von der Häufigkeit der DAergen Intervention sind und solche, die abhängig sind von der Dauer der Applikation, also nur nach einmaliger oder nur nach chronischer Applikation auftreten. Da einzig letztere in Kombination mit der wiederholten OF-Exposition zur Ausprägung des Zwang-ähnlichen Phänotyps führt, zeigen sich hier die neurobiologischen Korrelate repetitiven Verhaltens.

Unabhängig von der Häufigkeit der QNP-Applikation zeigt sich auf der Aktivitätsebene eine Reduktion der c-Fos-Expression im Nacc. Nur die einmaligen QNP-Applikation führt zur reduzierten c-Fos-Expression im CPu (betrifft hier tendenziell auch Aktivität der CO) und zu deren Erhöhung im STN und tendenziell im OFC und EP (betrifft hier auch Zif268). Es ist bereits bekannt, dass dopaminerge Stimulanzien und Antagonisten die Expression von IEGs verändern (Drago et al. 1996, Cole et al. 1992, Robertson et al. 1989a&b, Graybiel et al. 1990, Young et al. 1991, Nguyen et al. 1992, Curran et al. 1996, Nichols & Sanders-Bush 2002, Singewald et al. 2003, Luoni et al. 2014). Die vorliegenden Befunde sprechen für eine durch QNP hervorgerufene im Nacc und CPu reduzierte, im STN hingegen erhöhte Aktivität.

Neurochemisch führt die Gabe von QNP zu einer tendenziellen Erhöhung von 5-HT im OFC, nur die einmalige Gabe zu einer Reduktion dessen im LGP zwei Wochen später. Dass das 5-HTerge System stark mit dem DAergen System interagiert, wurde mehrfach gezeigt (Di Giovanni 2008, Wood & Wren 2008). Beispielsweise kontrolliert DA die dorsale Raphe, die den Ursprung 5-HTerger kortikaler und subkortikaler Projektionen darstellt (Ferré et al., 1994). Es wird auch angenommen, dass erhöhte 5-HT-Ausschüttungen aus der dorsalen Raphe die tonische DA-Ausschüttung im Striatum inhibieren (Alex et al. 2005). Eine D₂-Rezeptorblockade

in der dorsalen Raphe erhöht die durch QNP induzierte Bewegungsanregung, was durch Veränderungen in der 5-HT-Transmission vermittelt wird (Szumlinski & Szechtman 2002). Ahlenius et al. 1991 zeigten, dass eine chronische Gabe von QNP den striatalen 5-HT-Gehalt erhöht, was durch antagonistische Effekte von QNP auf 5-HT-Rezeptoren erklärt werden könnte. Koeltzow et al. 2003 zeigten erhöhte 5-HIAA-Gehalte im Nacc nach chronischer QNP-Gabe. Andere zeigten eine erhöhte striatale Expression des 5-HT-Transporters nach Läsionen des OFC im Zwangsmodell der Ratte, was zu erhöhten präsynaptischen 5-HT-Gehalten führen könnte (Joel et al. 2005, Schilman et al., 2010). Der Entzug des DA-Agonisten Amphetamin führt hingegen zur Reduktion von 5-HT im HPC (Barr et al. 2013).

QNP führt außerdem unabhängig von der Häufigkeit der Applikation zur Reduktion vom Gesamt-Glutamat-Gehalt, regionenspezifisch im mPFC, HPC und tendenziell im CPu und zur Reduktion von GABA im HPC und tendenziell im CPu. Bekannt ist, dass DA-Agonisten einen inhibitorischen Effekt auf GABAerge (Delgado et al. 2000, Centonze et al. 2002) und glutamaterge Neurone (Calabresi et al. 1992, Hsu et al. 1995, Cepeda et al. 2001, Tang et al. 2001) im CPu haben. Auch die GABA-Freisetzung im DM wird durch die Aktivierung präsynaptischer D₂-Rezeptoren inhibiert (Florán et al. 2004). Die Daten dieser Arbeit bestätigen und erweitern diese Befunde.

Die Daten dieser Arbeit weisen auf eine positive Beeinflussung der Proliferation durch QNP hin. Eine Reihe von Studien untersuchte den Effekt von DA auf die Proliferation. Dabei zeigt die Mehrzahl ebenfalls, dass DA die adulte Neurogenese in der SVZ über D₂-Rezeptoren stimuliert (Veena 2011). Yang et al. 2008 stellte nach dreitägiger Dauerbehandlung mit QNP eine erhöhte Expression des Ciliary Neurotrophic Factors fest. Dieser wird von an DAergen Fasern gelegenen Astrocyten in der SVZ produziert (Höglinger et al., 2004, Yang 2008) und stimuliert dort die Neurogenese (Hagg and Varon, 1993; Thoenen and Sendtner, 2002, Emsley and Hagg, 2003). Die Expression dessen wird wiederum von intrazellulärem cyklischen Adenosinmonophosphat negativ reguliert (Carroll et al., 1993; Rudge et al., 1994). D₂-Rezeptoren als G-Protein-gekoppelte inhibitorische Rezeptoren reduzieren die Konzentration dieses second messengers (Vallar and Meldolesi, 1989) und könnten so indirekt die Neurogenese stimulieren. Ohtani et al. 2003 konnte bei Mäuseembryonen in Kultur bei zwölfstündiger Präsenz von QNP eine verstärkte Proliferation nachweisen. Neben QNP stimulieren auch andere D₂-Rezeptor-Agonisten die Proliferation (Höglinger et al. 2004, Coronas et al. 2004, van Kampen et al. 2004, Yang et al. 2008). Die D₂-Rezeptor-Antagonisten Sulprid und Haloperidol reduzieren hingegen die Proliferation (Höglinger et al. 2004, Coronas et al. 2004, Wakade et al. 2002).

Sowohl die einmalige als auch die chronische QNP-Gabe führen zur Reduktion des Gesamt-DOPAC-Gehalts, regionenspezifisch im mPFC (tendenziell auch im OFC), Nacc, CPU, in der SN und des Gesamt-DA-Umsatz, regionenspezifisch im OFC, Nacc, CPU, LGP und in der SN. Das geschwindigkeitsbestimmende Enzym zur DA-Synthese TH ist in den DA-synthetisierenden Neuronen der SN signifikant erhöht und der VMAT2 als Vesikeltransporter von wiederaufgenommenem oder neu synthetisiertem DA ist ausschließlich im DM verringert, sonst unbeeinflusst. Es wurde bereits mehrfach belegt, dass die Gabe von DA-Antagonisten eine erhöhte, DA-Agonisten eine verringerte DA-Synthese nach sich ziehen, da die DA-Synthese über D₂-Rezeptor-Rückkopplungen reguliert wird (Kehr et al. 1972, Christiansen & Squires 1974, Walters & Roth 1975). Imperato et al. 1988 zeigten mittels in vivo Mikrodialyse, dass die einmalige Gabe von D₂-Rezeptor-Agonisten wie Apomorphin den extrazellulären DA-Gehalt senken. Sesia et al. zeigten, dass eine einmalige QNP-Gabe zur Reduktion der Anzahl und Aktivität DAerger Neurone in der VTA führt. Koeltzow et al. 2003 konnten auch nachweisen, dass die akute als auch chronische QNP-Gabe mit hoher Dosierung die extrazelluläre Konzentration von DA und auch DOPAC im Nacc verringert. Allerdings verringert eine chronische Vorbehandlung mit QNP den DA-Gehalt weniger stark als in nicht vorbehandelten Tieren (de Hass et al. 2011). Entgegen dem zeigten Sullivan et al. 1998 mittels post mortem HPLC, dass die akute QNP-Gabe mit gleicher Dosierung wie in dieser Arbeit den DA-Gehalt im Nacc erhöht, weil es zur Akkumulation von DA in der Präsynapse führt. Sie stellten sogar fest, dass der DA-Gehalt nach akuter QNP-Gabe im rechten mPFC erhöht und nach chronischer QNP-Gabe im linken mPFC vermindert ist. Die hier mittels post mortem HPLC gemessenen DA-Gehalte in den verschiedenen Gehirnanalen, wobei hier links und rechts je zusammengefasst bearbeitet wurden und die Methode der post mortem HPLC nicht zwischen intra- und extrazellulärem DA unterscheidet, sind nach akuter QNP-Intervention unverändert. Möglicherweise heben sich extrazelluläre DA-Reduktionen und präsynaptische DA-Akkumulationen auf und Hemisphären-spezifische Unterschiede gehen unter. Die hier vorliegende Reduktion von DOPAC und die erhöhte TH-Aktivität weisen darauf hin, dass die einmalige und wiederholte Gabe von QNP zur Reduktion des DA-Abbaus und zur Erhöhung der DA-Synthese führt. Beides kompensatorische Mechanismen um eine vermeintlich erhöhte DA-Ausschüttung mit möglichem DAMangel als Folge zu kompensieren. QNP als D_{2/3}-Rezeptor-Agonist führt zu hoher postsynaptischer und Synthese-regulierender Autorezeptor-Aktivierung und täuscht so möglicherweise eine erhöhte DA-Ausschüttung vor, die durch eine vermehrte DA-Synthese kompensiert werden soll – und tatsächlich zeigt sich zwei Wochen nach einmaliger QNP-Intervention ein Trend zu verringerten kortikalen DA-Gehalten als mögliche Anpassung auf eine unnötig erhöhte Synthese aufgrund fehlender vermehrter DA-Ausschüttung. Stattdessen akkumuliert DA in der Präsynapse und führt nur nach chronischer QNP-Behandlung zu einem erhöhten Gesamt-DA-Gehalt. Dies ist offensichtlich neurobiologisches Korrelat für das Zwang-ähnliche Verhaltens.

4.4 Neurobiologische Substrate repetitiven Verhaltens

Zusammenfassend lässt sich nun schlussfolgern, dass die beiden Faktoren Exposition und Substanz z.T. unterschiedlich, z.T. gleichgerichtet neurobiologisch wirksam werden und dennoch nicht alleine repetitives Verhalten induzieren.

Der Faktor Exposition führt zur veränderten Expression von IEGs, ist stress-assoziiert und bedingt so eine veränderte glutamaterge, glutaminerge, GABAerge, 5-HTerge und schließlich DAerge Transmission und hemmt die Proliferation.

Der Faktor Substanz führt ebenfalls zur veränderten Expression von IEGs, beeinflusst das 5-HTerge System, hat inhibitorische Effekte auf das glutamaterge und GABAerge System und aktivierende Effekte auf die Proliferation und führt zur erhöhten DA-Synthese und verringertem DA-Abbau.

Hingegen unterliegt dem repetitiven Phänotyp ein spezifischer neurobiologischer Phänotyp, der durch keinen Faktor allein sondern nur durch die Kombination dieser erklärt werden kann: Nur nach chronisch-intermittierender Gabe von QNP in Verbindung mit der Exposition auf dem OF zeigt sich ein erhöhter Gesamt-DA-Gehalt, regionenspezifisch tendenziell im CPu und DM. Der nach einmaliger QNP-Gabe ebenso reduzierte Gesamt-DOPAC-Gehalt ist hier, regionenspezifisch im Nacc und tendenziell im LGP, deutlich reduzierter. Der nach einmaliger QNP-Gabe ebenso reduzierte Gesamt-DA-Umsatz ist hier, regionenspezifisch im Nacc, CPu und in der SN, ebenfalls deutlich mehr reduziert. Auch der prozentuale Anteil TH-positiver Neurone in der SN ist hier deutlich im Vergleich zur einmaligen Gabe von QNP erhöht. Betrachtet man die vorliegenden Befunde zum DAergen System deutet alles darauf hin, dass die chronisch-intermittierende Gabe des $D_{2/3}$ -Rezeptor-Agonisten QNP zu einer erhöhten Synthese von DA führt, den DA-Abbau senkt und so zu erhöhten DA-Gehalten führt. Die chronisch-intermittierende Gabe von QNP führt zu einem Wechsel von verstärkter DA-Wirkung - gemittelt durch die Gabe des Agonisten - mit anschließendem längerem Ausbleiben der verstärkten DA-Wirkung bei fehlender externer Agonisten-Gabe. Die hohen Anpassungsmechanismen des DAergen Systems versuchen nun möglicherweise wie folgt zu kompensieren:

Die immer wieder verstärkte DA-Wirkung führt zur vermehrten Expression des DAT und VMAT2 (bisher unveröffentlichte Daten aus dem Gesamtprojekt) um vermeintlich vermehrt ausgeschüttetes DA aus der Perisynapse zu entfernen, denn die Aktivität des DAT wird durch präsynaptische D_2 -Autorezeptoren reguliert (Meiergerd et al. 1993), an die QNP ebenfalls bindet und so das falsche Signal der DA-Ausschüttung auslöst (DAT Aktivität kann auch erschöpft werden, Meiergerd & Schenk 1994). Da die DAT Aktivität die extrazelluläre Konzentration von DA bestimmt (Sotnikova et al., 2006), wird tonisches DA reduziert, phasisches erhöht, was nur mittels in vivo Mikrodialyse nachweisbar ist und Gegenstand weiterer Untersuchungen sein könnte.

Die ausbleibende Wiederholung der starken DA-Wirkung und die vermehrte Aktivität des DAT, die zur Reduktion tonischen DA führt, erhöht die Dichte der postsynaptischen D₂-Rezeptoren (Reinel et al. unveröffentlicht). Auch andere Studien belegen, dass die wiederholte Gabe von QNP die D₂-Rezeptoren runterreguliert und zur Rezeptorsupersensitivität (Rezeptorpriming) führt (Chen et al. 1993, Bolanos-Jimenez et al. 2011). Wie die Daten dieser Arbeit belegen, kommt es zur Erhöhung des DA-Gehalts durch vermehrte Synthese und reduziertem Abbau um eine durch präsynaptische Autorezeptoren gemessene vermeintliche DA-Ausschüttung zu kompensieren. Bei präsynaptischer Erhöhung des DA-Gehalts führt ein entsprechender Stimulus, dem Kontext des OF, zur über die D₂-Rezeptoren vermittelten verstärkten DA-Wirkung. So wird der indirekte Weg des CSTC Regelkreises verstärkt, der GPi (bei Ratten EP) weniger aktiviert bzw. stärker gehemmt, was die tendenziell reduzierte c-Fos-Expression belegt, der STN verstärkt inhibiert, was der Befund einer reduzierten c-Fos-Expression untermauert (Tanimura et al. 2010 belegen dass eine reduzierte CO-Aktivität im STN negativ mit Stereotypen korreliert), und so schließlich der Thalamus vermehrt aktiviert, was die tendenziell erhöhte CO-Aktivität belegt. Nach Ausübung der vom Kortex befohlenen Handlung, die im BG-System umgesetzt wird, kommt nicht die Rückkopplung, dass die Handlung erfolgreich war, sondern der Befehl an den Kortex, die Handlungsaufforderung erneut auszusprechen – die Ratten zeigen einen Zwang-ähnlichen Phänotyp.

Neben den gerade erwähnten veränderten Aktivitäten bestimmter Strukturen, ist auch im CPU eine veränderte c-Fos Expression nach chronisch-intermittierender Gabe von QNP nachweisbar und steht somit möglicherweise im Zusammenhang mit dem Zwang-ähnlichen Verhalten. Die Daten dieser Arbeit zeigen entgegen der Erwartungen eine reduzierte c-Fos Expression im Vergleich zu einmal mit QNP behandelten Ratten. Studien belegen, dass das Verhältnis der c-Fos Expression in den zwei Kompartimenten des Striatums (Striosomen und Matrix) den Grad der Stereotypie bei Ratten vorhersagen kann, da die c-Fos-Expression in den Striosomen relativ zu der in der Matrix bei stereotypem Verhalten erhöht ist (Canales & Graybiel 2000, Murray et al. 2014). Da in den zwei Striatum-Anteilen unterschiedliche Expressionen von Neuropeptiden, Rezeptoren und Verbindungen vorliegen (Crittenden & Graybiel 2011, Gerfen et al. 1985, Gerfen & Young 1988, Graybiel 1990) und die Striosomen von limbischen, die Matrix von sensomotorischen und assoziativen Vorderhirn-Regionen innerviert werden (Bolam et al. 1988, Gerfen 1984, McDonald 1992, Ragsdale & Graybiel 1988) ist es nicht verwunderlich, dass hier ein Schlüssel zur Aufklärung der Pathologie verborgen sein könnte. Möglicherweise ist die Verteilung der c-Fos-Expression in den beiden Kompartimenten spezifisch und könnte Gegenstand weiterer Untersuchungen sein.

