

**Psychosozialer Stress und soziale Unterstützung:
Konsequenzen sozialer Isolation auf Verhalten
und neuroendokrine Reaktionen
beim juvenilen Hausschwein**

Dissertation
zur Erlangung des akademischen Grades
doctor rerum naturalium (Dr. rer. nat.)
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Rostock

vorgelegt von

Dipl.-Biol. Theresa Hameister

geb. am 27.01.1982 in Karl-Marx-Stadt

Dummerstorf, 28.02.2012

Gutachter:

Prof. Dr. rer. nat. habil. Birger Puppe
Universität Rostock
Agrar- und Umweltwissenschaftliche Fakultät
Professur für Verhaltenskunde

Leibniz-Institut für Nutztierbiologie, Dummerstorf
Forschungsbereich Verhaltensphysiologie

Prof. Dr. rer. nat. habil. Guido Dehnhardt
Universität Rostock
Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät
Institut für Biowissenschaften
Lehrstuhl für Sensorische und Kognitive Ökologie

Termin der Abgabe: 28.02.2012

Termin der Verteidigung: 15.10.2012

INHALTSVERZEICHNIS

1	Einleitung	- 1 -
1.1	Das Stresssystem	- 3 -
1.1.1.	Die Regulation der HPA-Achse	- 4 -
1.1.2.	Wirkungsmechanismen von Glucocorticoiden	- 6 -
1.2	Auswirkungen des Absetzstresses	- 8 -
1.3	Soziale Unterstützung	- 10 -
1.4	Ziel der Arbeit	- 13 -
2	Material und Methoden	- 14 -
2.1	Versuchstiere und Haltungsbedingungen	- 14 -
2.2	Experimenteller Ablauf	- 14 -
2.2.1	Versuchsaufbau	- 14 -
2.2.2	Verhalten während der Isolation	- 17 -
2.2.3	„open-field“/„novel-object“-Test	- 18 -
2.3	Laboranalytische Methoden	- 19 -
2.3.1	Hormonanalysen	- 19 -
2.3.2	Genexpressionsanalysen	- 20 -
2.4	Statistische Verfahren	- 24 -
3	Ergebnisse	- 26 -
3.1	Verhalten während der Isolation	- 26 -
3.1.1	Lokomotionsverhalten	- 26 -
3.1.2	Fluchtverhalten	- 28 -
3.1.3	Rückzugsverhalten	- 29 -
3.1.4	Sozialverhalten	- 32 -
3.2	Verhalten im „open-field“/„novel-object“-Test	- 34 -
3.2.1	Verhalten vor der Behandlung	- 34 -
3.2.2	Verhaltensänderung nach der Behandlung	- 35 -
3.3	Hormonelle Untersuchungen	- 43 -
3.3.1	Stresshormone vor der Behandlung	- 43 -
3.3.2	Stresshormonänderung nach der Behandlung	- 43 -

3.4 Genexpressionsstudien in stressrelevanten Hirnregionen	- 46 -
3.4.1 Präfrontaler Cortex	- 46 -
3.4.2 Amygdala	- 51 -
3.4.3 Hypothalamus	- 56 -
3.4.4 Hypophyse	- 61 -
3.5 Korrelationen	- 66 -
3.5.1 Verhalten während der Isolation und Cortisol	- 66 -
3.5.2 Verhalten im „open-field“/„novel-object-Test und Cortisol	- 66 -
3.5.3 Hormonkonzentration und RNA Expression	- 67 -
4 Diskussion	- 68 -
4.1 Effekte der sozialen Isolation	- 68 -
4.2 Effekte der sozialen Unterstützung	- 73 -
4.3 Einfluss des Lebensalters	- 80 -
4.4 Schlussfolgerungen	- 83 -
5 Zusammenfassung	- 85 -
6 Summary	- 87 -
7 Literaturverzeichnis	- 89 -
Anhang	- 102 -
Puffer zur Analyse	- 103 -
Ergebnisse	- 104 -
Abbildungsverzeichnis	- 110 -
Tabellenverzeichnis	- 112 -
Danksagung	- 114 -
Selbständigkeitserklärung	- 115 -

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

°C	Grad Celsius
³ H	Tritium
¹²⁵ I	Radioisotop Iod-125
Δ	Differenz
μg	Mikrogramm
μl	Mikroliter
μM	Mikromolar
Abb.	Abbildung
ACTH	adrenocorticotropes Hormon
bp	Basenpaare
bzw.	beziehungsweise
CBG	Corticosteroid-bindendes Globulin
cDNA	komplementäre DNA
cm	Zentimeter
CRH	Corticotropin-freisetzendes Hormon
d.h.	das heißt
DNA	Desoxyribonukleinsäure
ELISA	enzymgebundener Immunabsorptionstest
et al.	und andere
FCI	Freier Cortisolindex
GR	Glucocorticoidrezeptor
h	Stunden
HPA	Hypothalamus-Hypophyse-Nebenniere
HSD	Hydroxysteroiddehydrogenase
Hz	Hertz
IB	Isolation mit bekanntem Partner
IL	Interleukin
IU	Isolation mit unbekanntem Partner
IS	Isolation allein
K	Kontrolltier
kHZ	Kilohertz
l	Liter
LT	Lebenstag
m	Meter
m ²	Quadratmeter
mg	Milligramm
min	Minuten
ml	Milliliter
MR	Mineralocorticoidrezeptor
mRNA	Boten-RNA
n	Anzahl
ng	Nanogramm
nm	Nanometer
nmol	Nanomol
PCR	Polymerasekettenreaktion

PFC	Präfrontaler Cortex
pg	Pikogramm
pmol	Pikomol
POMC	Proopiomelanocortin
PVN	Paraventriculärer Nucleus
qPCR	quantitative Echtzeit-PCR
RIA	Radioimmunoassay
RNA	Ribonukleinsäure
rpm	Umdrehungen pro Minute
RT	Reverse Transkription
s	Sekunden
SAM	Sympathikus-Adrenomedullär
TBE	Tris(hydroxymethyl)aminomethan-Borsäure- Ethylendiamintetraessigsäure
TNF	Tumornekrosefaktor
V	Volt
vgl.	vergleiche
vs.	versus
z.B.	zum Beispiel