Ein letzter nicht zu vernachlässigender Effekt ist die deutliche Erhöhung des 5-HT-Gehalts im LGP. Der Zusammenhang von 5-HT und DA wurde zuvor bereits beschrieben. Ergänzend soll hier erwähnt werden, dass kürzlich gezeigt wurde, dass 5-HT-Agonisten sowohl Kontrollverhalten induzieren (Alkhatib et al. 2013) als auch verbessern können (Tucci et al. 2013), aber dass 5-HT-Rezeptoren repetitives Verhalten nicht vermitteln (Tucci et al. 2014).

Es ist davon auszugehen, dass sich das Zwang-ähnliche Verhalten als Resultat pathologischer Trajektorien entwickelt. Die Daten belegen zwar auch, dass bereits die einmalige QNP-Applikation und die OF-Exposition an sich zu neurobiologischen Veränderungen führen, allerdings sind diese unspezifisch und erbringen keinen Phänotyp. Der Zwang-ähnliche Phänotyp bildet sich erst nach chronischer DAerg wirksamer Substanzapplikation heraus und ist Kontextabhängig, zeichnet sich also nur bei Exposition auf dem OF ab. Ihm liegen die erläuterten spezifischen neurobiologischen Veränderungen zugrunde.

Ausblick

Diese Arbeit als Teil des Gesamtprojektes zur multidisziplinären Untersuchung der DAergen Mechanismen im CSTC-Regelkreis im Zwangsmodell der Ratte präsentiert bio- und immunhistochemische Daten, die zum pathophysiologischen Verständnis der repetitiven Störungen beitragen.

Als pathophysiologische Ursache wird eine Dysbalance in der phasisch-tonischen DA-Ausschüttung hervorgerufen durch einen überaktiven DAT angenommen. Um dies nachzuweisen, sind eine Reihe weiterer Untersuchungen notwendig. Die vorliegende Arbeit leistet hierzu einen hilfreichen Beitrag.

Da die hier verwendete Methode zur Gehaltsmessung von DA nicht vermag zwischen prä- und intrasynaptischen DA zu unterscheiden und so keine Aussagen über den Gehalt an tonischem und phasischem DA ermöglichen, ist es in weiteren Arbeiten erstrebenswert dies mittels in vivo Mikrodialyse zu messen.

Wie erwähnt wurde gezeigt, dass DA den dorsalen Raphekern kontrolliert, der den Ursprung kortikaler und subkortikaler 5-HTerger Projektionen darstellt (Ferré et al. 1994). Eine reduzierte 5-HT-Ausschüttung des dorsalen Raphekernes inhibiert die tonische DA-Ausschüttung im CPU inhibieren (Alex et al. 2005). Gehaltsbestimmungen von 5-HT im dorsalen Raphekern sind deshalb von Interesse.

Eine immunhistochemische Darstellung des DAT und der DA-Rezeptoren steht aus. Diese könnten weitere hilfreiche Anhaltspunkte für neurobiologische Korrelate des Zwang-ähnlichen Verhaltens aufzeigen. Allerdings sind die Epitope dieser Antigene übermäßig empfindlich gegenüber einer Fixierung, weshalb das hier für die Immunhistochemie verwendete Probenmaterial nicht herangezogen werden konnte. In weiteren Kohorten müsste Zwang-ähnliches Verhalten induziert werden, um andere Fixierungen auszutesten, die das Gewebe zwar ausreichend fixieren, dabei aber die Epitope nicht verschleiern, was aus tierschutzrechtlichen Gründen im Rahmen dieses Projektes nicht möglich war.

Die immunhistochemische Darstellung von Striosomen und die Messung der Verteilungsmuster von c-Fos in den Striosomen und der Matrix, konnte im Rahmen dieser Arbeit ebenfalls nicht umgesetzt werden, ist nach wie vor aber von Interesse.

Alle Untersuchungen wurden am pharmakologischen Tiermodell durchgeführt. Dies führt nachweislich zum Abbild des Phänotyps von Zwangsspektrumserkrankungen. Allerdings werden hierbei nur einzelne Komponenten des pathophysiologischen Gesamtzustandes moduliert. Die chronische intermittierende Gabe des $D_{2/3}$ -Rezeptor-Agonisten, die zu Zwang-ähnlichem Verhalten führt, sollte zur Hochregulation der D_2 -Rezeptordichte und der Expression von VMAT2 führen, was die molekularbiologischen Daten des Gesamtprojektes auch belegen (gilt sogar auch z.T. für D_1 -Rezeptoren), hier aber nicht nachgewiesen werden konnte. Die Annahme eines überaktiven DAT, der zur Reduktion der tonischen und Erhöhung der phasischen DA-Ausschüttung führt, konnten die molekularbiologischen Daten des Gesamtprojektes am QNP-Zwangmodell nicht hinreichend belegen - nur die einmalige QNP-Gabe erhöht dessen Aktivität in den meisten untersuchten Regionen; nur im STN zeigt sich eine tendenzielle Erhöhung bei den Ratten mit Zwang-ähnlichem Verhalten. Wie bereits erwähnt, fehlen die immunhistochemischen Daten hierzu. Dies zeigt, dass eben nur ein Teil der Pathophysiologie im Modell dargestellt werden kann. Die angenommene pathophysiologische Grundursache vermag das pharmakologische Modell scheinbar nicht nachzuahmen.

Deshalb können vor allem die verhaltens- und molekularbiologischen, bio- und immunhistochemischen Untersuchungen am transgenen Zwangmodell der Ratte mit überexprimierten DAT zum weiteren Verständnis beitragen und ist Teil des Gesamtprojektes. Bisher erwiesen sich homozygote Nachkommen als nicht überlebensfähig, weshalb vergleichende und weitere Untersuchungen an heterozygoten Nachkommen durchgeführt werden. Erste Pilotdaten hierzu zeigen, dass dieses Rattenmodell repetitives Verhalten zeigt, deutlich erhöhte DA- und sogar 5-HT-Gehalte, Expressionen des DAT, der D_1 - und D_2 -Rezeptoren und veränderte, mittels in vivo Elektrophysiologie gemessene Aktivitäten im mPFC, Nacc und STN aufweist. Weitere Daten hierzu und die hier vorliegenden tragen zum Gesamtverständnis der pathophysiologischen Mechanismen von repetitiven Störungen bei.

Zusammenfassung

Repetitives Verhalten ist Symptom vieler psychiatrischer und neurologischer Erkrankungen. Ein besseres Verständnis der Pathophysiologie von repetitivem Verhalten könnte bei der Aufklärung dieser hoch prävalenten und stark belastenden Krankheiten helfen. Ursächlich scheint eine Desinhibierung von im CSTC-Regelkreis enkodierten Stereotypien zu sein. Klinische Befunde und eine Reihe von Studien legen eine DAerge Dysregulation nahe, konnten bisher aber kein weitreichendes Verständnis der Pathophysiologie erbringen um kausale Therapiestrategien zu entwickeln. Die bisherige Studienlage ist widersprüchlich - sowohl DA-Agonisten als auch -Antagonisten induzieren und reduzieren repetitives Verhalten. Eine mögliche Erklärung dieser Diskrepanz könnte eine phasisch-tonische DA-Ausschüttung sein, wobei ein dysfunktionales DAT-System ein erhöhtes Angebot an phasischem, einem verminderten Angebot an tonischem DA und einer erhöhten Expression von D₂-Rezeptoren bedingen könnte. Die unterschiedliche striatale Verteilung der verschieden wirkenden DA-Rezeptoren würde so zu einer Imbalance im CSTS Regelkreis führen.

Zur Überprüfung dieser Hypothese führt diese Arbeit bio- und immunhistochemische Untersuchungen des DAergen Systems unter besonderer Berücksichtigung des CSTC Regelkreises an einem validierten Zwangsmodell der Ratte durch. Die chronisch-intermittierende Gabe des D_{2/3}-Rezeptor-Agonisten QNP löst hier kontextabhängig (OF Exposition) Zwang-ähnliches Verhalten aus. Der experimentelle Aufbau hilft darzustellen, welche neurobiologischen Veränderungen von der OF-Exposition, der DAergen Intervention oder beidem resultieren.

Die Daten dieser Arbeit zeigen, dass die OF-Exposition zu veränderten Expressionen von IEGs führt, glutamaterge, glutaminerge, GABAerge, 5-HTerge und schließlich DAerge Transmission bedingt und die Proliferation hemmt. Die DAerge Intervention führt zu veränderten Expressionen von IEGs, beeinflusst das 5-HTerge System, inhibiert das glutamaterge und GABAerge System, aktiviert die Proliferation und führt zur erhöhten DA-Synthese bei verringertem DA-Abbau. Die Kombination aus beidem induziert wie erwartet repetitives Verhalten in den Ratten und geht mit erhöhtem DA-Gehalt bei erhöhter Synthese und reduziertem Abbau, veränderter c-Fos-Expression im CPu und erhöhtem 5-HT-Gehalt im LGP einher.

Da der erhöhte DA-Gehalt nur nach chronisch-intermittierender QNP-Gabe und OF-Exposition vorliegt, ist dies vermutlich neurobiologisches Korrelat repetitiven Verhaltens. Der Wechsel zwischen verstärkter DA-Wirkung bei Agonisten-Gabe und deren anschließendem Ausbleiben führt wahrscheinlich zur vermehrten DAT-Aktivität, zur Reduktion tonischen DA, zur erhöhten D₂-Rezeptor-Dichte, zur Erhöhung der phasischen DA-Ausschüttung und schließlich zu einer Imbalance im CSTC Regelkreis, die zum Phänotyp führt. Die vorliegenden Ergebnisse unterstreichen die hohe funktionelle Relevanz des Neurotransmitters DA im CSTC-Regelkreis in der Pathophysiologie. Ein transgenes Rattenmodell mit überexprimiertem DAT wird zurzeit untersucht, um die bisher am pharmakologischen Modell gewonnen Daten zu erweitern.

Abstract

Repetitive behaviour is a characteristic symptom of a number of psychiatric and neurological disorders. A better understanding of the pathophysiological mechanisms of repetitive behavior is necessary to elucidate the etiology of these highly prevalent and disabling disorders. Repetitive behavior seems to be grounded in a disinhibition of stereotypies encoded in the CSTC circuit. Clinical findings and a number of experimental studies suggest that DAergic dysregulation plays a major role, but could not yet give sufficient knowledge to develop therapeutical strategies interfering directly with the pathophysiology of this disorder. Studies are partly contradictory. Both DA-agonists and -antagonists have been shown to induce and reduce repetitive behavior. One possible explanation could be a differential effect on phasic vs tonic DA, where a dysfunctional DAT could act to reduce tonic DA in the synaptic cleft, to enhance D₂-receptor-density and to increase phasic DA release. The distinct striatal distribution of the different acting DA receptors would then lead to an imbalance in the CSTC circuit causing a thalamic disinhibition and repeated cortical activation.

To investigate this hypothesis, the present study examines the DAergic system applying bio- and immunohistochemical analysis with particular reference to the CSTC circuit in the valid QNP rat model of obsessive-compulsive disorder. Chronic intermittent injections of the selective D_{2/3}-receptor agonist QNP are used to induce repetitive behavior in the OF. Several control conditions allow for the attribution of neurobiological alterations to either OF exposure, the DAergic intervention or both.

The present results show alterations in expressions of IEGs, glutamatergic, glutaminergic, GABAergic, 5-HTergic and DAergic neurotransmission and reduced proliferation after OF exposure. The DAergic intervention leads to alterations in expressions of IEGs, 5-HTergic transmission, inhibitory impacts on glutamatergic and GABAergic systems, increased proliferation and synthesis of DA and reduced DA metabolism. As expected, only the combination of both chronic-intermittent QNP and OF exposure induces repetitive behaviour in the rats and is accompanied by elevated DA contents and reduced metabolism, varied striatal c-Fos-expression and enhanced 5-HT contents in the LGP.

As the elevated DA contents only arises by chronic-intermittent QNP and OF exposure, this presumably causes the repetitive behaviour. The switch between enhanced DA action after external application of QNP and the following absence of the agonist quite likely leads to an increased activity of the DAT, thereby to a reduction of tonic DA, an upregulation of D₂-receptor density and an enhanced phasic DA release, all contributing to an imbalance in CSTC circuit, inducing the repetitive phenotype. The present results highlight the relevance of the DA system in the CSTC circuit in the pathogenesis of repetitive disorders. A transgenic rat model overexpressing the DAT is currently under investigation to add to the knowledge generated from the pharmacological model in this work.

Literaturverzeichnis

- Abercrombie, E.D., Keefe, K.A., DiFrischia, D.S., Zigmond, M.J. (1989) Differential effect of stress on in vivo dopamine release in striatum, nucleus accumbens, and medial frontal cortex. *Journal of Neurochemistry* 52(5), 1655-1658.
- Aboujaoude, E., Barry, J.J., Gamel, N. (2009) Memantine augmentation in treatment-resistant obsessive-compulsive disorder: an open-label trial. *Journal of Clinical Psychopharmacology* 29(1), 51-55.
- Acheson, A., Conover, J.C., Fandl, J.P., DeChiara, T.M., Russell, M., Thadani, A., Squinto, S.P., Yancopoulos, G.D., Lindsay, R.M. (1995) A BDNF autocrine loop in adult sensory neurons prevents cell death. *Nature* 374 (6521), 450-453.
- Adell, A., Casanovas, J.M., Artigas, F. (1997) Comparative study in the rat of the actions of different types of stress on the release of 5-HT in raphe nuclei and forebrain areas. *Neuropharmacology* 36, 735-741.
- Adell, A., Garcia-Marquez, C., Armario, A., Gelpi, E. (1988a) Chronic stress increases serotonin and noradrenaline in rat brain and sensitizes their responses to a further acute stress. *Journal of Neurochemistry* 50(6), 1678-1681.
- Adell, A., Trullas, R., Gelpi, E. (1988b) Time course of changes in serotonin and noradrenaline in rat brain after predictable or unpredictable shock. *Brain Research* 459(1), 54-59.
- Adler, C.M., McDonough-Ryan, P., Sax, K.W., Holland, S.K., Arndt, S., Strakowski, S.M. (2000) fMRI of neuronal activation with symptom provocation in unmedicated patients with obsessive compulsive disorder. *Journal of Psychiatric Research* 34(4-5), 317-324.
- Ahlenius, S., Hillegaard, V., Wijkström, A. (1991) QNPe-a 5-HT receptor antagonist?. *Neuroscience Letters* 126(1), 57-59.
- Ahmari, S.E., Spellman, T., Douglass, N.L., Kheirbek, M.A., Simpson, H.B., Deisseroth, K., Gordon, J.A., Hen, R. (2013) Repeated cortico-striatal stimulation generates persistent OCD-like behavior. *Science* 340(6137), 1234-1239.
- Albasser, M.M., Olarte-Sánchez, C.M., Amin, E., Horne, M.R., Newton, M.J., Warburton, E.C., Aggleton, J.P. (2013) The neural basis of nonvisual object recognition memory in the rat. *Behavioural Neuroscience* 127(1), 70-85.
- Albasser, M.M., Poirier, G.L., Aggleton, J.P. (2009) Qualitatively different modes of perirhinal-hippocampal engagement when rats explore novel vs. familiar objects as revealed by c-Fos imaging. *European Journal of Neuroscience* 31(1), 134-147.
- Albelda, N., Joel, D. (2012) Animal models of obsessive-compulsive disorder: Exploring pharmacology and neural substrates. *Neuroscience and Behavioural Reviews* 36(1), 47-63.
- Albin, R.L., Koeppe, R.A., Bohnen, N.I., Nichols, T.E., Meyer, P., Wernette, K., Minoshima, S., Kilbourn, M.R., Frey, K.A. (2003) Increased ventral striatal monoaminergic innervation in Tourette syndrome. *Neurology* 61(3), 310-315.
- Alex, K.D., Yavarian, G.J., McFarlane, H.G., Pluto, C.P., Pehek, E.A. (2005) Modulation of dopamine release by striatal 5-HT_{2C} receptors. *Synapse* 55(4), 242-251.
- Alexander, G.E., Crutcher, M.D. (1990) Functional architecture of basal ganglia circuits: Neural substrates of parallel processing. *Trends in Neuroscience* 13(7), 266-271.
- Alkhatib, A.H., Dvorkin-Gheva, A., Szechtman, H. (2013) Quinpirole and 8-OH-DPAT induce compulsive checking behavior in male rats by acting on different functional parts of an OCD neurocircuit. *Behavioural Pharmacology* 24(1), 65-73.
- Alptekin, K., Degirmenci, B., Kivircik, B., Durak, H., Yemez, B., Derebek, E., Tunca, Z. (2001) Tc-99m HMPAO brain perfusion SPECT in drug-free obsessive-compulsive patients without depression. *Psychiatry Research* 107(1), 51-56.