1 EINLEITUNG

Seit einigen Jahren findet ein gesellschaftliches Umdenken im Bereich der Nutztierhaltung statt. Beim Verbraucher stehen dabei artgerechte Haltung, Gesundheit und Wohlbefinden der Tiere im Vordergrund (Napolitano et al., 2010). Generell wird Tieren ein immer größeres Maß an Leidensfähigkeit zugesprochen (Robinson, 1997; Mogil, 2009) und deshalb liegt es in der „...*Verantwortung des Menschen für das Tier als Mitgeschöpf dessen Leben und Wohlbefinden zu schützen*“ (Tierschutzgesetz § 1; BGBl. I S. 1206, 1313). Diese verbraucherassoziierte Wende steht allerdings in starkem Kontrast zu der kommerziellen, intensiv betriebenen Massentierhaltung, welche durch hohe Besatzdichten und geringe Flächennutzung geprägt wird. Diese wenig artgerechte Haltung mit stark technisierter Umwelt kann bei den Tieren zu negativen Belastungssituationen führen. Allgemein werden Ereignisse, die „*das dynamische Gleichgewicht zwischen Organismus und Umwelt stören und so interne Belastungen auslösen*“ als Stressoren bezeichnet (Gattermann, 2006). Die in der Nutztierhaltung auftretenden Stressoren sind vielfältiger Art und zumeist abhängig vom Management und der Haltungsumwelt. Inadäquates Raumklima, Bewegungsrestriktionen und fehlende soziale Interaktionen stellen nur einige potentiell Stress auslösende Situationen dar (Morgan und Tromborg, 2007). Gerade bei Nutztierarten in Gruppenhaltung muss auch die soziale Komponente berücksichtigt werden. Die Auswirkungen von psychosozialen Belastungen wurden in früheren Studien jedoch selten analysiert.

Ein wichtiges Nutztier mit ausgeprägtem Sozialverhalten ist das Hausschwein (*Sus scrofa domestica* L.). In Deutschland wurden laut statistischem Bundesamt im Jahr 2011 rund 26,7 Millionen Schweine gehalten (Stand: Mai 2011). In einer natürlichen Umwelt besitzen die Tiere innerhalb der Gruppe ein reges Sozialleben mit stabiler Rangordnung. Das individuelle Verhalten kann dabei auf die Aktionen anderer Gruppenmitglieder abgestimmt werden (Beuerle, 1975; Meynhardt, 1978). Die Sau-Ferkel-Beziehung ist durch eine hohe maternale Fürsorge gekennzeichnet, wobei die interindividuelle Bindung bis zu 18 Monaten anhalten kann (Meynhardt, 1978; Stolba und Wood-Gush, 1989). Jedoch besteht ein evolutionär ausbalancierter Interessenskonflikt zwischen dem elterlichen Pflegeaufwand und den Pflegeansprüchen der Nachkommen, welcher als Absetzkonflikt bezeichnet wird (Puppe, 2002). Während der Absetzphase, deren Beginn unter anderem von den gegebenen Umweltbedingungen abhängt, verändert sich die maternale Fürsorge. So reduziert sich die Säugebereitschaft der Sau gegenüber ihren Nachkommen kontinuierlich (Puppe und

Tuchscherer, 2000). Im Gegensatz dazu versuchen die Ferkel ein Höchstmaß an elterlichem Pflegeaufwand zu erlangen (Fraser et al., 1995). In diese biologische Beziehung zwischen Sau und Ferkel greift der Mensch in der intensiven Schweinehaltung ein. Aus vorrangig wirtschaftlichen Gründen werden die Ferkel abrupt und möglichst früh abgesetzt, meist neu gemischt sowie mit Umgebungs- und Nahrungsumstellungen konfrontiert (Newberry und Swanson, 2008; Puppe et al., 2008; Weary et al., 2008). Konsequenzen des fremdbestimmten Absetzens und eines stetig verminderten Absetzalters sind beeinträchtigte ethologische und physiologische Adaptationsleistungen (Hameister et al., 2010). Diese Anpassungsstörungen indizieren ein verschlechtertes Wohlbefinden der Tiere (Broom, 1996; Puppe, 2003). Letztendlich führen diese Konsequenzen auch zu produktionsorientierten Problemen wie verringerten Wachstums- und erhöhten Mortalitätsraten (Main et al., 2004).

Der Prozess des Absetzens stellt einen multiplen Stressor für die Ferkel dar. Um den durch Nahrungs- und Umgebungsumstellung ausgelösten Stress zu vermindern, wurden zahlreiche adäquate Lösungsstrategien entwickelt. Die Fütterung von Nahrungsergänzungsmitteln (Lallès et al., 2009; Campbell et al., 2010) sowie eine angereicherte Haltungsumwelt (Hötzel et al., 2004; Dudink et al., 2006; Oostindjer et al., 2010) resultierten in einer Verbesserung von Wohlbefinden, Gesundheit und Wachstumsleistung der Tiere. Zum Problem des psychosozialen Stresses während des Absetzens sind kaum wissenschaftliche Untersuchungen vorhanden. Jedoch ist bekannt, dass eine mehrstündige Trennung von Muttersau und Wurfgeschwistern bei Versuchsferkeln unterschiedlicher Alterstufen zuverlässig eine Stressantwort auslöst (Kanitz et al., 2009; Tuchscherer et al., 2009). Prinzipiell scheint die maternale Deprivation und soziale Isolation als Modell für den psychosozialen Stress beim Absetzen geeignet. Die vorliegende Arbeit griff die Grundidee des sozialen Isolationsmodells auf und untersuchte den Einfluss des psychosozialen Stresses auf Verhalten und neuroendokrine Regulation von Ferkeln unterschiedlichen Alters. Zudem wurde das soziale Isolationsmodell um den Aspekt der sozialen Unterstützung durch gleichaltrige Artgenossen erweitert. Dies ermöglichte die Analyse potentiell kompensatorischer Effekte der Unterstützungsleistung auf das Stresssystem der Tiere.