- Altemus, M., Pigott, T., Kalogeras, K.T., Demitrack, M., Dubbert, B., Murphy, D.L., Gold, P.W. (1992) Abnormalities in the regulation of vasopressin and corticotropin releasing factor secretion in obsessive-compulsive disorder. *Archives of General Psychiatry* 49(1), 9-20.
- Anderson, D., Ahmed, A. (2003) Treatment of patients with intractable obsessive-compulsive disorder with anterior capsular stimulation. Case report. *Journal of Neurosurgery* 98(5), 1104-1108.
- Angulo, J.A., Printz, D., Ledoux, M., McEwen, B.S. (1991) Isolation stress increases tyrosine hydroxylase mRNA in the locus coeruleus and midbrain and decreases proenkephalin mRNA in the striatum and nucleus accumbens. *Brain Research and Molecular Brain Research* 11(3-4), 301-308.
- Arnold, P.D., Rosenberg, D.R., Mundo, E., Tharmalingam, S., Kennedy, J.L., Richter, M.A. (2004) Association of a glutamate (NMDA) subunit receptor gene (GRIN2B) with obsessive-compulsive disorder: a preliminary study. *Psychopharmacology* 174(4), 530-538.
- Bain, M.J., Dwyer, S.M., Rusak, B. (2004) Restraint stress affects hippocampal cell proliferation differently in rats and mice. *Neuroscience Letters* 368(1), 7-10.
- Bak, L.K., Schousboe, A., Waagepetersen, H-S. (2006) The glutamate/GABA-glutamine cycle: aspects of transport, neurotransmitter and ammonia transfer. *Journal of Neurochemistry* 98, 641-653.
- Baker, S.A., Baker, K.A., Hagg, T. (2004) DAergic nigrostriatal projections regulate neural precursor proliferation in the adult mouse subventricular zone. *European Journal of Neuroscience* 20, 575-579.
- Barbosa, F.F., Santos, J.R., Meurer, Y.S.R., Macedo, P.T., Ferreira, L.M.S., Pontes, I.M.O., Ribeiro, A.M., Silva, R.H. (2013) Differential Cortical c-Fos and Zif268 Expression after Object and Spatial Memory Processing in a Standard or Episodic-Like Object Recognition Task. *Frontiers in Behavioral Neuroscience* 7, 112.
- Barr, J.L., Scholl, J.L., Solanki, R.R., Watt, M.J., Lowry, C.A., Renner, K.J., Forster, G.L. (2013) Influence of chronic amphetamine treatment and acute withdrawal on serotonin synthesis and clearance mechanisms in rat ventral hippocampus. *European Journal of Neuroscience* 37(3), 479-490.
- Barzilai, A., Daily, D., Zilkha-Falb, R., Ziv, I., Offen, D., Melamed, E., Shirvan, A. (2003) The molecular mechanisms of dopamine toxicity. *Advances in Neurology* 91, 73- 82.
- Baxter, L.R., Schwartz, J.M., Bergmann, K.S., Szuba, M.P., Guze, B.H., Mazziotta, J.C., Alazraki, A., Selin, C.E., Ferng, H.K., Munford, P., Phelps, M.E. (1992) Caudate glucose metabolic rate changes with both drug and behaviour therapy for obsessive-compulsive disorder. *Archives of General Psychiatry* 49, 681-689.
- Baxter, L.R., Schwartz, J.M., Mazziotta, J.C., Phelps, M.E., Pahl, J.J., Guze, B.H., Fairbanks, L. (1988) Cerebral glucose metabolic rates in nondepressed patients with obsessive-compulsive disorder. *American Journal of Psychiatry* 145, 1560-1563.
- Beech, H.R., Ciesielski, K.T., Gordon, P.K. (1983) Further observations of evoked potential in obsessional patients. *British Journal of Psychiatry* 142, 605-609.
- Benkelfat, C, Nordahl, T.E., Semple, W.E., King, C., Murphy, D.L., Cohen, R.M. (1990) Local cerebral glucose metabolic rates in obsessive compulsive disorder: Patients treated with clomipramine. *Archives of General Psychiatry* 47, 840-848.
- Benkelfat, C., Mefford, I.N., Masters, C.F., Nordahl, T.E., King, A.C., Cohen, R.M., Murphy, D.L. (1991) Plasma catecholamines and their metabolites in obsessive-compulsive disorder. *Psychiatry Research* 37(3), 321-331.
- Benkelfat, C., Murphy, D.L., Zohar, J., Hill, J.L., Grover, G., Insel, T.R. (1989) Clomipramine in obsessive-compulsive disorder. *Archives of General Psychiatry* 46, 23-28.
- Bhat, R.V., Worley, P.F., Cole, A.J., Baraban, J.M. (1992) Activation of the zinc finger encoding gene *knox-20* in adult rat brain: comparison with *zif/268*. *Molecular Brain Research* 13, 263-266.

- Bhattacharyya, S., Khanna, S., Chakrabarty, K., Mahadevan, A., Christopher R., Shankar, S.K. (2009) Anti-Brain Autoantibodies and Altered Excitatory Neurotransmitters in Obsessive–Compulsive Disorder. *Neuropsychopharmacology* 34, 2489–2496.
- Bolam, J.P., Izzo, P.N., Graybiel, A.M. (1988) Cellular substrate of the histochemically defined striosome and matrix system of the caudate nucleus: a combined Golgi and immunohistochemical study. *Neuroscience* 24, 853-875.
- Bolaños-Jiménez, R., Arizmendi-Vargas, J., Martínez-Zavala, N., Carrillo-Ruiz, J.D., Calderón Álvarez-Tostado, J.L., Jiménez-Ponce, F., Rivera-Silva, G. (2011) Quinpirole Effects on the Dopaminergic System- *British Journal of Pharmacology and Toxicology* 2(6), 310-317.
- Borcherding, B.G., Keysor, C.S., Rapoport, J.L., Elia, J., Amass, J. (1990) Motor/vocal tics and compulsive behaviors on stimulant drugs: is there a common vulnerability?. *Psychiatry Research* 33(1), 83-94.
- Bozon, B., Davis, S., Laroche, S. (2002) Regulated transcription of the immediate-early gene Zif268: mechanisms and gene dosage-dependent function in synaptic plasticity and memory formation. *Hippocampus* 12(5), 570-577.
- Bozon, B., Davis, S., Laroche, S. (2003) A requirement for the immediate early gene zif268 in reconsolidation of recognition memory after retrieval. *Neuron* 40(4), 695-701.
- Breiter, H.C., Rauch, S.L., Kwong, K.K., Baker, J.R., Weisskoff, R.M., Kennedy, D.N., Kendrick, A.D., Davis, T.L., Jiang, A., Cohn, M.S., Stern, C.E., Belliveau, J.W., Baer, L., O’Sullivan, R.L., Savage, C.R., Jenike, M.A., Rosen, B.R. (1996) Functional magnetic resonance imaging of symptom provocation in obsessive-compulsive disorder. *Archives of General Psychiatry* 53, 595-606.
- Brito, G.N.O. (1997) A neurobiological model for Tourette syndrome centered on the nucleus accumbens. *Medical Hypotheses*, 49(2), 133-142.
- Brown, J., Cooper-Kuhn, C.M., Kempermann, G., Van Praag, H., Winkler, J., Gage, F.H., Kuhn, H.G. (2003) Enriched environment and physical activity stimulate hippocampal but not olfactory bulb neurogenesis. *European Journal of Neuroscience* 17(10), 2042-2046.
- Bullitt E. (1990) Expression of c-fos-like protein as a marker for neuronal activity following noxious stimulation in the rat. *Journal of comparative Neurology* 296, 517-530.
- Butcher, J.N., Mineka, S., Hooley, J.M. (2009) *Klinische Psychologie*. München: Pearson Studium, 264-269
- Butcher, S.P., Fairbrother, I.S., Kelly, J.S., Arbuthnott, G.W. (1990) Effects of selective monoamine oxidase inhibitors on the in vivo release and metabolism of dopamine in the rat striatum. *Journal of Neurochemistry* 55(3), 981-988.
- Butcher, S.P., Fairbrother, I.S., Kelly, J.S., Arbuthnott, G.W. (1988) Amphetamine-induced dopamine release in the rat striatum: an in vivo microdialysis study. *Journal of Neurochemistry* 50(2), 346-355.
- Butler, I.J., Koslow, S.H., Seifert, W.E. Jr, Caprioli, R.M., Singer, H.S. (1979) Biogenic amine metabolism in Tourette syndrome. *Annals of Neurology* 6(1), 37-39.
- Calabresi, P., De Murtas, M., Mercuri, n-B., Bernardi, G. (1992) Chronic neuroleptic treatment: D2 dopamine receptor supersensitivity and striatal glutamatergic transmission. *Annals of Neurology* 31, 366–373.
- Campeau, S., Hayward, M.D., Hope, B.T., Rosen, J.B., Nestler, E.J., Davis, M. (1991) Induction of the c-fos proto-oncogene in the rat amygdala during unconditioned and conditioned fear. *Brain Research* 565, 349-352.
- Canales JJ, Graybiel AM (2000) A measure of striatal function predicts motor stereotypy. *Nature Neuroscience* 3, 377-383.
- Cardona, X., Avila, A. (2000) Obsessive-compulsive disorders and structural cerebral alterations. Description of 3 cases. *Neurologia* 15(6), 253-257.

- Cardoso, F.E., Jankovic, J. (1993) Cocaine-Related movement disorders. *Movement Disorders* 8(2), 175-178.
- Carroll, P., Sendtner, M., Meyer, M., Thoenen, H. (1993) Rat ciliary neurotrophic factor (CNTF): gene structure and regulation of mRNA levels in glial cell cultures. *Glia* 9(3), 176-187.
- Carson, D.S., Hunt, G.E., Guastella, A.J., Barber, L., Cornish, J.L., Arnold, J.C., Boucher, A.A., McGregor, I.S. (2010) Systemically administered oxytocin decreases methamphetamine activation of the subthalamic nucleus and accumbens core and stimulates oxytocinergic neurons in the hypothalamus. *Addiction Biology* 4, 448-463.
- Centonze, D., Palmieri, M.G., Boffa, L., Pierantozzi, M., Stanzione, P., Brusa, L., Marciani, M., Siracusano, A., Bernardi, G., Caramia, M. (2005) Cortical hyperexcitability in post-traumatic stress disorder secondary to minor accidental head trauma: a neurophysiologic study. *Journal of Psychiatry & Neuroscience* 30(2), 127-132.
- Centonze, D., Picconi, B., Baunez, C., Borrelli, E., Pisani, A., Bernardi, G., Calabresi, P. (2002) Cocaine and amphetamine depress striatal GABAergic synaptic transmission through D2 dopamine receptors. *Neuropsychopharmacology* 26, 164-175.
- Cepeda, C., Hurst, R.S., Altemus, K.L., Flores-Hernández, J., Calvert, C.R., Jokel, E.S., Grandy, D.K., Low, M.J., Rubinstein, M., Ariano, M.A., Levine, M.S. (2001) Facilitated glutamatergic transmission in the striatum of D2 dopamine receptor-deficient mice. *Journal of Neurophysiology* 85, 659-670.
- Chakrabarty, K., Bhattacharyya, S., Christopher, R., Khanna, S. (2005) Glutamatergic dysfunction in OCD. *Neuropsychopharmacology* 30(9), 1735-1740
- Chaouloff, F. (2000) Serotonin, stress and corticoids. *Journal of Psychopharmacology* 14(2), 139-151. Review.
- Chen, J.F., Aloyo, V.J., Weiss, B. (1993) Continuous treatment with the D2 dopamine receptor agonist quinpirole decreases D2 dopamine receptors, D2 dopamine receptor messenger RNA and proenkephalin messenger RNA, and increases mu opioid receptors in mouse striatum. *Neuroscience* 54, 669-680.
- Chen, J.F., Beilstein, M., Xu, Y.H., Turner, T.J., Moratalla, R., Standaert, D.G., Aloyo, V.J., Fink, J.S., Schwarzschild, M.A. (2000) Selective attenuation of psychostimulant-induced behavioral responses in mice lacking A(2A) adenosine receptors. *Neuroscience* 97, 195-204.
- Cheon, K.A., Ryu, Y.H., Namkoong, K., Kim, C.H., Kim, J.J., Lee, J.D. (2004) Dopamine transporter density of the basal ganglia assessed with [123I]IPT SPECT in drug-naive children with Tourette's disorder. *Psychiatry Research* 130(1), 85-95.
- Christiansen, J., Squires, R.F. (1974) Antagonistic effects of apomorphine and haloperidol on rat striatal synaptosomal tyrosine hydroxylase. *Journal of Pharmacology* 26, 367-369.
- Ciesielski, K.T., Beech, H.R., Gordon, P.K. (1981) Some electrophysiological observations in obsessional states. *British Journal of Psychiatry* 138, 479-484.
- Cipriani, G., Vedovello, M., Ulivi, M., Nuti, A., Lucetti, C. (2013) Repetitive and stereotypic phenomena and dementia. *American Journal of Alzheimers Disease and Other Dementias* 28(3), 223-227.
- Clark, M., Post, R.M., Weiss, S.R.B., Cain, C.J., Nakajima, T. (1991) Regional expression of c-fos mRNA in rat brain during the evolution of amygdala kindled seizures. *Molecular Brain Research* 11, 55-64.
- Clark, P.J., Bhattacharya, T.K., Miller, D.S., Rhodes, J.S. (2011) Induction of c-Fos, Zif268, and Arc from acute bouts of voluntary wheel running in new and pre-existing adult mouse hippocampal granule neurons. *Neuroscience* 184, 16-27.
- Clark, P.J., Kohman, R.A., Miller, D.S., Bhattacharya, T.K., Haferkamp, E.H., Rhodes, J.S. (2010) Adult hippocampal neurogenesis and c-Fos induction during escalation of voluntary wheel running in C57BL/6J mice. *Behavioral Brain Research* 213(2), 246-252.