1.1 DAS STRESSSYSTEM

Gattermann (2006) definiert Stress als ein „*durch exogene und endogene Faktoren ausgelöster Belastungszustand, der sich in einer Vielzahl von miteinander gekoppelten spezifischen und unspezifischen physiologischen Anpassungsreaktionen äußert, die von Verhaltensänderungen begleitet werden*“. Unabhängig von der Art des Stresses induzieren physikalische oder psychische Stressoren ein homeostatisches Ungleichgewicht im Organismus. Dies hat eine Aktivierung der Sympathikus-Adrenomedullären-Achse (SAM) und der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse (HPA) zur Folge (Sapolsky, 2004). Beide Achsen sind durch verschiedene interne Komponenten eng miteinander verknüpft, regulieren sich gegenseitig und bilden die Antwort eines Individuums auf Stressoreneinwirkung.

Nach Ladewig (1994) führt eine stressinduzierte Sympathikuserregung zur Freisetzung von Katecholaminen (vorrangig Adrenalin) aus dem Nebennierenmark sowie der parallelen Abgabe von Noradrenalin aus sympathischen Nervenendigungen. Die kardiovaskuläre Wirkung der Katecholamine beruht auf einer Anregung des Herz-Kreislauf-Systems inklusive einer Glucosemobilisation zur schnellen Energiebereitstellung. Dies ermöglicht die „Kampf-Flucht-Reaktion“ eines Organismus. Da das SAM-System innerhalb weniger Sekunden reagiert und die Effekte nur kurze Zeit anhalten, wird die katecholaminerge Reaktion als „erste Welle“ der Stressantwort angesehen (McEwen und Sapolsky, 1995).

Dagegen wird in einer langsamen „zweiten Welle“ die HPA-Achse aktiviert. Dies geschieht durch die Stimulation parvozellulärer Neuronen des Paraventriculären Nukleus (PVN) im Hypothalamus. Die angeregten Neuronen synthetisieren und sezernieren unter anderem das Corticotropin-freisetzende Hormon (CRH) in das hypothalamisch-hypophysäre Portalsystem. Das CRH steuert die Abgabe des Prohormons Proopiomelanocortin (POMC) aus corticotrophen Zellen der Adenohypophyse (Whitnall, 1993). Convertasen wandeln POMC posttranslational und gewebsspezifisch in verschiedene Peptidhormone um. In der Adenohypophyse wird unter anderem Adrenocorticotropes Hormon (ACTH) abgespalten und in das systemische Blutkreislaufsystem abgegeben. Dadurch gelangt ACTH an Rezeptoren der Nebennierenrinde und stimuliert die Freisetzung von Glucocorticoiden (z.B. Cortisol) aus der *Zona fasciculata* (von Holst, 1998).

Ungefähr 95 % der im Blutkreislauf befindlichen Glucocorticoide werden von Carrierproteinen gebunden, wobei 80-90 % an das hochaffine Corticosteroid-bindende Globulin (CBG) angelagert sind (Lewis et al., 2005). Entsprechend der „free hormone hypothesis“ (Mendel, 1989) gelten Protein gebundene Hormone als biologisch inaktiv und stellen ein schnell zur Verfügung stehendes Hormonreservoir dar. Das CBG reguliert die Verfügbarkeit von ungebundenem, aktivem Cortisol, welches damit in der Lage ist, entsprechende Rezeptoren zu

binden, Signalkaskaden auszulösen und die Stressantwort zu modifizieren (Breuner und Orchinik, 2002). Der freie Cortisolindex (FCI) stellt ein Maß für den Gehalt an aktivem Plasmacortisol dar und wird durch das Konzentrationsverhältnis [Cortisol/CBG] bestimmt.

Freie Glucocorticoide aktivieren katabole Stoffwechselforgänge, supprimieren immunologische Komponenten und regulieren die eigene Verfügbarkeit auf cerebraler Ebene (Ladewig, 1994). Die Funktionen der HPA-Achse versetzen den Organismus in die Lage auf umweltbedingte Stressoren mit physiologischen und ethologischen Adaptationsmechanismen zu reagieren und so die gestellten Umweltaforderungen zu bewältigen. Gleichzeitig werden negative Rückkopplungsmechanismen ausgelöst, um eine Überreaktion der Stressantwort zu verhindern.

1.1.1. DIE REGULATION DER HPA-ACHSE

Die basale und stressinduzierte Aktivität der HPA-Achse unterliegt einer gezielten cerebralen Regulation (Abb. 1.1). Vor allem Strukturen des limbischen Systems und der präfrontale Cortex (PFC) besitzen relevante Kontrollfunktionen (Herman et al., 2005). Allgemein ist das limbische System in die Generierung und Verarbeitung von Emotionen involviert (MacLean, 1986). Zudem ist es mit dem PFC verknüpft und untersteht einer kognitiven Kontrolle (Thier, 2006). Durch die reziproke Vernetzung kann das limbische System die situationsabhängige Handlungssteuerung des PFC emotional modulieren (Adolphs, 2006). Zwei zentralen Teilen des limbischen Systems, dem Hippocampus und der Amygdala, sind gegensätzliche regulatorische Aufgaben zugeordnet. Wie zahlreiche Studien belegen, bewirkt der Hippocampus eine γ -Aminobuttersäure vermittelte Inhibierung der HPA-Achse (Dunn und Orr, 1984; Sapolsky et al., 1986). Befunde von Herman et al. (1995) unterstützen diese Aussage, da Hippocamp-ektomie eine stressorspezifische Erhöhung der CRH-Biosynthese im Hypothalamus induzierte. Dagegen wurde die Amygdala als ein Aktivator der HPA-Achse angesehen. Nach Beaulieu et al. (1986) und Feldman et al. (1994) förderte sie die Freisetzung von ACTH und Cortisol nach spezifischer Stressoreinwirkung. Untersuchungen zur Rolle des PFC innerhalb der regulativen Kontrolle der HPA-Achse wiesen auf dessen komplexe topographische Organisation hin (Sullivan und Gratton, 1999). Läsionen in bestimmten Regionen führten stressspezifisch zu einer erhöhten ACTH- und Cortisolabgabe (Diorio et al., 1993). Diese Ergebnisse verdeutlichen die inhibitorische Funktion des PFC auf das Stresssystem.