- Cohen, D.J., Shaywitz, B.A., Caparulo, B., Young, J.G., Bowers, M.B. Jr. (1978) Chronic, multiple tics of Gilles de la Tourette's disease. CSF acid monoamine metabolites after probenecid administration. *Archives of General Psychiatry* 35(2), 245-250.
- Cole, A.J., Bhat, R.V., Patt, C., Worley, P.F., Baraban, J.F. (1992) D1 dopamine receptor activation in multiple transcription factor genes in rat striatum. *Journal of Neurochemistry* 58, 1420-1426.
- Cooke, S.F., Bliss, T.V. (2006) Plasticity in the human central nervous system. *Brain* 129(Pt 7), 1659-1673.
- Coric, V., Taskiran, S., Pittenger, C., Wasylink, S., Mathalon, D.H., Valentine, G., Saks, J., Wu, Y.T., Gueorguieva, R., Sanacora, G., Malison, R.T., Krystal, J.H. (2005) Riluzole augmentation in treatment-resistant obsessive-compulsive disorder: an open-label trial. *Biological Psychiatry* 58(5), 424-428.
- Coronas, V., Bantubungi, K., Fombonne, J., Krantic, S., Schiffmann, S.N., Roger, M. (2004) Dopamine D3 receptor stimulation promotes the proliferation of cells derived from the post-natal subventricular zone. *Journal of Neurochemistry* 91, 1292-1301.
- Correia, S., Hubbard, E., Hassenstab, J., Yip, A., Vymazal, J., Herynek, V., Giedd, J., Murphy, D.L., Greenberg, B.D. (2010) Basal ganglia MR relaxometry in obsessive-compulsive disorder: T2 depends upon age of symptom onset. *Brain Imaging Behaviour* 4(1), 35-45.
- Coyle, J.T., Puttfarcken, P. (1993) Oxidative stress, glutamate, and neurodegenerative disorders. *Science* 262(5134), 689-695.
- Crittenden, J.R., Graybiel, A.M. (2011) Basal Ganglia disorders associated with imbalances in the striatal striosome and matrix compartments. *Frontiers in Neuroanatomy* 5, 59.
- Cullinan, W.E., Herman, J.P., Battaglia, D.F., Akil, H., Watson, S.J. (1995) Pattern and time course of immediate early gene expression in rat brain following acute stress. *Neuroscience* 64(2), 477-505.
- Curran, E.J., Akil, H., Watson, S.J. (1996) Psychomotor stimulant- and opiate-induced c-fos mRNA expression patterns in the rat forebrain: comparisons between acute drug treatment and a drug challenge in sensitized animals. *Neurochemistry Research* 21 (11), 1425-1435.
- Curzon, G., Joseph, M.H., Knott, P.J. (1972) Effects of immobilization and food deprivation on rat brain tryptophan metabolism. *Journal of Neurochemistry* 19(8), 1967-1974.
- Dale, R.C., Heyman, I., Giovannoni, G., Church, A.W. (2005) Incidence of anti-brain antibodies in children with obsessive-compulsive disorder. *British Journal of Psychiatry* 187, 314-319.
- Davidson, J., Bjorgvinsson, T. (2003) Current and potential pharmacological treatments for obsessive-compulsive disorder. *Expert Opinion on Investigational Drugs* 12 (6), 993-1001.
- Davis, S., 2003. How necessary is the activation of the immediate early gene zif268 in synaptic plasticity and learning? *Behavioural Brain Research* 142, 17-30.
- de Haas, R., Nijdam, A., Westra, T.A., Kas, M.J., Westenberg, H.G. (2011) Behavioral pattern analysis and dopamine release in quinpirole-induced repetitive behavior in rats. *Journal of Psychopharmacology* 25(12), 1712-1719.
- Dean, O., Giorlando, F., Berk, M. (2011) N-acetylcysteine in psychiatry: current therapeutic evidence and potential mechanisms of action. *Journal of Psychiatry and Neuroscience* 36(2), 78-86.
- Delgado, A., Sierra, A., Querejeta, E., Valdiosera, R.F., Aceves, J. (2000) Inhibitory control of the GABAergic transmission in the rat neostriatum by D2 dopamine receptors. *Neuroscience* 95, 1043-1048.
- Demirkol, A., Erdem, H., Inan, L., Yigit, A., Güney, M. (1999) Bilateral globus pallidus lesions in a patient with Tourette syndrome and related disorders. *Biological Psychiatry* 46(6), 863-867.

- Denys, D., de Vries, F., Cath, D., Figeo, M., Vulink, N., Veltman, D.J., van der Doef, T.F., Boellaard, R., Westenberg, H., van Balkom, A., Lammertsma, A.A., van Berckel, B.N. (2013) DAergic activity in Tourette syndrome and obsessive-compulsive disorder. *European Neuropsychopharmacology* 23(11), 1423-1431.
- Denys, D., Mantione, M., Figeo, M., van den Munckhof, P., Koerselman, F., Westenberg, H., Bosch, A., Schurman, R. (2010) Deep brain stimulation of the nucleus accumbens for treatment-refractory obsessive-compulsive disorder. *Archives of General Psychiatry*. 67(10), 1061-1068.
- Denys, D., van der Wee, N., Janssen, J., De Geus, F., Westenberg, H.G. (2004) Low level of DAergic D2 receptor binding in obsessive-compulsive disorder. *Biological Psychiatry* 55(10), 1041-1045.
- Di Chiara, G., Carboni, E., Morelli, M., Cozzolino, A., Tanda, G.L., Pinna, A., Russi, G., Consolo, S. (1993) Stimulation of dopamine transmission in the dorsal caudate nucleus by pargyline as demonstrated by dopamine and acetylcholine microdialysis and Fos immunohistochemistry. *Neuroscience* 55(2), 451-456.
- Di Giovanni, G., Di Matteo, V., Pierucci, M., Esposito, E. (2008) Serotonin-Dopamine interaction: Electrophysiological evidence. *Progress in Brain Research* 172, 45-71.
- Diaz, J., Ridray, S., Mignon, V., Griffon, N., Schwartz, J.C., Sokoloff, P. (1997) Selective expression of dopamine D3 receptor mRNA in proliferative zones during embryonic development of the rat brain. *Journal of Neuroscience* 17, 4282-4292.
- Djodari-Irani, A., Klein, J., Banzhaf, J., Joel, D., Heinz, A., Harnack, D., Lagemann, T., Juckel, G., Kupsch, A., Morgenstern, R., Winter, C. (2011) Activity modulation of the globus pallidus and the nucleus entopeduncularis affects compulsive checking in rats. *Behavioral Brain Research* 219(1), 149-58.
- Drago, J., Gerfen, C.R., Westphal, H., Steiner, H. (1996) D1 dopamine receptor-deficient mouse: cocaine-induced regulation of immediate-early gene and substance P expression in the striatum. *Neuroscience* 74(3), 813-823.
- Drouet, J.B., Fauvelle, F., Maunoir-Regimbal, S., Fidler, N., Maury, R., Peinnequin, A., Denis, J., Buguet, A., Canini, F. (2014) Differences in prefrontal cortex GABA/glutamate ratio after acute restraint stress in rats are associated with specific behavioral and neurobiological patterns. *Neuroscience*. Epub ahead of print.
- Dunn, A.J. (1988a) Stress-related changes in cerebral catecholamine and indoleamine metabolism: lack of effect of adrenalectomy and corticosterone. *Journal of Neurochemistry* 51(2), 406-412.
- Dunn, A.J. (1988b) Changes in plasma and brain tryptophan and brain serotonin and 5-hydroxyindoleacetic acid after footshock stress. *Life Science* 42(19), 1847-1853.
- Dvorkin, A., Perreault, M.L., Szechtman, H. (2006) Development and temporal organization of compulsive checking induced by repeated injections of the dopamine agonist quinpirole in an animal model of obsessive-compulsive disorder. *Behavioral Brain Research* 169(2), 303-311.
- Eilam, D., Golani, I. (1989) Home base behavior of rats (*rattus norvegicus*) exploring a novel environment. *Behavioral Brain Research* 34(3), 199-211.
- Eilam, D., Szechtman, H. (2005) Psychostimulant-Induced behavior as an animal model of obsessive-compulsive disorder: An ethological approach to the form of compulsive rituals. *CNS Spectrum* 10(3), 191-202.
- Eilam, D., Zor, R., Fineberg, N., Hermesh, H. (2012) Animal behavior as a conceptual framework for the study of obsessive-compulsive disorder (OCD). *Behavioral Brain Research* 231(2), 289-296.
- Einat, H., Einat, D., Allan, M., Talangbayan, H., Tsafnat, T., Szechtman, H. (1996) Associational and nonassociational mechanisms in locomotor sensitization to the dopamine agonist QNPe. *Psychopharmacologie (Berlin)* 127(2), 95-101.

- Einat, H., Szechtman, H. (1993) Environmental modulation of both locomotor response and locomotor sensitization to the dopamine agonist QNPe. *Behavioral Pharmacology* 4(4), 399-403.
- Elsworth, J.D., Roth, R.H. (1997) Dopamine synthesis, uptake, metabolism, and receptors: relevance to gene therapy of Parkinson's disease. *Experimental Neurology* 144(1), 4-9.
- Elverfors, A., Pileblad, E., Lagerkvist, S., Bergquist, F., Jonason, J., Nissbrandt, H. (1997) 3-Methoxytyramine formation following monoamine oxidase inhibition is a poor index of dendritic dopamine release in the substantia nigra. *Journal of Neurochemistry* 69(4), 1684-1692.
- Emsley, J.G., Hagg, T. (2003) Endogenous and exogenous ciliary neurotrophic factor enhances forebrain neurogenesis in adult mice. *Experimental Neurology* 183(2), 298-310.
- Eriksson, P.S., Perfilieva, E., Björk-Erikson, T., Alborn, A., Nordberg, C., Peterson, D.A., Gage, F.H. (1998) Neurogenesis in the adult human hippocampus. *Nature Medicine* 4, 1313-1317.
- Ernst, A.M., Smelik, P.G. (1966) Site of action of dopamine and apomorphine on compulsive gnawing behavior in rats. *Experientia* 22, 837-838.
- Ernst, M., Zametkin, A.J., Matochik, J.A., Pascualvaca, D., Jons, P.H., Cohen, R.M. (1999) High midbrain [¹⁸F]DOPA accumulation in children with attention deficit hyperactivity disorder. *American Journal of Psychiatry* 156(8), 1209-1215.
- Escalona, R., Tupler, L.A., Saur, C.D., Krishnan, K.R., Davidson, J.R. (1997) Screening for trauma history on an inpatient affective-disorders unit: a pilot study. *Journal of Traumatic Stress* 10(2), 299-305.
- Falini, B., Canino, S., Sacchi, S., Ciani, C., Martinelli, M. F., Gerdes, J., Stein, H., Pileri, S., Gobbi, M., Fagioli, M., Minelli, O., Flenghi, L. (1988) Immunocytochemical evaluation of the percentage of proliferation cells in pathological bone marrow and peripheral blood samples with the Ki-67 and antibromodeoxyuridine antibodies. *British Journal of Hematology* 69, 311-320.
- Feenstra, M.G., Botterblom, M.H. (1996) Rapid sampling of extracellular dopamine in the rat prefrontal cortex during food consumption, handling and exposure to novelty. *Brain Reserach* 742(1-2), 17-24.
- Feenstra, M.G., Botterblom, M.H., van Uum, J.F. (1995) Novelty-induced increase in dopamine release in the rat prefrontal cortex in vivo: inhibition by diazepam. *Neuroscience Letters* 189(2), 81-84.
- Feinberg, M., Carroll, B.J. (1979) Effects of dopamine agonists and antagonists in Tourette's disease. *Archives of General Psychiatry* 36(9), 979-85.
- Felice, L.J., Felice, J.D., Kissinger, P.T. (1978) Determination of catecholamines in rat brain parts by reverse-phase ion-pair liquid chromatography. *Journal of Neurochemistry* 31(6), 1461-1465.
- Ferré, S., Cortés, R., Artigas, F. (1994) DAergic regulation of the serotonergic raphestriatal pathway: Microdialysis studies in freely moving rats. *Journal of Neuroscience* 14(8), 4839-4846.
- Figueiredo, H.F., Bruestle, A., Bodie, B., Dolgas, C.M., Herman, J.P. (2003) The medial prefrontal cortex differentially regulates stress-induced c-fos expression in the forebrain depending on type of stressor. *European Journal of Neuroscience* 18(8), 2357-2364.
- Fischer, C., Probst, P. (2006) Zwangspänomene bei Asperger-Syndrom und High-functioning-Autismus. *Zeitschrift für Psychiatrie, Psychologie und Psychotherapie* 54 (4), 277-292
- Fisher, R.S., Levine, M.S., Sibley, D.R., Ariano, M.A. (1994) D2 dopamine receptor protein location: Golgi impregnation-gold toned and ultrastructural analysis of the rat neostriatum. *Journal of Neuroscience Research* 38(5), 551-564.
- Florán, B., Florán, L., Erlij, D., Aceves, J. (2004) Activation of dopamine D4 receptors modulates (3H) GABA release in slices of the rat thalamic reticular nucleus. *Neuropharmacology* 46(4), 497-503.

- Fontaine, D., Mattei, V., Borg, M., von Langsdorff, D., Magnie, M.N., Chanalet, S., Robert, P., Paquis, P. (2004) Effect of subthalamic nucleus stimulation on obsessive-compulsive disorder in a patient with Parkinson disease. Case report. *Journal of Neurosurgery* 100(6), 1084-1086.
- Fontella, F.U., Vendite, D.A., Tabajara, A.S., Porciúncula, L.O., da Silva Torres, I.L., Jardim, F.M., Martini, L., Souza, D.O., Netto, C.A., Dalmaz, C. (2004) Repeated restraint stress alters hippocampal glutamate uptake and release in the rat. *Neurochemical Research* 29(9), 1703-1709.
- Fontenelle, L.F., Barbosa, I.G., Luna, J.V., Rocha, N.P., Silva Miranda, A., Teixeira, A.L. (2012) Neurotrophic factors in obsessive-compulsive disorder. *Psychiatry Research* 199(3), 195-200.
- Fornaro, M., Gabrielli, C., Fornaro, S., Rizzato, S., Mattei, C., Solano, P., Vinciguerra, V., Fornaro, P. (2009) Obsessive-compulsive disorder and related disorders: a comprehensive survey. *Annals of General Psychiatry* 8, 13
- Friedlander, L., Desrocher, M. (2006) Neuroimaging studies of obsessive-compulsive disorder in adults and children. *Clinical Psychology Review* 26(1), 32 - 49.
- Gall, C., Lauterborn, J., Isackson, P., White, J. (1990) Seizures, neuropeptide regulation, and mRNA expression in the hippocampus. *Progress in Brain Research* 83, 371-390.
- Galloway, M.P., Wolf, M.E., Roth, R.H. (1986) Regulation of dopamine synthesis in the medial prefrontal cortex is mediated by release modulating autoreceptors: studies in vivo. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 236(3), 689-698.
- George, M.S., Robertson, M.M., Costa, D.C., Ell, P.J., Trimble, M.R., Pilowsky, L., Verhoeff, N.P. (1994) Dopamine receptor availability in Tourette's syndrome. *Psychiatry Research* 55(4), 193-203.
- Gerdes, J., Lemke, H., Baisch, H., Wacker, W.W., Schwab, U., Stein, H. (1984) Cell cycle analysis of a cell proliferation-associated human nuclear antigen defined by the monoclonal antibody Ki-67. *Journal of Immunology* 133, 1710-1715.
- Gerfen, C.R. (1984) The neostriatal mosaic: compartmentalization of corticostriatal input and striatonigral output systems. *Nature* 311, 461-464.
- Gerfen, C.R., Baimbridge, K.G., Miller, J.J. (1985) The neostriatal mosaic: compartmental distribution of calcium-binding protein and parvalbumin in the basal ganglia of the rat and monkey. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 82(24), 8780-8784.
- Gerfen, C.R., Young, W.S. 3rd (1988) Distribution of striatonigral and striatopallidal peptidergic neurons in both patch and matrix compartments: an in situ hybridization histochemistry and fluorescent retrograde tracing study. *Brain Research* 460, 161-167.
- Gerlach, C., Golding, M., Larue, L., Alison, M., Gerdes, J. (1997a) Ki-67 immunorepression is a robust marker of proliferative cells in the rat. *Laboratory Investigation* 77, 697-698.
- Gerlach, C., Sakkab, D.Y., Scholzen, T., Dasler, R., Alison, M.R., Gerdes, J. (1997b) Ki-67 expression during rat liver regeneration after partial hepatectomy. *Hepatology* 26, 573-578.
- Gilbert, D.L., Christian, B.T., Gelfand, M.J., Shi, B., Mantil, J., Sallee, F.R. (2006) Altered mesolimbocortical and thalamic dopamine in Tourette syndrome. *Neurology* 67(9), 1695-1697.
- Gobert, A., Rivet, J.M., Audinot, V., Cistarelli, L., Spedding, M., Vian, J., Peglion, J.L., Millan, M.J. (1995) Functional correlates of dopamine D3 receptor activation in the rat in vivo and their modulation by the selective antagonist, (+)-S 14297: II. Both D2 and "silent" D3 autoreceptors control synthesis and release in mesolimbic, mesocortical and nigrostriatal pathways. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 275(2), 899-913.
- Goldsmith, T.B., Shapira, N.A., Keck, P.E. (1999) Rapid remission of OCD with tramadol hydrochloride. *The American Journal of Psychiatry* 156 (4), 660-661.
- Goodman, W.K., McDougle, C.J., Price, L.H., Riddle, M.A., Pauls, D.L., Leckman, J.F. (1990) Beyond the serotonin hypothesis: A role for dopamine in some forms of obsessive compulsive disorder?. *Journal of Clinical Psychiatry* 51 (36-43), discussion 55-58.