Bestimmte Bereiche des zentralen Nervensystems wie Hippocampus und Hypothalamus synthetisieren Zytokine (Besedovsky und del Rey, 2002). Diese regulatorischen Peptide dienen der interaktiven Kommunikation zwischen dem neuronalen, hormonellen und immunologischen

System (Abb. 1.1). Zytokine sind in der Lage die HPA-Achse zu aktivieren. Die potenzierende Wirkung der proinflammatorischen Zytokine Interleukin (IL)-1 β , IL-6 und Tumornekrosefaktor (TNF)- α verläuft direkt oder indirekt. Die direkte Anregung der HPA-Achse erfolgt durch eine positive Stimulation von Hypothalamus und Hypophyse (Berkenbosch et al., 1987; Goshen und Yirmiya, 2010). Jankord et al. (2007) konnten bei Schweinen zeigen, dass IL-6 positiv in die ACTH-Sekretion nach Stresseinwirkung involviert ist. Die indirekte Beeinflussung der Stressachse basiert dagegen auf der Modulation von Hippocampus und PFC-vermittelten Prozessen. Injektionen von IL-1 β in PFC-läsionierte Tiere führten unter Stressbedingungen zu einer verminderten ACTH-Sekretion (Crane et al., 2003). Zudem beeinträchtigte IL-1 β die hippocampale Neurogenese (Koo und Duman, 2008), was die inhibitorische Wirkung des Hippocampus auf die HPA-Achse vermindert.

Lange Zeit wurde angenommen, dass nur immunologische Stimuli die Zytokinfreisetzung auslösen. Neuere Studien zeigen jedoch, dass auch Stress zu veränderten Expressionsraten proinflammatorischer Zytokine im zentralen Nervensystem führen kann (Nguyen et al., 1998; O'Connor et al., 2003; Jankord et al., 2007; Meagher et al., 2007). Die Zytokine spielen eine wichtige Rolle bei ethologischen und physiologischen Adaptationsmechanismen. Stressor- oder pathogeninduzierte Zytokinveränderungen lösen ein Krankheitsverhalten („sickness behaviour“) aus, welches eine hoch organisierte Strategie des Organismus zur Infektionsabwehr darstellt (Hart, 1988). Aus evolutionärer Sicht ist diese Reaktion sinnvoll, da Tiere durch Stressoren wie Prädatoren oder aggressive Artgenossen verwundet und bakteriell infiziert werden können. Das Krankheitsverhalten ist durch reduziertes Explorations-, Sozial- und Sexualverhalten sowie eine erhöhte Schmerzempfindlichkeit gekennzeichnet (Kent et al., 1992). Bei Untersuchungen an Ratten wiesen Wu und Lin (2008) zytokininduzierte Verhaltensänderungen nach. Mehrmalige Injektionen von IL-6 in Amygdala oder Hippocampus verringerten die Aktivität der Tiere im nachfolgenden Verhaltenstest. Auch die Untersuchungen von Chourbaji et al. (2006) an IL-6 Knockout-Mäusen unterstützen diese Befunde. Die genmanipulierten Tiere zeigten während verschiedener Testsituationen weniger depressionsähnliches Verhalten als die Mäuse des Wildtypstammes.

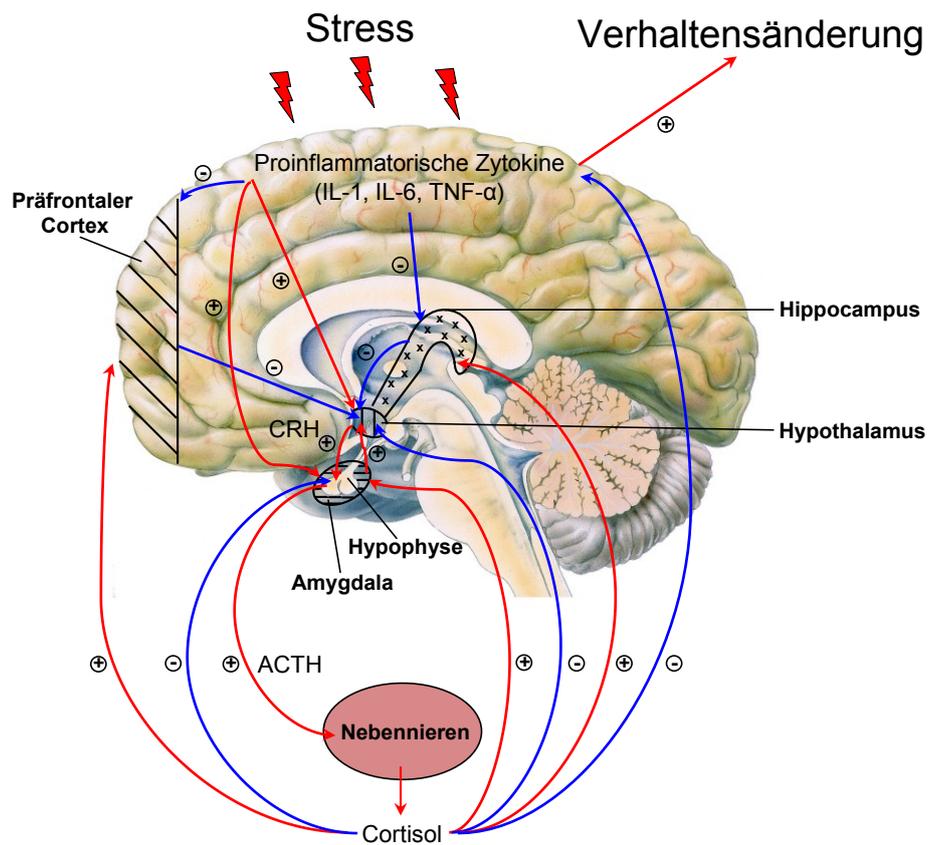


Abb. 1.1: Schematische Darstellung der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse und deren regulierender Strukturen. Die stressinduzierte Achsenaktivierung löst gleichzeitig negative Rückkopplungswege aus.