- Gould, E., Gross, C.G. (2002) Neurogenesis in adult mammals: some progress and problems. *Journal of Neuroscience* 22(3), 619-623.
- Grace, A. A. (2000) The tonic/phasic model of dopamine system regulation and its implications for understanding alcohol and psychostimulant craving. *Addiction* 95 (2), 119-128.
- Grace, A.A. (1993) Cortical regulation of subcortical dopamine systems and its possible relevance to schizophrenia. *Journal of Neural Transmission: General Section* 91(2-3), 111-34.
- Grados, M., Wilcox, H.C. (2007) Genetics of obsessive-compulsive disorder: a research update. *Expert Review of Neurotherapy* 7(8), 967-980.
- Grant, P., Lougee, L., Hirschtritt, M., Swedo, S.E. (2007) An open-label trial of riluzole, a glutamate antagonist, in children with treatment-resistant obsessive-compulsive disorder. *Journal of Child and Adolescent Psychopharmacology* 17(6), 761-767.
- Graybiel AM (1990) Neurotransmitters and neuromodulators in the basal ganglia. *Trends in Neuroscience* 13, 244–254.
- Graybiel, A.M. (2000) The basal ganglia. *Current Biology* 10(14), R509-511.
- Graybiel, A.M., Moratallam R, Robertson, H.A. (1990) Amphetamine and cocaine induce drug-specific activation of the c-fos gene in striosome-matrix compartments and limbic subdivisions of the striatum. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 87(17), 6912-6916.
- Gross, C.G. (2000) Neurogenesis in the adult brain: death of a dogma. *Nature Reviews Neuroscience* 1(1), 67-73.
- Haber, S.N., Calzavara, R. (2009) The cortico-basal ganglia integrative network: the role of the thalamus. *Brain Research Bulletin* 78(2-3), 69-74.
- Hagg, T., Varon, S. (1993) Ciliary neurotrophic factor prevents degeneration of adult rat substantia nigra DAergic neurons in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 90(13), 6315-6319.
- Hall, D., Dhilla, A., Charalambous, A., Gogos, A., Karayiorgou, M. (2003) Sequence Variants of the Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) Gene Are Strongly Associated with Obsessive-Compulsive Disorder". *The American Journal of Human Genetics* 73(2), 370–376.
- Handa, R.J., Nunley, K.M., Bollnow, M.R. (1993) Induction of c-fos mRNA in the brain and anterior pituitary gland by a novel environment. *Neuroreport* 4(9), 1079-1082.
- Harms, K.J., Dunaevsky, A. (2007) Dendritic spine plasticity: looking beyond development. *Brain Research* 1184, 65-71.
- Hasler, G., van der Veen, J.W., Grillon, C., Drevets, W.C., Shen, J. (2010) Effect of acute psychological stress on prefrontal GABA concentration determined by proton magnetic resonance spectroscopy. *American Journal of Psychiatry* 167(10), 1226-1231.
- Hastings, T.G., Lewis, D.A., Zigmond, M.J. (1996) Role of oxidation in the neurotoxic effects of intrastriatal dopamine injections *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 93, 1956 –1961.
- Heine, V.M., Maslam, S., Zareno, J., Joëls, M., Lucassen, P.J. (2004) Suppressed proliferation and apoptotic changes in the rat dentate gyrus after acute and chronic stress are reversible. *European Journal of Neuroscience* 19(1), 131-144.
- Hesse, S., Müller, U., Lincke, T., Barthel, H., Villmann, T., Angermeyer, M.C., Sabri, O., Stengler-Wenzke, K. (2005) Serotonin and dopamine transporter imaging in patients with obsessive-compulsive disorder. *Psychiatry Research* 140(1), 63-72.
- Hewlett, W.A., Vinogradov, S., Agras, W.S. (1992) Clomipramine, clonazepam, and clonidine treatment of obsessive-compulsive disorder. *Journal of Clinical Psychopharmacology* 12(6), 420-430.

- Hoekstra, P.J., Minderaa, R.B. (2005) Tic disorders and obsessive-compulsive disorder: is autoimmunity involved?. *International Review of Psychiatry* 17, 497–502.
- Höglinger, G.U., Rizk, P., Muriel, M.P., Duyckaerts, C., Oertel, W.H., Caille, I., Hirsch, E.C. (2004) Dopamine depletion impairs precursor cell proliferation in parkinson disease. *Nature of Neuroscience* 7, 726–735.
- Hohagen, F. (1992) Neurobiologische Grundlagen der Zwangsstörung. In: Hand, I., Goodman, W.K., Evers, U. (Hrsg.) *Zwangsstörungen. Neue Forschungsergebnisse*. Heidelberg: Springer, 37-71.
- Hollander, E. (1997) Obsessive-Compulsive disorder: The hidden epidemic. *Journal of Clinical Psychiatry* 58 (12), 3-6.
- Hollander, E. (1998) Treatment of obsessive-compulsive spectrum disorder with SSRIs. *British Journal of Psychiatry* 35, 7-12.
- Hollander, E., DeCaria, C.M., Nitsescu, A., Gully, R., Suckow, R.F., Cooper, T.B., Goramn, J.M., Klein, D.F., Liebowitz, M.R. (1992) Serotonergic function in obsessive-compulsive disorder: Behavioral and neuroendocrine responses to oral m-chlorophenylpiperazine and fenfluramine in patients and healthy volunteers. *Archives of General Psychiatry* 49, 21-28.
- Hollander, E., Wong, C.M. (1995) Obsessive-Compulsive spectrum disorders. *Journal of Clinical Psychiatry* 56 (4), 3-6, discussion 53-55.
- Holman, R.B., Elliott, G.R., Kramer, A.M., Seagraves, E., Barchas, J.D. (1977) Stereotypy and hyperactivity in rats receiving ethanol and a monoamine oxidase inhibitor. *Psychopharmacology* 54(3), 237-239.
- Hsu, K.S., Huang, C.C., Yang, C.H., Gean, P.W. (1995) Presynaptic D2 dopaminergic receptors mediate inhibition of excitatory synaptic transmission in rat neostriatum. *Brain Research* 690, 264–268.
- Huang, E.J., Reichardt, L.F. (2001) Neurotrophins: Roles in Neuronal Development and Function. *Annual Review in Neuroscience* 24, 677–736.
- Huff, W., Lenartz, D., Schormann, M., Lee, S.H., Kuhn, J., Koulousakis, A., Mai, J., Daumann, J., Maarouf, M., Klosterkötter, J., Sturm, V. (2010) Unilateral deep brain stimulation of the nucleus accumbens in patients with treatment-resistant obsessive-compulsive disorder: Outcomes after one year. *Clinical Neurology and Neurosurgery* 112(2), 137-143.
- Hughes, P., Dragunow, M. (1995) Induction of immediate-early genes and the control of neurotransmitter-regulated gene expression within the nervous system. *Pharmacological Reviews* 47 (1), 133–178.
- Hwang, W.J., Yao, W.J., Fu, Y.K., Yang, A.S. (2008) [99mTc]TRODAT-1/[123I]IBZM SPECT studies of the DAergic system in Tourette syndrome. *Psychiatry Research* 162(2), 159-166.
- Imperato, A., Angelucci, L., Casolini, P., Zocchi, A., Puglisi-Allegra, S. (1992) Repeated stressful experiences differently affect limbic dopamine release during and following stress. *Brain Research* 577(2), 194-199.
- Imperato, A., Tanda, G., Frau, R., Di Chiara, G. (1988) Pharmacological profile of dopamine receptor agonists as studied by brain dialysis in behaving rats. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 245(1). 257-264.
- Inouye, E. (1965) Similar and dissimilar manifestations of obsessive-compulsive neurosis in monozygotic twins. *American Journal of Psychiatry* 121, 1171-1175.
- Insel, T.R., Hamilton, J.A., Guttmacher, L.B., Murphy, D.L. (1983) D-amphetamine in obsessive-compulsive disorder. *Psychopharmacology* 80(3); 231-235.
- Insel, T.R., Mueller, E.A., Altermann, I., Linoila, M., Murphy, D.L. (1985) Obsessive-compulsive disorder and serotonin: Is there a connection? *Biological Psychiatry* 20, 1174-1188.

- Jankovic, J. (2001) Tourette's syndrome. *The New England Journal of Medicine* 345(16), 1184-1192.
- Jardim, F.M., Martini, L., Souza, D.O., Netto, C.A., Dalmaz, C. (2004) Repeated restraint stress alters hippocampal glutamate uptake and release in the rat. *Neurochemical Research* 29(9), 1703-1709.
- Jenkins, T.A., Amin, E., Pearce, J.M., Brown, M.W., Aggleton, J.P. (2004) Novel spatial arrangements of familiar visual stimuli promote activity in the rat hippocampal formation but not the parahippocampal cortices: a c-fos expression study. *Neuroscience* 124(1), 43-52.
- Joel, D. (2006) Current animal models of obsessive compulsive disorder: a critical review. *Progress in Neuropsychopharmacology and Biological Psychiatry* 30(3), 374-388.
- Joel, D., Doljansky, J., Schiller, D. (2005) 'Compulsive' lever pressing in rats is enhanced following lesions to the orbital cortex, but not to the basolateral nucleus of the amygdala or to the dorsal medial prefrontal cortex. *European Journal of Neuroscience* 21(8), 2252-2262.
- Joffe, R.T., Swinson, R.P. (1987) Methylphenidate in primary obsessive-compulsive disorder. *Journal of Clinical Psychopharmacology* 7(6), 420-422.
- Joffe, R.T., Swinson, R.P., Levitt, A.J. (1991) Acute psychostimulant challenge in primary obsessive-compulsive disorder. *Journal of Clinical Psychopharmacology* 11(4), 237-241.
- Joseph, M. H., Kennett, G. A. (1981) Brain tryptophan and 5-HT function in stress. *British Journal of Pharmacology* 73, 267.
- Kawahara, H., Yoshida, M., Yokoo, H., Nishi, M., Tanaka, M. (1993) Psychological stress increases serotonin release in the rat amygdala and prefrontal cortex assessed by in vivo microdialysis. *Neuroscience Letters* 162, 81-84.
- Kee, N., Sivalingam, S., Boonstra, R., Wojtowicz, J.M. (2002) The utility of Ki-67 and BrdU as proliferative markers of adult neurogenesis. *Journal of Neuroscience Methods* 115(1), 97-105.
- Kehr, W., Carlsson, A., Lindqvist, M., Magnusson, T., Atack, C.V. (1972) Evidence for a receptor mediated feedback control of striatal tyrosine hydroxylase activity. *Journal of Pharmacology* 24, 744-747.
- Kempermann, G., Gage, F.H. (1999) New nerve cells for the adult brain. *Science* 280, 48-53.
- Kempermann, G., Kuhn, H.G., Gage, F.H. (1997) More hippocampal neurons in adult mice living in an enriched environment. *Nature* 386(6624), 493-495.
- Kennett, G.A., Chaouloff, F., Marcou, M., Curzon, G. (1986) Female rats are more vulnerable than males in an animal model of depression: the possible role of serotonin. *Brain Research* 382(2), 416-421.
- Kennett, G.A., Joseph, M.H. (1981) The functional importance of increased brain tryptophan in the serotonergic response to restraint stress. *Neuropharmacology* 20(1), 39-43.
- Kerr, J.E., Beck, S.G., Handa, R.J. (1996) Androgens selectively modulate C-fos messenger RNA induction in the rat hippocampus following novelty. *Neuroscience* 74(3), 757-766.
- Khullar, A., Chue, P., Tibbo, P. (2001) Quetiapine and obsessive-compulsive symptoms (OCS). *Journal of Psychiatry and Neuroscience* 26(1), 55-59.
- Kim, C.H., Cheon, K.A., Koo, M.S., Ryu, Y.H., Lee, J.D., Chang, J.W., Lee, H.S. (2007) Dopamine transporter density in the basal ganglia in obsessive-compulsive disorder, measured with [123I]IPT SPECT before and after treatment with serotonin reuptake inhibitors. *Neuropsychobiology* 55(3-4), 156-162.
- Kim, C.H., Koo, M.S., Cheon, K.A., Ryu, Y.H., Lee, J.D., Lee, H.S. (2003) Dopamine transporter density of basal ganglia assessed with [123I]IPT SPET in obsessive-compulsive disorder. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* 30(12), 1637-1643.

- Kim, J., Kim, M., Kwon do Y., Seo, W.K., Kim, J.H., Baik, J.S., Koh, S.B. (2013) Clinical characteristics of impulse control and repetitive behavior disorders in Parkinson's disease. *Journal of Neurology* 260(2), 429-437.
- Klempel, K. (1974) Gilles de la Tourette's symptoms induced by L-dopa. *South African Medical Journal* 48(32), 1379-1380.
- Knapaska, E., Kaczmarek, L. (2004) A gene for Neuronal Plasticity in the Mammalian Brain: Zif286/Egr1/NGFI-A/Krox-24/TIS-8/ZENK?. *Progress in Neurobiology* 74(4), 183-211.
- Knott, P.J., Joseph, M.H., Curzon, G. (1973) Effects of food deprivation and immobilization on tryptophan and other amino acids in rat brain. *Journal of Neurochemistry* 20(1), 249-251.
- Knox, D., Perrine, S.A., George, S.A., Galloway, M.P., Liberzon, I. (2010) Single prolonged stress decreases glutamate, glutamine, and creatine concentrations in the rat medial prefrontal cortex. *Neuroscience Letters* 480(1), 16-20.
- Koeltzow, T.E., Austin, J.D., Vezina, P. (2003) Behavioral sensitization to quinpirole is not associated with increased nucleus accumbens dopamine overflow. *Neuropharmacology* 44(1), 102-110.
- Koh, S., Chung, H., Xia, H., Mahadevia, A., Song, Y. (2005) Environmental enrichment reverses the impaired exploratory behavior and altered gene expression induced by early-life seizures. *Journal of Child Neurology* 20(10), 796-802.
- Kolb, B., Whishaw, I.Q. (1998) Brain plasticity and behavior. *Annual Review in Psychology* 49, 43-64.
- Koran, L.M., Aboujaoude, E., Bullock, K.D., Franz, B., Gamel, N., Elliott, M. (2005): Double-blind treatment with oral morphine in treatment-resistant obsessive-compulsive disorder. *The journal of clinical psychiatry* 66 (3), 353–359.
- Korr, H., Schultze, B., Maurer, W. (1975) Autoradiographic investigations of glial proliferation in the brain of adult mice. II. Cycle time and mode of proliferation of neuroglia and endothelial cells. *Journal of Comparative Neurology* 160(4), 477-490.
- Kouris, S. (1998) Methylphenidate-induced obsessive-compulsiveness. *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry* 37(2), 135.
- Kovács, K.J. (1998) c-Fos as a transcription factor: a stressful (re)view from a functional map. *Neurochemistry International* 33(4), 287-297.
- Krugers, H.J., Koolhaas, J.M., Bohus, B., Korf, J. (1993) A single social stress-experience alters glutamate receptor-binding in rat hippocampal CA3 area. *Neuroscience Letters* 154(1-2), 73-7.
- Kubo, N., Shirakawa, O., Kuno, T., Tanaka, C. (1987) Antimuscarinic effects of antihistamines: quantitative evaluation by receptor-binding assay. *Japanese Journal of Pharmacology* 43(3), 277–282.
- Kushner, M.G., Kim, S.W., Donahue, C., Thuras, P., Adson, D., Kotlyar, M., McCabe, J., Peterson, J., Foa, E.B. (2007) D-cycloserine augmented exposure therapy for obsessive-compulsive disorder. *Biological Psychiatry* 62(8), 835-838.
- Lacerda, A.L., Dalgalarondo, P., Caetano, D., Haas, G.L., Camargo, E.E., Keshavan, M.S. (2003) Neuropsychological performance and regional cerebral blood flow in obsessive-compulsive disorder. *Progress in Neuropsychopharmacology and Biological Psychiatry* 27(4), 657-665.
- Ladurelle, N., Roques, B.P., Daugé, V. (1995) The transfer of rats from a familiar to a novel environment prolongs the increase of extracellular dopamine efflux induced by CCK8 in the posterior nucleus accumbens. *Journal of Neuroscience* 15(4), 3118-3127.
- Lafleur, D.L., Pittenger, C., Kelmendi, B., Gardner, T., Wasylink, S., Malison, R.T., Sanacora, G., Krystal, J.H., Coric, V. (2006) N-acetylcysteine augmentation in serotonin reuptake inhibitor refractory obsessive-compulsive disorder. *Psychopharmacology* 184 (2), 254–256.