ACTH: Adrenocorticotropes Hormon; CRH: Corticotropin-freisetzendes Hormon; IL: Interleukin; TNF: Tumornekrosefaktor; (+): aktivierende Wirkung; (-): hemmende Wirkung

Die Zeichnung von J. Ecke wurde modifiziert. Quellenangabe: http://www.julius-ecke.de/bilder/Anatomie/50_Nervensystem/Gehirn_medial.htm

1.1.2. WIRKUNGSMECHANISMEN VON GLUCOCORTICOIDEN

Glucocorticoide beeinflussen verschiedenste Systeme im Organismus, darunter kardiovaskuläre Funktionen, Stoffwechselprozesse, Verhalten und Immunsystem (Chrousos et al., 1988). Eine stressorinduzierte Erhöhung der Glucocorticoidkonzentration bedingt immunomodulatorische Auswirkungen wie beispielsweise eine supprimierte Produktion von proinflammatorischen Molekülen und Immunmediatoren (Jafarian-Tehrani und Sternberg, 2002). Auch die Aktivität der HPA-Achse wird durch erhöhte Glucocorticoidkonzentrationen innerhalb von negativen Rückkopplungswegen eingeschränkt (de Kloet et al., 1998). Diese regulatorischen Effekte verhindern Überreaktionen des Stress- und Immunsystems, welche andernfalls den Organismus schädigen könnten (Munck et al., 1984). Der negative Rückkopplungsmechanismus geschieht vorrangig auf cerebraler Ebene über die Glucocorticoid- und Mineralocorticoidrezeptoren (GR,

MR). Beide Rezeptortypen sind in stressrelevanten Hirngebieten wie Hypothalamus, limbisches System und PFC exprimiert und zumeist colokalisiert (Reul und de Kloet, 1985; Patel et al., 2000). Da der GR eine niedrige Affinität zu Glucocorticoiden aufweist (Reul und de Kloet, 1985), ist eine sättigende Bindung erst bei hohen Cortisolkonzentrationen möglich. Im Vergleich zum GR besitzt der MR eine circa zehnfach höhere Glucocorticoidaffinität und bindet ebenso Mineralocorticoide (z.B. Aldosteron). Aufgrund der größeren Bindungskapazität liegt eine MR-Sättigung schon bei basalem Cortisolniveau vor. Generell löst der Rezeptorbesatz mit Glucocorticoiden eine Reaktionskette aus, die funktionsabhängig zur Aktivierung oder Hemmung Corticosteroid-gesteuerter Gene führt (de Kloet et al., 1998). Diese rezeptorvermittelten Effekte sind relativ langsam in ihrem Wirkungsmechanismus, da erst eine veränderte Gentranskription und Proteinsynthese die Regulation von Glucocorticoid-abhängigen Enzymen, Neurotransmittern oder Rezeptoren bewirkt.

Glucocorticoide regulieren über eine ausbalancierte MR/GR-Aktivierung das homeostatische Gleichgewicht eines Organismus. Diese Balance hängt von der veränderlichen Glucocorticoidkonzentration ab und ist Voraussetzung für einen pro- und reaktiven Modus (de Kloet et al., 1998; Korte, 2001). Der proaktive Modus wird über die tageszeitlich abhängigen Glucocorticoidkonzentrationen definiert, welche für die Regulation der basalen HPA-Aktivität verantwortlich sind und zudem die Sensitivität des Stressantwortsystems fördern. Die entsprechenden Regulationsmechanismen scheinen MR-abhängig zu sein, da eine gezielte MR-Blockade im limbischen System zu einem erhöhten Aktivitätsniveau der Stressachse führte (de Kloet et al., 1994). Der reaktive Modus definiert sich über eine durch Stresseinfluss erhöhte Glucocorticoidkonzentration mit resultierenden GR-vermittelten Effekten. Diese setzen sich primär aus negativen Rückkopplungsmechanismen zusammen, verhindern eine überschießende Stressantwort und ermöglichen letztendlich eine individuelle Bewältigung, Adaptation und Erholung von der aufgetretenen Stresssituation. Genetisch bedingte oder stressinduzierte Störungen der MR/GR-Balance können zu Dysregulationen in der Stressantwort führen und die Bewältigungskompetenz des Organismus herabsetzen (de Kloet et al., 1998).

Negative Rückkopplungsmechanismen werden bei einer optimal verlaufenden Stressantwort innerhalb des reaktiven Modus aktiviert. Wie Abb. 1.1 verdeutlicht, reduzieren die Glucocorticoide über einen direkten Weg die Expression und Freisetzung von CRH und ACTH aus Hypothalamus bzw. Hypophyse (de Kloet et al., 1998). Die indirekte Suppression der Stressachse erfolgt über eine positive Stimulation von Hypothalamus-inhibierenden Hirngebieten (Sapolsky et al., 1984; Diorio et al., 1993). Glucocorticoide hemmen zudem die Synthese und Freisetzung des Zytokins IL-1 β , was dessen Funktion als HPA-Aktivator deutlich einschränkt (Goshen und Yirmiya, 2010).