- Lamberty, Y., Gower, A.J. (2004) Hydroxyzine prevents isolation-induced vocalization in guinea pig pups: comparison with chlorpheniramine and imipemip. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior* 79(1), 119–124.
- Lanaud, P., Maggio, R., Gale, K., Grayson, D.R. (1993) Temporal and spatial patterns of expression of c-fos, zif/268, cjun and jun-B mRNAs in rat brain following seizures evoked focally from the deep prepiriform cortex. *Experimental Neurology* 119, 20-31.
- Laplane, D. (1994) Obsessive-Compulsive disorders caused by basal ganglia diseases. *Revue Neurologique (Paris)* 150(8-9), 594-598.
- Laplane, D., Levasseur, M., Pillon, B., Dubois, B., Baulac, M., Mazoyer, B., Tran Dinh, S., Sette, G., Danze, F., Baron, J.C. (1989) Obsessive-Compulsive and other behavioural changes with bilateral basal ganglia lesions. A neuropsychological, magnetic resonance imaging and positron tomography study. *Brain* 112 (3), 699-725.
- Legault, M., Wise, R.A. (2001) Novelty-evoked elevations of nucleus accumbens dopamine: dependence on impulse flow from the ventral subiculum and glutamatergic neurotransmission in the ventral tegmental area. *European Journal of Neuroscience* 13(4), 819-828.
- Lesch, K.P. (1991) Psychobiologie der Zwangskrankheit. *Fortschritte der Neurobiologie und Psychiatrie* 59, 404-412.
- Leviel, V., Fayada, C., Giubert, B., Chaminade, M., Macheck, G., Mallet, J., Biguet, N. (1990) Short- and long-term alterations of gene expression in limbic structures by repeated electroconvulsive-induced seizures. *Journal of Neurochemistry* 54, 899-904.
- Lillrank, S.M., Lipska, B.K., Kolachana, B.S., Weinberger, D.R. (1999) Attenuated extracellular dopamine levels after stress and amphetamine in the nucleus accumbens of rats with neonatal ventral hippocampal damage. *Journal of Neural Transmission* 106(2), 183-196.
- Lipsman, N., Neimat, J., Lozano, A.M. (2007) Deep brain stimulation for treatment-refractory obsessive-compulsive disorder: The search for a valid target. *Neurosurgery* 61, 1-11.
- Liu, H., Dong, F., Meng, Z., Zhang, B., Tan, J., Wang, Y. (2010) Evaluation of Tourette's syndrome by (99m)Tc-TRODAT-1 SPECT/CT imaging. *Annals of Nuclear Medicine* 24(7), 515-521.
- Luoni, A., Rocha, F.F., Riva, M.A. (2014) Anatomical specificity in the modulation of activity-regulated genes after acute or chronic lurasidone treatment. *Progress in Neuropsychopharmacology and Biological Psychiatry* 50, 94-101.
- Lykouras, L., Alevizos, B., Michalopoulou, P., Rabavilas, A. (2003) Obsessive-compulsive symptoms induced by atypical antipsychotics. A review of the reported cases. *Progress in Neuropsychopharmacology & Biological Psychiatry* 27(3), 333-346.
- Maina, G., Rosso, G., Zanardini, R., Bogetto, F., Gennarelli, M., Bocchio-Chiavetto, L. (2010) Serum levels of brain-derived neurotrophic factor in drug-naïve obsessive-compulsive patients: a case-control study. *Journal of Affective Disorders* 122(1-2), 174-178.
- Malison, R.T., McDougle, C.J., van Dyck, C.H., Scahill, L., Baldwin, R.M., Seibyl, J.P., Price, L.H., Leckman, J.F., Innis, R.B. (1995) [¹²³I]beta-CIT SPECT imaging of striatal dopamine transporter binding in Tourette's disorder. *American Journal of Psychiatry* 152(9), 1359-1361.
- Mallet, L., Mesnage, V., Houeto, J.L., Pelissolo, A., Yelnik, J., Behar, C., Gargiulo, M., Welter, M.L., Bonnet, A.M., Pillon, B., Cornu, P., Dormont, D., Pidoux, B., Allilaire, J.F., Agid, Y. (2002) Compulsions, Parkinson's disease, and stimulation. *Lancet* 360(9342), 1302-1304.
- Marazziti, D., Hollander, E., Lensi, P., Ravagli, S., Cassano, G.B. (1992) Peripheral markers of serotonin and dopamine function in obsessive-compulsive disorder. *Psychiatry Research* 42(1), 41- 51.
- Markarian, Y., Larson, M.J., Aldea, M.A., Baldwin, S.A., Good, D., Berkeljon, A., Murphy, T.K., Storch, E.A., McKay, D. (2010) Multiple pathways to functional impairment in obsessive-compulsive disorder. *Clinical Psychology Review* 30(1), 78-88.

- McAbee, G.N., Wark, J.E., Manning, A. (1999) Tourette syndrome associated with unilateral cystic changes in the gyrus rectus. *Pediatric Neurology* 20, 322-324.
- McCullough, L.D., Salamone, J.D. (1992) Anxiogenic drugs beta-CCE and FG 7142 increase extracellular dopamine levels in nucleus accumbens. *Psychopharmacology* 109(3), 379-382.
- McDonald, A.J. (1992) Projection neurons of basolateral amygdala: a correlative Golgi and retrograde tract tracing study. *Brain Research Bulletin* 28, 179-185.
- McDougle, C.J., Goodman, W.K., Price, L.H. (1994) Dopamine antagonists in tic-related and psychotic spectrum obsessive compulsive disorder. *Journal of Clinical Psychiatry* 55, 24-31.
- McElroy, S.L., Phillips, K.A., Keck, P.E. Jr. (1994) Obsessive compulsive spectrum disorder. *Journal of Clinical Psychiatry* 55, 33-51, discussion 52-53.
- McGrath, M.J., Campbell, K.M., Burton, F.H. (1999) The role of cognitive and affective processing in a transgenic mouse model of cortical-limbic neuropotentiated compulsive behavior. *Behavioral Neuroscience* 113(6), 1249-1256.
- McGuire, P.K., Bench, C.J., Frith, C.D., Marks, I.M., Frackowiak, R.S., Dolan, R.J. (1994) Functional anatomy of obsessive-compulsive phenomena. *British Journal of Psychiatry* 164(4), 459-468.
- McQuade, R., Creton, D., Stanford, S.C. (1999) Effect of novel environmental stimuli on rat behaviour and central noradrenaline function measured by in vivo microdialysis. *Psychopharmacology* 145(4), 393-400.
- Meiergerd, S.M., Patterson, T.A., Schenk, J.O. (1993) D2 receptors may modulate the function of the striatal transporter for dopamine: kinetic evidence from studies in vitro and in vivo. *Journal of Neurochemistry* 61(2), 764-767.
- Meiergerd, S.M., Schenk, J.O. (1994) Kinetic evaluation of the commonality between the site(s) of action of cocaine and some other structurally similar and dissimilar inhibitors of the striatal transporter for dopamine. *Journal of Neurochemistry* 63(5), 1683-1692.
- Mink, J.W. (2006) Neurobiology of basal ganglia and Tourette syndrome: basal ganglia circuits and thalamocortical outputs. *Advances in Neurology* 99, 89-98.
- Mitchell, S.N., Thomas, P.J. (1988) Effect of restraint stress and anxiolytics on 5-HT turnover in rat brain. *Pharmacology* 37(2), 105-113.
- Moja, E.A., Stoff, D.M., Gillin, J.C., Wyatt, R.J. (1976) Dose-response effects of beta-phenylethylamine on stereotyped behavior in pargyline-pretreated rats. *Biological Psychiatry* 11(6), 731-742.
- Moretti, G., Pasquini, M., Mandarelli, G., Tarsitani, L., Biondi, M. (2008) What every psychiatrist should know about PANDAS: a review. *Clinical Practice & Epidemiology in Mental Health* 21(4): 13
- Morgan, J.I., Cohen, D.R., Hempstead, J.L., Curran, T. (1987) Mapping patterns of c-fos expression in the central nervous system after seizure. *Science* 237(4811), 192-197.
- Morgan, W.W., Rudeen, P.K., Pfeil, K.A. (1975) Effect of immobilization stress on serotonin content and turnover in regions of the rat brain. *Life Science* 17(1), 143-150.
- Müller-Vahl, K.R., Berding, G., Brücke, T., Kolbe, H., Meyer, G.J., Hundeshagen, H., Dengler, R., Knapp, W.H., Emrich, H.M. (2000) Dopamine transporter binding in Gilles de la Tourette syndrome. *Journal of Neurology* 247(7), 514-520.
- Mundt, A., Klein, J., Joel, D., Heinz, A., Djodari-Irani, A., Harnack, D., Kupsch, A., Orawa, H., Juckel, G., Morgenstern, R., Winter, C. (2009) High-frequency stimulation of the nucleus accumbens core and shell reduces QNPe-induced compulsive checking in rats. *European Journal of Neuroscience* 29(12), 2401-2412.

- Murray, R.C., Gilbert, Y.E., Logan, A.S., Hebbard, J.C., Horner, K.A. (2014) Striatal patch compartment lesions alter methamphetamine-induced behavior and immediate early gene expression in the striatum, substantia nigra and frontal cortex. *Brain Structure and Function* 219(4), 1213-1229.
- Muskhelishvili, L., Latendresse, J., Kodell, R.L., Henderson, E.B. (2003) Evaluation of Cell Proliferation in Rat Tissues with BrdU, PCNA, Ki-67(MIB-5) Immunohistochemistry and In Situ Hybridization for Histone mRNA. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry* 51(12), 1681-1688.
- Nagahara, A.H., Handa, R.J. (1997) Age-related changes in c-fos mRNA induction after open-field exposure in the rat brain. *Neurobiology of Aging* 18(1), 45-55.
- Nguyen, T.V., Kosofsky, B.E., Birnbaum, R., Cohen, B.M., Hyman, S.E. (1992) Differential expression of c-Fos and Zif268 in rat striatum after haloperidol, clozapine, and amphetamine. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 89, 4270-4272.
- Nichols, C.D., Sanders-Bush, E. (2002) A single dose of lysergic acid diethylamide influences gene expression patterns within the mammalian brain. *Neuropsychopharmacology* 26 (5), 634-642.
- Niedermeier, N., Hegerl, U., Zaudig, M. (1998) Zwangs-Spektrums-Erkrankungen. *Psychotherapie* 3 (2), 189-200.
- Nikolaus, S., Antke, C., Beu, M., Müller, H.-M. (2010) Cortical GABA, striatal dopamine and mid-brain serotonin as the key players in compulsive and anxiety disorders – results from in vivo imaging studies. *Reviews in Neurosciences* 21, 119-139.
- Nobrega, J.N., Richter, A., Jiwa, A., Raymond, R., Löscher, W. (1998) Regional alterations in neuronal activity in dystonic hamster brain determined by quantitative cytochrome oxidase histochemistry. *Neuroscience* 83 (4), 1215-1223
- Nuttin, B.J., Gabriëls, L.A., Cosyns, P.R., Meyerson, B.A., Andréewitch, S., Sunaert, S.G., Maes, A.F., Dupont, P.J., Gybels, J.M., Gielen, F., Demeulemeester, H.G. (2003) Long-term electrical capsular stimulation in patients with obsessive-compulsive disorder. *Neurosurgery* 52(6), 1263-74.
- Ohtani, N., Goto, T., Waeber, C., Bhide, P.G. (2003) Dopamine modulates cell cycle in the lateral ganglionic eminence. *Journal of Neuroscience* 23, 2840-2850.
- Onzawa, Y., Kimura, Y., Uzuhashi, K., Shirasuna, M., Hirose, T., Taogoshi, T., Kihira, K. (2012) Effects of 3-O-methyldopa, L-3,4-dihydroxyphenylalanine metabolite, on locomotor activity and dopamine turnover in rats. *Biological & Pharmaceutical Bulletin* 35(8), 1244-1248.
- Otero Losada, M.E. (1988) Changes in central GABAergic function following acute and repeated stress. *British Journal of Pharmacology* 93(3), 483-490.
- Otero Losada, M.E. (1989) Acute stress and GABAergic function in the rat brain. *British Journal of Pharmacology* 96(3), 507-512.
- Pato, M.T., Pigott, T.A., Hill, J.L., Grover, G.N., Bernstein, S., Murphy, D.L. (1991) Controlled comparison of buspirone and clomipramine in obsessive-compulsive disorder. *American Journal of Psychiatry* 148, 127-129.
- Paxinos, G., Watson, C. (1998) *The rat brain in stereotaxic coordinates*. San Diego: Academic Press.
- Perani, D., Colombo, C., Bressi, S., Bonfanti, A., Grassi, F., Scarone, S., Bellodi, L., Smeraldi, E., Fazio, F. (1995) [18F]FDG PET study in obsessive-compulsive disorder. A clinical/metabolic correlation study after treatment. *British Journal of Psychiatry* 166(2), 244-250.
- Perani, D., Garibotto, V., Gorini, A., Moresco, R.M., Henin, M., Panzacchi, A., Matarrese, M., Carpinelli, A., Bellodi, L., Fazio, F. (2008) In vivo PET study of 5HT(2A) serotonin and D(2) dopamine dysfunction in drug-naïve obsessive-compulsive disorder. *Neuroimage* 42(1), 306-314.