Wichtige Regulatoren für die Glucocorticoidverfügbarkeit an den Corticosteroidrezeptoren sind die 11 β -Hydroxysteroiddehydrogenasen (11 β -HSD) Typ 1 und 2 (Holmes und Seckl, 2006). Die Enzyme katalysieren die gegenseitige Umwandlung von aktivem Cortisol und inertem Cortison (Lakshmi und Monder, 1985). Die 11 β -HSD Typ 2 arbeitet ausschließlich als unidirektionale Dehydrogenase und inaktiviert Cortisol. Dieser physiologische Mechanismus ermöglicht die gezielte Bindung von Mineralocorticoiden an die nicht-selektiven MR (White et al., 1997). In Aldosteron regulierten Geweben wie der Niere wird so einem Glucocorticoidbesatz entgegen gewirkt. Im Gehirn tritt die 11 β -HSD Typ 2 vorrangig in Gebieten der Wasserhaushalts- und Blutdruckregulation auf (Holmes und Seckl, 2006). Dagegen ist die 11 β -HSD Typ 1 in cerebralen Schlüsselgebieten der HPA-Rückkopplung hoch exprimiert. Dort regeneriert sie Cortisol aus seiner inaktiven Form. Die bedeutsame Rolle des Enzyms innerhalb der negativen Rückkopplungsschleife zeigten Holmes und Seckl (2006) mit 11 β -HSD Typ 1 Knockout-Mäusen. Im Gegensatz zum Wildtyp brauchten die genetisch veränderten Tiere länger um auf ihr basales Glucocorticoidniveau zurück zu kehren.

1.2 AUSWIRKUNGEN DES ABSETZSTRESSES

Beim europäischen Wildschwein (*Sus scrofa* L.) liegt der Absetzzeitpunkt bei circa 3-4 Monaten (Meynhardt, 1978). Domestizierte Schweine in einer semi-natürlichen Haltungsumwelt können den Zeitpunkt des Absetzens auch selbst bestimmen. Dieses natürliche Absetzen vollzieht sich graduell und dauert zwischen 12 und 17 Wochen (Jensen und Recén, 1989; Stolba und Wood-Gush, 1989). Im Gegensatz dazu werden die Ferkel in der konventionellen Schweinehaltung mit 3-5 Wochen in einem abrupten Verfahren von der Muttersau getrennt. In der Regel werden die Tiere zusätzlich mit Nahrungsumstellung, veränderter Haltungsumwelt und neuen Sozialpartnern konfrontiert. Dieser praxisorientierte Absetzprozess hat schwerwiegende Folgen für das Wohlbefinden der Tiere (Hameister et al., 2010). Die abgesetzten Ferkel reagierten mit ausgeprägten Änderungen im Verhalten und des neuroendokrinen Systems. Durch das abrupte und sehr frühe Absetzen erhöhten sich bei den Tieren die Vokalisationsraten hochfrequenter Disstresslaute sowie das Aggressivitäts- und Bauchmassageverhalten gegenüber Artgenossen. Zudem induzierte der Absetzprozess bei den Ferkeln einen kurzfristigen Anstieg der Stresshormone CRH, ACTH und Cortisol. Das frühe Absetzen ist jedoch auch mit Wachstumsverzögerungen und verminderten Immunfunktionen assoziiert, die eine erhöhte Krankheitsanfälligkeit bedingen können (Kanitz et al., 2002).

Beim Absetzen der Ferkel scheint das Alter der Tiere von Bedeutung zu sein. In einer Übersichtsarbeit stellten Hameister et al. (2010) fest, dass Ferkel mit 21 Tagen oder jünger mehr

Adaptationsprobleme aufwiesen als die älteren Tiere. Jüngere Ferkel vokalisiert häufiger, ruhten weniger und zeigten mehr Aggressivitäts- und Bauchmassageverhalten gegenüber Artgenossen als die mindestens eine Woche später abgesetzten Tiere. Auch die Erkennung von Artgenossen scheint unter zusätzlichen Stressbedingungen abhängig vom Absetzalter der Tiere zu sein (Souza und Zanella, 2008). Eine 15-minütige Isolation veränderte bei Ferkeln, die am 11. Tag abgesetzt wurden, die Intensität mit der sie familiäre Artgenossen erkundeten. Am 22. Tag abgesetzte Tiere wiesen dagegen keine Unterschiede im Erkundungsverhalten gegenüber fremden und familiären Artgenossen auf. Weiterhin trat, im Vergleich zu später abgesetzten Ferkeln, bei frühen Absetzferkeln ein verändertes Genexpressionsmuster in Hypophyse und Hippocampus auf (Poletto et al., 2006; Sumner et al., 2008). Unabhängig vom Absetzprozess stellten Kanitz et al. (2011) in der Ontogenese von Saugferkeln sensitive Perioden bezüglich der Entwicklung stressrelevanter Systeme in verschiedenen Hirnarealen fest. Die Interpretation der Ergebnisse deutet auf empfindlichere Systeme bei sehr jungen Tieren hin, woraus sich negative Konsequenzen für die Bewältigung von Umwelтанforderungen und Stress ergeben können.

Entscheidend ist der Alterseinfluss auch beim Produktionsverfahren des isolierten Frühabsetzens („segregated early weaning“; von Borell, 2000). Bei diesem Verfahren werden die Ferkel bereits um den 10. Lebenstag abgesetzt und isoliert von den Sauen aufgezogen. Dies führt zu einer verminderten Erregerübertragung, woraus sich ein verbesserter Gesundheitsstatus und höhere Wachstumsraten der Ferkel ergeben können (Maxwell und Sohn, 1999). Trotz des verbesserten Gesundheitsaspektes traten bei den sehr früh abgesetzten Ferkeln kurz- und auch langfristige Verhaltensänderungen auf. Sowohl die Aktivität als auch das Bauchmassageverhalten der Ferkel waren kurz nach dem Absetzen erhöht (Robert et al., 1999). Als Langzeiteffekt des Frühabsetzens zeigten Mastschweine in der Endmastphase ein fehlgeleitetes Explorationsverhalten gegenüber ihren Artgenossen (Gonyou et al., 1998). Nach Dybkjær (1992) ist das Auftreten von oralen Manipulationen anderer Schweine ein geeigneter Indikator für Belastungssituationen.

Langfristige Auswirkungen des frühen Absetzens wurden zudem mittels spezifischer Belastungstests untersucht. Bei einem „open-field“-Test um den 80. Lebenstag wiesen früh abgesetzte Ferkel (12. Tag) gegenüber den später abgesetzten Tieren (21. bzw. 42. Tag) ein „depressionsähnliches“ Verhalten auf (Sumner et al., 2008). Ein Stresstest am 60. Lebenstag führte bei den früh abgesetzten Ferkeln (10. Tag) zu einem signifikanten Cortisolanstieg, während die später abgesetzten Tiere (30. Tag) keine Veränderungen aufwiesen (Hohenshell et al., 2000). Die Ergebnisse deuten auf eine modifizierte Stressregulation und veränderte Bewältigungsmechanismen bei den früher abgesetzten Tieren hin.

Als ein experimentelles Modell für die psychosoziale Stresskomponente beim Absetzprozess ermöglicht die soziale Isolation die gezielte Untersuchung ethologischer und physiologischer Anpassungsreaktionen. Eine Reihe vorangegangener Studien verdeutlicht, dass die soziale Isolation die Ursache für Verhaltensänderungen von Ferkeln in Normal- und Testsituationen ist. Während der sozialen Isolation erhöhte sich die Anzahl an Fluchtversuchen, zudem reduzierte sich das Spielverhalten der Tiere deutlich (Herskin und Jensen, 2000). Auch das Saugverhalten der Ferkel war infolge der Isolation beeinträchtigt (Tuchscherer et al. 2006). Des Weiteren induzierte die soziale Isolation während eines nachfolgenden Verhaltenstests erhöhte Lokomotions-, Flucht- und Vokalisationsraten, welche Kennzeichen für allgemeine Aktivität und emotionale Erregung sind (Kanitz et al., 2009). Die Testergebnisse verdeutlichen, dass die individuelle Stressantwort und die Adaptationsfähigkeit der Tiere infolge der vorherigen Belastung moduliert wurden.

Die soziale Isolation veränderte ebenfalls psychophysiologische Anpassungsreaktionen der Tiere. Isolierte Ferkel wiesen gegenüber nicht isolierten Kontrolltieren erhöhte ACTH- und Cortisolkonzentrationen auf (Kanitz et al., 2004, 2009; Tuchscherer et al., 2004, 2009, 2010). Auch die Genexpression in stress- und verhaltensrelevanten Hirnarealen wurde durch die soziale Isolation beeinflusst. Bei isolierten Ferkeln traten veränderte Genexpressionsraten von Corticosteroidrezeptoren und Hydroxysteroiddehydrogenasen in Strukturen der Stressachse und regulierender Hirngebiete auf (Poletto et al., 2006; Kanitz et al., 2009). Zusätzlich konnte festgestellt werden, dass auch die Boten-Ribonukleinsäure (mRNA) Expression des Transkriptionsfaktors c-Fos, einem indirekten Marker neuronaler Aktivität, in Hypothalamus und Amygdala infolge sozialer Isolation erhöht war. Akute Stresssituationen können den Transkriptionsfaktor c-Fos in zahlreichen Regionen des zentralen Nervensystems induzieren (Herdegen und Leah, 1998).

1.3 SOZIALE UNTERSTÜTZUNG

Säugetiere bilden Sozialsysteme, in denen unter bestimmten Umweltbedingungen die individuelle Fitness der Mitglieder im Vergleich zur solitären Lebensweise verbessert wird. Jedoch sind Interessenskonflikte über die Maximierung der Gesamtfitness eine unvermeidliche Folge des Lebens in Gruppen (Kikusui et al., 2006; Kappeler, 2012). Als Konsequenz dieser Konflikte versuchen die einzelnen Gruppenmitglieder das Verhalten der anderen zu ihren Gunsten zu beeinflussen. Daraus ergeben sich für Sozialsysteme zwei unterschiedliche Typen von sozialen Beziehungen – Dominanzbeziehungen und soziale Bindungen. Da meist Asymmetrien in der individuellen Wettbewerbsfähigkeit auftreten, führt dies zur Ausbildung

von Dominanz (Langbein und Puppe, 2004). Diese Überlegenheits-Unterordnungs-Beziehung hängt unter anderem von Alter, Körperkraft und sozialen Erfahrungen der Kontrahenten ab. Vorteilhaft ist, dass zur Aufrechterhaltung einmal herausgebildeter Dominanzbeziehungen in der Regel ranganzeigendes Verhalten genügt, womit die Kosten der Konkurrenz reduziert werden (Gattermann, 2006; Kappeler, 2012). Ein hoher Rang ist zudem mit einem verbesserten Paarungserfolg assoziiert, was sich positiv auf die direkte Fitness des Individuums auswirkt. Im Gegensatz dazu besteht die Grundlage der sozialen Bindungen aus soziopositiven Verhaltensweisen (z.B. gegenseitige Fellpflege, Körperkontakt) zwischen den Gruppenmitgliedern (Sachser et al., 1998). Da häufig verwandte Tiere in einer Gruppe leben, dienen die sozialen Bindungen primär der Verwandtenselektion und verbessern dadurch die indirekte Fitness der Individuen. Darüber hinaus kann die Anwesenheit eines sozialen Bindungspartners der gleichen Spezies die Folgen von negativen Erlebnissen abmildern (Cobb, 1976; Dean und Lin, 1977). Dieser Kompensationseffekt wird als soziale Unterstützung („social support“) bezeichnet.

Aktuelle Untersuchungen zu diesem Thema belegen, dass humane Probanden mit sozialer Unterstützung verminderte Cortisolantworten während sozialer Stresstests aufwiesen (Kirschbaum et al., 1995; Heinrichs et al., 2003). Bei Babys, die kurzfristig ohne ihre Mutter auskommen mussten, konnte die Anwesenheit einer Bezugsperson erhöhte Cortisolwerte verhindern (Gunnar und Donzella, 2002). Auch juvenile Primaten zeigten während maternaler Deprivation weniger depressionsähnliches Verhalten, wenn sie soziale Unterstützung durch gleichaltrige Artgenossen erfuhren (Boccia et al., 1997). Generell wiesen adulte Primaten in Paarhaltung geringere basale und stressinduzierte Cortisolkonzentrationen im Vergleich zu einzeln gehaltenen Tieren auf (Gonzalez et al., 1982).