- Petersohn, D., Thiel, G. (1996) Role of zinc-finger proteins Sp1 and zif268/egr-1 in transcriptional regulation of the human synaptobrevin II gene. *European Journal of Biochemistry* 239(3), 827-834.
- Piepponen, T.P., Skujins, A. (2001) Rapid and sensitive step gradient assays of glutamate, glycine, taurine and gamma-aminobutyric acid by high-performance liquid chromatography-fluorescence detection with o-phthalaldehyde-mercaptoethanol derivatization with an emphasis on microdialysis samples. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications* 757(2), 277-283.
- Piontkewitz, Y., Arad, M., Weiner, I. (2012) Tracing the development of psychosis and its prevention: what can be learned from animal models. *Neuropharmacology* 62(3), 1273-1289
- Pittenger, C., Krystal, J.H., Coric, V. (2006) Glutamate-modulating drugs as novel pharmacotherapeutic agents in the treatment of obsessive-compulsive disorder. *NeuroRx* 3(1), 69-81. Review.
- Presti, M.F., Gibney, B.C., Lewis, M.H. (2004a) Effects of intrastriatal administration of selective dopaminergic ligands on spontaneous stereotypy in mice. *Physiology and Behavior* 80, 433-439.
- Presti, M.F., Lewis, M.H. (2005) Striatal opioid peptide content in an animal model of spontaneous stereotypic behavior. *Behavioural Brain Research* 157(2), 363-368.
- Presti, M.F., Mikes, H.M., Lewis, M.H. (2003) Selective blockade of spontaneous motor stereotypy via intrastriatal pharmacological manipulation. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 74, 833-839.
- Presti, M.F., Watson, C.J., Kennedy, R.T., Yang, M., Lewis, M.H. (2004b) Behavior-related alterations of striatal neurochemistry in a mouse model of stereotyped movement disorder. *Pharmacology, Biochemistry & Behavior* 77(3), 501-507.
- Puglisi-Allegra, S., Imperato, A., Angelucci, L., Cabib, S. (1991) Acute stress induces time-dependent responses in dopamine mesolimbic system. *Brain Research* 554(1-2), 217-222.
- Ragsdale, C.W. Jr, Graybiel, A.M. (1988) Fibers from the basolateral amygdala selectively innervate the striosomes in the caudate nucleus of the cat. *Journal of Comparative Neurology* 269, 506-522.
- Rakic, P., Lidow, M.S. (1995) Distribution and density of monoamine receptors in the primate visual cortex devoid of retinal input from early embryonic stages. *Journal of Neuroscience* 15, 2561-2574.
- Rauch, S.L., Jenike, M.A., Alpert, N.M., Baer, L., Breiter, H.C.R., Savage, C.R., Fischmann, A.J. (1994) Regional cerebral blood flow measured during symptom provocation in obsessive-compulsive disorder using oxygen 15-labeled carbon dioxide and positron emission tomography. *Archives of General Psychiatry* 51, 62-70.
- Rhodes, J.S., Gammie, S.C., Garland, T. Jr. (2005) Neurobiology of Mice Selected for High Voluntary Wheel-running Activity. *Integrative and Comparative Biology*, 45(3), 438-55.
- Richard, F., Biguet, N., Labatut, R., Rollet, D., Mallet, J. and Buda, M., Modulation of tyrosine hydroxylase gene expression in rat brain and adrenals by exposure to cold. *Journal of Neuroscience Research* 20, 32-37.
- Robertson, G.S., Herrera, D.G., Dragunow, M., Robertson, H.A. (1989a) L-DOPA activates c-fos in the striatum ipsilateral to a 6-hydroxydopamine lesion of the substantia nigra. *European Journal of Pharmacology* 159, 99-100.
- Robertson, H.A., Peterson, M.R., Murphy, K., Robertson, G.S. (1989b) D1-dopamine receptor agonists selectively activate c-fos independent of rotational behaviour. *Brain Research* 503, 346-349.
- Rosenzweig, M.R., Krech, D., Bennett, E.L., Diamond, M.C. (1962) Effects of environmental complexity and training on brain chemistry and anatomy: a replication and extension. *Journal of Comparative and Physiological Psychology* 55, 429-437.

- Rossi, S., De Capua, A., Tavanti, M., Galossi, S., Polizzotto, N.R., Mantovani, A., Falzarano, V., Bossini, L., Passero, S., Bartalini, S., Olivelli, M. (2009) Dysfunctions of cortical excitability in drug-naïve posttraumatic stress disorder patients. *Biological Psychiatry* 66(1), 54-61.
- Rudge, J.S., Morrissey, D., Lindsay, R.M., Pasnikowski, E.M. (1994) Regulation of ciliary neurotrophic factor in cultured rat hippocampal astrocytes. *European Journal of Neuroscience* 6(2), 218-229.
- Rueter, L.E., Jacobs, B.L. (1996) A microdialysis examination of serotonin release in the rat forebrain induced by behavioral/environmental manipulations. *Brain Research* 739, 57–69.
- Rygh, L.J.R., Suzuki, R., Rahman, W., Wong, Y., Vonsy, J.L., Sandhu, H., Webber, M., Hunt, S., Dickenson, A.H. (2006) Local and descending circuits regulate longterm potentiation and zif268 expression in spinal neurons. *The European Journal of Neuroscience* 24, 761–772.
- Sagar, S.M., Sharp, F.R., Curran, T. (1988) Expression of c-fos protein in brain: metabolic mapping at the cellular level. *Science* 240(4857), 1328-1331.
- Sakata, J.T., Crews, D., Gonzalez-Lima, F. (2005) Behavioral correlates of differences in neural metabolic capacity. *Brain Research Reviews* 48(1), 1-15.
- Salmi, P., Sproat, B.S., Ludwig, J., Hale, R., Avery, N., Kela, J., Wahlstedt, C. (2000) Dopamine D(2) receptor ribozyme inhibits quinpirole-induced stereotypy in rats. *European Journal of Pharmacology* 388, 1–2.
- Savage, C.R., Weilburg, J.B., Duffy, F.H., Baer, L., Shera, D.M., Jenike, M.A. (1994) Low level sensory processing in obsessive-compulsive disorder: An evoked potential study. *Biological Psychiatry* 35, 247-252.
- Saxena, S., Brody, A.L., Schwartz, J.M., Baxter, L.R. (1998) Neuroimaging and frontal-subcortical circuitry in obsessive-compulsive disorder. *British Journal of Psychiatry* 35, 26-37.
- Scatton, B., Garret, C., Julou, L. (1975) Acute and subacute effects of neuroleptics dopamine synthesis and release in the rat striatum. *Naunyn Schmiedebergs Archives of Pharmacology* 289(4), 419-434.
- Scheel-Kruger, J., Arnt, J., Magelund, G., Olanas, M., Przewlocka, B., Christensen, A.V. (1980) Behavioral functions of GABA in basal ganglia and limbic system. *Brain Research Bulletin* 5, 261–267.
- Schilman, E.A., Klavir, O., Winter, C., Sohr, R., Joel, D. (2010) The role of the striatum in compulsive behavior in intact and orbitofrontal-cortex-lesioned rats: possible involvement of the serotonergic system. *Neuropsychopharmacology* 35(4), 1026-1039.
- Scholzen, T., Gerdes, J. (2000) The Ki-67 protein: from the known and the unknown. *Journal of Cellular Physiology* 182(3), 311-322.
- Schwartz, J.M., Stoessel, P.W., Baxter, L.R., Martin, K.M., Phelps, M.E. (1996) Systematic changes in cerebral glucose metabolic rate after successful behaviour modification treatment in obsessive-compulsive disorder. *Archives of General Psychiatry* 53, 109-113.
- Segal, D. S., Knapp, S., Kuczenski, R. T., Mandell, A. R. (1973) The effects of environmental isolation on behavior and regional rat brain tyrosine hydroxylase and tryptophan hydroxylase activities. *Behavioural Biology* 8, 47-53.
- Segal, D., Knapp, S., Kuczenski, R. and Mandeli, A. (1973) The effects of environmental isolation on behavioral and regional rat brain tyrosine hydroxylase and tryptophan hydroxylase activities. *Behavioural Biology* 8, 47-53.
- Serra-Mestres, J., Ring, H.A., Costa, D.C., Gacinovic, S., Walker, Z., Lees, A.J., Robertson, M.M., Trimble, M.R. (2004) Dopamine transporter binding in Gilles de la Tourette syndrome: a [¹²³I]FP-CIT/SPECT study. *Acta Psychiatrica Scandinavia* 109(2), 140-146.

- Sesia, T., Bizup, B., Grace, A.A. (2013) Evaluation of animal models of obsessive-compulsive disorder: correlation with phasic dopamine neuron activity. *International Journal of Neuropsychopharmacology* 16(6), 1295-1307.
- Sharp, F.R., Sagar, S.M., Hicks, K., Lowenstein, D., Hisanga, K. (1991) Fos and Fos-related antigen induction by hypertonic saline and stress. *Journal of Neuroscience* 11, 2321-2331.
- Simon, D., Kaufmann, C., Müsch, K., Kischkel, E., Kathmann, N. (2010) Fronto-striato-limbic hyperactivation in obsessive-compulsive disorder during individually tailored symptom provocation. *Psychophysiology* 47(4), 728-738.
- Singer, H.S., Hahn, I.H., Krowiak, E., Nelson, E., Moran, T. (1990) Tourette's syndrome: a neurochemical analysis of postmortem cortical brain tissue. *Annals of Neurology* 27(4), 443-446.
- Singer, H.S., Hahn, I.H., Moran, T.H. (1991) Abnormal dopamine uptake sites in postmortem striatum from patients with Tourette's syndrome. *Annals of Neurology* 30(4), 558-562.
- Singer, H.S., Minzer, K. (2003) Neurobiology of tourette's syndrome: Concepts of neuroanatomic localization and neurochemical abnormalities. *Brain and Development*, 25(1), 70-84.
- Singer, H.S., Szymanski, S., Giuliano, J., Yokoi, F., Dogan, A.S., Brasic, J.R., Zhou, Y., Grace, A.A., Wong, D.F. (2002) Elevated intrasynaptic dopamine release in Tourette's syndrome measured by PET. *American Journal of Psychiatry* 159(8), 1329-1336.
- Singer, H.S., Tune, L.E., Butler, I.J., Zaczek, R., Coyle, J.T. (1982) Clinical symptomatology, CSF neurotransmitter metabolites, and serum haloperidol levels in Tourette syndrome. *Advances in Neurology* 35, 177-183.
- Singewald, N., Salchner, P., Sharp, T. (2003) Induction of c-Fos expression in specific areas of the fear circuitry in rat forebrain by anxiogenic drugs. *Biological Psychiatry* 53 (4), 275-283.
- Snowman, A.M., Snyder, S.H. (1990) Cetirizine: actions on neurotransmitter receptors. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology* 86 (6), 1025-1028.
- Soblosky, J.S., Thurmond, J.B. (1986) Biochemical and behavioral correlates of chronic stress: effects of tricyclic antidepressants. *Pharmacology, Biochemistry & Behaviour* 24(5), 1361-1368.
- Sotnikova, T.D., Beaulieu, J.M., Gainetdinov, R.R., Caron, M.G. (2006) Molecular biology, pharmacology and functional role of the plasma membrane dopamine transporter. *CNS & Neurological Disorders - Drug Targets*, 5(1), 45-56.
- Sperk, G. (1982) Simultaneous determination of serotonin, 5-hydroxyindoleacetic acid, 3,4-dihydroxyphenylacetic acid and homovanillic acid by high performance liquid chromatography with electrochemical detection. *Journal of Neurochemistry* 38(3), 840-843.
- Stamenkovic, M., Schindler, S.D., Asenbaum, S., Neumeister, A., Willeit, M., Willinger, U., de Zwaan, M., Riederer, F., Aschauer, H.N., Kasper, S. (2001) No change in striatal dopamine reuptake site density in psychotropic drug naive and in currently treated Tourette's disorder patients: a [(123)I]-beta-CIT SPECT-study. *European Neuropsychopharmacology* 11(1), 69-74.
- Starck, G., Ljungberg, M., Nilsson, M., Jönsson, L., Lundberg, S., Ivarsson, T., Ribbelin, S., Ekholm, S., Carlsson, A., Forssell-Aronsson, E., Carlsson, M.L. (2008) A 1H magnetic resonance spectroscopy study in adults with obsessive compulsive disorder: relationship between metabolite concentrations and symptom severity. *Journal of Neural Transmission* 115(7), 1051-1062.
- Stein, D.J. (2000) Neurobiology of the obsessive-compulsive spectrum disorders. *Biological Psychiatry* 47, 296-304.
- Stein, D.J., Roberts, M., Hollander, E., Rowland, C., Serebro, P. (1996) Quality of life and pharmaco-economic aspects of obsessive-compulsive disorder. A south african survey. *South African Medical Journal* 86(12), 1579, 1582-1585.
- Steiner, B., Kronenberg, G., Jessberger, S., Brandt, M.D., Reuter, K., Kempermann, G. (2004) Differential regulation of gliogenesis in the context of adult hippocampal neurogenesis in mice. *Glia* 46(1), 41-52.

- Steiner, B., Winter, C., Hosman, K., Siebert, E., Kempermann, G., Petrus, D.S., Kupsch, A. (2006) Enriched environment induces cellular plasticity in the adult substantia nigra and improves motor behavior function in the 6-OHDA rat model of Parkinson's disease. *Experimental Neurology* 199(2), 291-300.
- Sturm, V., Lenartz, D., Koulousakis, A., Treuer, H., Herholz, K., Klein, J.C., Klosterkötter, J. (2003) The nucleus accumbens: a target for deep brain stimulation in obsessive-compulsive- and anxiety-disorders. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 26(4), 293-299.
- Suliman, S., Hemmings, S.M.J., Seedat, S. (2013) Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) protein levels in anxiety disorders: systematic review and meta-regression analysis. *Frontiers in Integrative Neuroscience*, doi: 10.3389/fnint.2013.00055.
- Sullivan, R.M., Talangbayan, H., Einat, H., Szechtman, H. (1998) Effects of quinpirole on central dopamine systems in sensitized and non-sensitized rats. *Neuroscience* 83(3), 781-789.
- Suzuki, K., Okada, K., Wakuda, T., Shinmura, C., Kameno, Y., Iwata, K., Takahashi, T., Suda, S., Matsuzaki, H., Iwata, Y., Hashimoto, K., Mori, N. (2010) Destruction of DAergic neurons in the midbrain by 6-hydroxydopamine decreases hippocampal cell proliferation in rats: Reversal by fluoxetine. *PLoS One* 5, e9260.
- Swanson, L.W. (1982) The projections of the ventral tegmental area and adjacent regions: a combined fluorescent retrograde tracer and immunofluorescence study in the rat. *Brain Research Bulletin* 9(1-6), 321-353.
- Swedo, S.E., Leonard, H.L., Kruesi, M.J.P., Rettew, D.C., Listwak, S.J., Berrettini, W., Stipic, M., Hamburger, S., Gold, P.W., Potter, W.Z., Rapoport, J.L. (1992b) Cerebrospinal fluid neurochemistry in children and adolescents with obsessive-compulsive disorder. *Archives of General Psychiatry* 49, 29-36.
- Swedo, S.E., Pietrini, P., Leonard, H.L., Shapiro, M.B., Rettew, D.C., Goldberger, E.L., Rapoport, S.I., Rapoport, J.L., Grady, C.L. (1992a) Cerebral glucose metabolism in childhood-onset obsessive compulsive disorder: Revisualization during pharmacotherapy. *Archives of General Psychiatry* 49, 690-694.
- Swedo, S.E., Shapiro, M.B., Grady, C.L., Cheslow, D.L., Leonard, H.L., Kumar, A., Friedland, R., Rapoport, S.I., Rapoport, J.L. (1989) Cerebral glucose metabolism in childhood-onset obsessive-compulsive disorder. *Archives of General Psychiatry* 46(6), 518-523.
- Szechtman, H., Culver, K., Eilam, D. (1999) Role of dopamine systems in obsessive-compulsive disorder (OCD): Implications from a novel psychostimulant-induced animal model. *Polish Journal of Pharmacology* 51(1), 55-61.
- Szechtman, H., Eckert, M.J., Tse, W.S., Boersma, J.T., Bonura, C.A., McClelland, J.Z., Culver, K.E., Eilam, D. (2001) Compulsive checking behavior of QNPe-sensitized rats as an animal model of obsessive-compulsive disorder(OCD): Form and control. *BMC Neuroscience* 2, 4.
- Szechtman, H., Sulis, W., Eilam, D. (1998) QNPe induces compulsive checking behavior in rats: A potential animal model of obsessive-compulsive disorder (OCD). *Behavioral Neuroscience* 112(6), 1475-1485.
- Szechtman, H., Talangbayan, H., Canaran, G., Dai, H., Eilam, D. (1994) Dynamics of behavioral sensitization induced by the dopamine agonist QNPe and a proposed central energy control mechanism. *Psychopharmacology* 115(1-2), 95-104.
- Szumliński, K.K., Szechtman, H. (2002) D2 receptor blockade in the dorsal raphe increases quinpirole-induced locomotor excitation. *Neuroreport* 13(5), 563-566.
- Tang, K.S., Low, M-J., Grandy, D.K., Lovinger, D.M. (2001) Dopamine-dependent synaptic plasticity in striatum during in vivo development. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 98, 1255-1260.
- Taylor, S. (2013) Molecular genetics of obsessive-compulsive disorder: a comprehensive meta-analysis of genetic association studies. *Molecular Psychiatry* 7, 799-805.

- Tecuapetla, F., Patel, J.C., Xenias, H., English, D., Tadros, I., Shah, F., Berlin, J., Deisseroth, K., Rice, M.E., Tepper, J.M., Koos, T. (2010) Glutamatergic signaling by mesolimbic dopamine neurons in the nucleus accumbens. *Journal of Neuroscience* 30(20), 7105-7110.
- Thiel, C.M., Huston, J.P., Schwarting, R.K.W. (1998) Hippocampal acetylcholine and habituation learning. *Neuroscience* 85, 1253–1263.
- Thierry, A.M., Tassin, J.P., Blanc, G., Glowinski, J. (1976) Selective activation of mesocortical DA system by stress. *Nature* 263(5574), 242-244.
- Thierry, A.M., Tassin, J.P., Blanc, G., Glowinski, J. (1976) Selective activation of mesocortical DA system by stress. *Nature* 263(5574), 242-244.
- Thoenen, H., Sendtner, M. (2002) Neurotrophins: from enthusiastic expectations through sobering experiences to rational therapeutic approaches. *Nature Neuroscience* 5, 1046-1050.
- Thomsen, P.H. (2004) Risperidone augmentation in the treatment of severe adolescent OCD in SSRI-refractory cases: a case-series. *Annals of Clinical Psychiatry* 16(4), 201-207.
- Thoren, P., Asberg, M., Bertilsson, L., Mellström, B., Sjöqvist, F., Träskman, L. (1980) Clomipramine treatment of obsessive-compulsive disorder: II. Biochemical aspects. *Archives of General Psychiatry* 37, 1289-1294.
- Tibbo, P., Warneke, L. (1999) Obsessive-compulsive disorder in schizophrenia: epidemiologic and biologic overlap. *Journal of Psychiatry and Neuroscience* 24(1), 15-24.
- Towey, J., Bruder, G., Hollander, E., Friedman, D., Erhan, A., Libowitz, M., Sutton, S. (1990) Endogenous event-related potentials in obsessive-compulsive disorder. *Biological Psychiatry* 28, 92-98.
- Tsuda, A., Tanaka, M. (1985) Differential changes in noradrenaline turnover in specific regions of rat brain produced by controllable and uncontrollable shocks. *Behavioural Neuroscience* 99(5), 802-817.
- Tsukada, H., Kakiuchi, T., Shizuno, H., Nishiyama, S. (1998) Interactions of cholinergic and glutamatergic neuronal systems in the functional activation of cerebral blood flow response: a PET study in unanesthetized monkeys. *Brain Research* 796, 82–90.
- Tucci, M.C., Dvorkin-Gheva, A., Graham, D., Amodeo, S., Cheon, P., Kirk, A., Peel, J., Taji, L., Szechtman, H. (2013) Effects of the serotonergic agonist mCPP on male rats in the quinpirole sensitization model of obsessive-compulsive disorder (OCD). *Psychopharmacology* 227(2) 277-285.
- Tucci, M.C., Dvorkin-Gheva, A., Johnson, E., Wong, M., Szechtman, H. (2014) 5-HT_{2A/C} receptors do not mediate the attenuation of compulsive checking by mCPP in the quinpirole sensitization rat model of obsessive-compulsive disorder (OCD). *Behavioural Brain Research* 279C, 211-217.
- Turjanski, N., Sawle, G.V., Playford, E.D., Weeks, R., Lammerstma, A.A., Lees, A.J., Brooks, D.J. (1994) PET studies of the presynaptic and postsynaptic DAergic system in Tourette's syndrome. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry* 57(6), 688-692.
- Vaiva, G., Thomas, P., Ducrocq, F., Fontaine, M., Boss, V., Devos, P., Rasclé, C., Cottencin, O., Brunet, A., Laffargue, P., Goudemand, M. (2004) Low posttrauma GABA plasma levels as a predictive factor in the development of acute posttraumatic stress disorder. *Biological Psychiatry* 55(3), 250-254.
- Vaiva, G., Boss, V., Ducrocq, F., Fontaine, M., Devos, P., Brunet, A., Laffargue, P., Goudemand, M., Thomas, P. (2006) Relationship between posttrauma GABA plasma levels and PTSD at 1-year follow-up. *American Journal of Psychiatry* 163(8), 1446-1448.
- Vallar, L., Meldolesi, J. (1989) Mechanisms of signal transduction at the dopamine D₂ receptor. *Trends in Pharmacology Sciences* 10(2), 74-77.

- van der Wee, N.J., Stevens, H., Hardeman, J.A., Mandl, R.C., Denys, D.A., van Meegen, H.J., Kahn, R.S., Westenberg, H.M. (2004) Enhanced dopamine transporter density in psychotropic-naïve patients with obsessive-compulsive disorder shown by [¹²³I]β-CIT SPECT. *American Journal of Psychiatry* 161(12), 2201-2206.
- van Elzaker, M., Fevurly, R.D., Breindel, T., Spencer, R.L. (2008) Environmental novelty is associated with a selective increase in Fos expression in the output elements of the hippocampal formation and the perirhinal cortex. *Learning Memory* 15(12), 899-908.
- van Kampen, J.M., Hagg, T., Robertson, H.A. (2004) Induction of neurogenesis in the adult rat subventricular zone and neostriatum following dopamine D3 receptor stimulation. *European Journal of Neuroscience* 19, 2377–2387.
- van Praag, H., Kempermann, G., Gage, F.H. (1999) Running increases cell proliferation and neurogenesis in the adult mouse dentate gyrus. *Nature Neuroscience* 2(3), 266-70.
- Veena, J., Shankaranarayana, R.B.S., Srikumar, B.N. (2011) Regulation of adult neurogenesis in the hippocampus by stress, acetylcholine and dopamine. *Journal of Nature Science, Biology and Medicine* 2(1), 26–37.
- Venzala, E., García-García, A.L., Elizalde, N., Tordera, R.M. (2013) Social vs. environmental stress models of depression from a behavioural and neurochemical approach. *European Neuropsychopharmacology* 23(7), 697-708.
- Wakade, C.G., Mahadik, S.P., Waller, J.L., Chiu, F.C. (2002) Atypical neuroleptics stimulate neurogenesis in adult rat brain. *Journal of Neuroscience Research* 69, 72–79.
- Walitza, S., Renner, T.J., Wewetzer, C., Warnke, A. (2008) Genetic findings in obsessive-compulsive disorder in childhood and adolescence and in adulthood. *Zeitschrift für Kinder Jugendpsychiatrie und Psychotherapie* 36(1), 45-52.
- Walitza, S., Wendland, J.R., Gruenblatt, E., Warnke, A., Sontag, T.A., Tucha, O., Lange, K.W. (2010) Genetics of early-onset obsessive-compulsive disorder. *European Child and Adolescent Psychiatry* 19(3), 227-235.
- Walters, J., Roth, R. H. (1975) Pre- and post-synaptic actions of antipsychotic drugs. In: *Antipsychotic drugs, pharmacodynamics and pharmacokinetics*. Stockholm Symposium, ed. Sedvall
- Wang, Y., Mathews, C.A., Li, Y., Lin, Z., Xiao, Z. (2011) Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) plasma levels in drug-naïve OCD patients are lower than those in healthy people, but are not lower than those in drug-treated OCD patients. *Journal of Affective Disorders* 133(1-2), 305-310.
- Weiss, J.M., Goodman, P.A., Losito, B.G., Corrigan, S., Charry, J.M., Bailey, W.H. (1981) Behavioral depression produced by an uncontrollable stressor: Relationship to norepinephrine, dopamine, and serotonin levels in various regions of rat brain. *Brain Research Reviews* 3, 167-205.
- Werme, M., Messer, C., Olson, L., Gilden, L., Thoren, P., Nestler, E.J., Brené, S. (2002) Delta FosB regulates wheel running. *Journal of Neuroscience* 22, 8133–8138.
- White, R.P., Boyajy, L.D. (1960) Neuropharmacological comparison of atropine, scopolamine, banactyzine, diphenhydramine and hydroxyzine. *Archives Internationales De Pharmacodynamie et De Thérapie* 127, 260–273.
- Wilhelm, S., Buhlmann, U., Tolin, D.F., Meunier, S.A., Pearlson, G.D., Reese, H.E., Cannistraro, P., Jenike, M.A., Rauch, S.L. (2008) Augmentation of behavior therapy with D-cycloserine for obsessive-compulsive disorder. *American Journal of Psychiatry* 165(3), 335-341.
- Williamson, K., Halliday, I., Hamilton, P., Ruddell, J., Varma, M., Maxwell, P., Crockard, A., Rowland, B. (1993) In vitro BrdUrd incorporation of colorectal tumor tissue. *Cellular Proliferation* 26, 115-124.
- Winner, B., Geyer, M., Couillard-Despres, S., Aigner, R., Bogdahn, U., Aigner, L., Kuhn, G., Winkler, J. (2006) Striatal deafferentation increases DAergic neurogenesis in the adult olfactory bulb. *Experts in Neurology* 197, 113–121.

- Winter, C., Flash, S., Klavir, O., Klein, J., Sohr, R., Joel, D. (2008) The role of the subthalamic nucleus in 'compulsive' behavior in rats. *European Journal of Neuroscience* 27(8), 1902-1911.
- Winter, C., Heinz, A. (2008) Neurotransmitter Disorders: Tourette Syndrome. In Larry R., Squire (ed) *New Encyclopedia of Neuroscience*. Elsevier Limited
- Winter, C., Mundt, A., Jalali, R., Joel, D., Harnack, D., Morgenstern, R., Juckel, G., Kupsch, A. (2008) High frequency stimulation and temporary inactivation of the subthalamic nucleus reduce quinpirole-induced compulsive checking behavior in rats. *Experimental Neurology* 210(1), 217-228.
- Wisden, W., Errington, M.L, Williams, S., Dunnett, S.B., Waters, C., Hitchcock, D., Evan, G., Bliss, T.V.P., Hunt, S.P. (1990) Differential expression of immediate early genes in the hippocampus and spinal cord. *Neuron* 4, 603-614.
- Wolf, S.S., Jones, D.W., Knable, M.B., Gorey, J.G., Lee, K.S., Hyde, T.M., Coppola, R., Weinberger, D.R. (1996) Tourette syndrome: Prediction of phenotypic variation in monozygotic twins by caudate nucleus D2 receptor binding. *Science* 273(5279), 1225-1257.
- Wong, D.F., Brasić, J.R., Singer, H.S., Schretlen, D.J., Kuwabara, H., Zhou, Y., Nandi, A., Maris, M.A., Alexander, M., Ye, W., Rousset, O., Kumar, A., Szabo, Z., Gjedde, A., Grace, A.A.. (2008) Mechanisms of DAergic and serotonergic neurotransmission in Tourette syndrome: clues from an in vivo neurochemistry study with PET. *Neuropsychopharmacology* 33(6), 1239-1251.
- Wong, D.F., Singer, H.S., Brandt, J., Shaya, E., Chen, C., Brown, J., Kimball, A.W., Gjedde, A., Dannals, R.F., Ravert, H.T., Wilson, P.D., Wagner, H.N. Jr. (1997) D2-like dopamine receptor density in Tourette syndrome measured by PET. *Journal of Nuclear Medicine* 38(8), 1243-1247.
- Wong-Riley, M.T. (1989) Cytochrome oxidase: an endogenous metabolic marker for neuronal activity. *Trends in Neuroscience* 12(3), 94-101.
- Wood, M.D., Wren, P.B. (2008) Serotonin-Dopamine interactions: Implications for the design of novel therapeutic agents for psychiatric disorders. *Progress in Brain Research* 172, 213-230.
- Yamada, Y., Hada, Y., Imamura, K., Mataga, N., Watanabe, Y., Yamamoto, M. (1999) Differential expression of immediate-early genes, c-fos and zif268, in the visual cortex of young rats: effects of a noradrenergic neurotoxin on their expression. *Neuroscience* 92, 473-484.
- Yang, P., Arnold, S.A., Habas, A., Hetman, M., Hagg, T. (2008) Ciliary neurotrophic factor mediates dopamine D2 receptor-induced CNS neurogenesis in adult mice. *Journal of Neuroscience* 28(9), 2231-2241.
- Yeh, C.B., Lee, C.H., Chou, Y.H., Chang, C.J., Ma, K.H., Huang, W.S. (2006) Evaluating dopamine transporter activity with ^{99m}Tc-TRODAT-1 SPECT in drug-naive Tourette's adults. *Nuclear Medicine Community* 27(10), 779-84.
- Yeh, C.B., Lee, C.S., Ma, K.H., Lee, M.S., Chang, C.J., Huang, W.S. (2007) Phasic dysfunction of dopamine transmission in Tourette's syndrome evaluated with ^{99m}Tc TRODAT-1 imaging. *Psychiatry Research* 156(1), 75-82.
- Young, S.T., Porrino, L.J., Iadarola, M.J. (1991) Cocaine induces striatal c-fos-immunoreactive proteins via dopaminergic D1 receptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 88(4), 1291-1295.
- Yuen, E.Y., Liu, W., Karatsoreos, I.N., Feng, J., McEwen, B.S., Yan, Z. (2009) Acute stress enhances glutamatergic transmission in prefrontal cortex and facilitates working memory. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 106(33):14075-14079.
- Zahn, T.P., Kruesi, M.J., Swedo, S.E., Leonard, H.L., Rapoport, J.L. (1996) Autonomic activity in relation to cerebrospinal fluid neurochemistry in obsessive and disruptive children and adolescents. *Psychophysiology* 33(6), 731-739.
- Zangenehpour, S., Chaudhuri, A. (2002) Differential induction and decay curves of cfos and zif 268 revealed through dual activity maps. *Molecular Brain Research* 109, 221-225.

Zhu, J., Zhang, X., Xu, Y., Spencer, T.J., Biederman, J., Bhide, P.G. (2012) Prenatal nicotine exposure mouse model showing hyperactivity, reduced cingulate cortex volume, reduced dopamine turnover, and responsiveness to oral methylphenidate treatment. *Journal of Neuroscience* 32(27), 9410-9418.

Zigmond, R. (1988) A comparison of the long-term and short-term regulation of tyrosine hydroxylase activity. *Journal of Physiology* 83, 267-271.

Zigmond, R. D. (1979) Tyrosine hydroxylase activity in noradrenergic neurons of the locus coeruleus after reserpine administration: sequential increase in cell bodies and nerve terminals, *Journal of Neurochemistry* 32, 23-29.

Zohar, J., Mueller, E.A., Insel, T.R., Zohar-Kadouch, R.C., Murphy, D.L. (1987) Serotonergic responsivity in obsessive-compulsive disorder: Comparison of patients and healthy controls. *Archives of General Psychiatry* 44, 946-951.

Zohar, J., Zohar-Kadouch, R.C. (1991) Is there a specific role for serotonin in obsessive-compulsive disorder. In: Brown, S.L., van Praag, H.M. (eds.) *The role of serotonin in psychiatric disorders*. New York: Bruner/Mazel, pp. 161-182.

Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Dissertation selbständig angefertigt habe. Es wurden nur die in der Arbeit ausdrücklich benannten Quellen und Hilfsmittel benutzt. Wörtlich oder sinngemäß übernommenes Gedankengut habe ich als solches kenntlich gemacht.

Ort, Datum

Unterschrift