Bei den meisten Säugetieren wird die soziale Beziehung vorrangig über die olfaktorische Erkennung bestimmt (Broad et al., 2006). Studien dazu zeigen, dass auch die soziale Unterstützung über die Geruchswahrnehmung reguliert werden kann. Kiyokawa et al. (2009) stellten fest, dass sich die Kombination aus Angst auslösendem Stimulus und olfaktorischer Wahrnehmung eines Artgenossen bei angstkonditionierten Ratten positiv auf deren Schreckstarreverhalten auswirkte. Die Anwesenheit bzw. allein der Geruch eines Artgenossen kompensiert bei Mäusen die Stress inhibierte Neurogenese im Hippocampus (Cherng et al., 2010). Doch auch akustische Signale spielen innerhalb der sozialen Unterstützung eine wichtige Rolle. Die maternalen Rufe eines fremden Degu-Weibchens kompensierten die isolationsinduzierte Änderung der Rezeptordichte unterschiedlicher Neurotransmitter im limbischen System der getesteten Jungtiere (Ziabreva et al., 2003). Zudem traten bei isolierten Primaten verminderte Cortisolwerte infolge der akustischen Kommunikation mit Artgenossen auf (Rukstalis und French, 2005).

Ein innovativer Ansatz ist die Anwendung der sozialen Unterstützung im Haltungskontext von landwirtschaftlichen Nutztieren, da diesem Thema bei der Nutztierhaltung bisher kaum Beachtung geschenkt wurde. In ersten Untersuchungen an Schafen und Ziegen konnte festgestellt werden, dass die Anwesenheit eines sozialen Gefährten die ethologischen und physiologischen Reaktionen während eines Stresstests veränderte. Bei den Probanden beider Arten bewirkte die soziale Unterstützung eine geringere Cortisolantwort und verminderte Vokalisationsraten im Vergleich zu den allein getesteten Tieren (Lyons et al., 1993). Bei Schafen genügte allein das Bild eines sozialen Gefährten, um die Stresshormonkonzentrationen sowie die Vokalisations- und Herzschlagraten während der sozialen Isolation zu reduzieren (da Costa et al., 2004). Untersuchungen an Schweinen belegen, dass isolierte Ferkel mit eingeschränktem physischen Kontakt zu Artgenossen weniger Stresssymptome (z.B. Scharren) aufwiesen als vollständig isolierte Tiere (Herskin und Jensen, 2000).

Die angeführten Ergebnisse implizieren, dass soziale Partner Signale aussenden, deren Informationsgehalt beim Rezipienten zu sozialer Unterstützung führt. Diese sozialen Signale variieren innerhalb der verschiedenen Spezies und dem experimentellen Kontext (Kikusui et al., 2006). Ausschlaggebend für die soziale Unterstützung sind nicht nur die ausgesendeten Signale des Sozialpartners, sondern auch dessen individuelle Beziehung zum Rezipienten (Hennessy et al., 2009). Abhängig von der sozialen Organisation einer Tierart sowie vom Geschlecht und der ontogenetischen Entwicklung des jeweiligen Individuums kann der Unterstützungserfolg des sozialen Partners variieren. Der Einfluss der interindividuellen Beziehung auf die soziale Unterstützung wurde vorrangig bei Meerschweinchen untersucht. Während bei männlichen adulten Tieren nur die weibliche Gefährtin die Stressantwort auf eine neue Haltungsumwelt abpufferte (Sachser, 1993; Sachser et al., 1998), milderte bei weiblichen Meerschweinchen auch ein anderer familiärer Artgenosse die Stressreaktion ab (Kaiser et al., 2003; Hennessy et al., 2008). Durch die Anwesenheit fremder Artgenossen reduzierte sich die Stresshormonkonzentration der weiblichen Testtiere jedoch nicht (Hennessy et al., 2008). Untersuchungen an Jungtieren zeigten, dass die Präsenz des Muttertieres die Cortisolantwort auf eine fremde Umgebung deutlich verminderte (Sachser et al., 1998). Interessanterweise konnte die Cortisolreaktion auch durch andere Geschwistertiere sowie familiäre und fremde Weibchen abgeschwächt werden. Dagegen führte die Präsenz von adulten männlichen Tieren zu keiner reduzierten Stressantwort (Hennessy et al., 2002). Die Ergebnisse verdeutlichen, dass bei dieser Tierart die Wahl des Sozialpartners entscheidend für eine erfolgreiche Stresskompensation ist. Nach bisherigem Erkenntnisstand liegen beim Nutztier Schwein keine Studien über den Einfluss der interindividuellen Beziehung bei sozialer Unterstützungsleistung durch gleichaltrige Artgenossen vor.

1.4 ZIEL DER ARBEIT

Das Ziel dieser Arbeit besteht in der Untersuchung möglicher kompensatorischer Effekte der sozialen Unterstützung durch Artgenossen auf stressinduzierte Reaktionen ausgewählter ethologischer, physiologischer und molekularbiologischer Parameter. Dieser Ansatz stellt einen Beitrag zur Verbesserung von Wohlbefinden und Tiergerechtheit beim Hausschwein dar. Als experimentelles Modell dient eine maternale Deprivation und soziale Isolation von Saugferkeln, wodurch zuverlässig psychosozialer Stress bei den Tieren ausgelöst wird. Die Arbeit basiert auf folgenden Hypothesen:

1. Psychosozialer Stress durch maternale Deprivation und soziale Isolation führt bei Saugferkeln zu einer Aktivierung der HPA-Achse sowie zu einer veränderten Genexpression relevanter Signalmoleküle in stress- und verhaltensassoziierten Hirnarealen. Aufgrund des psychosozialen Stresses kommt es bei den Tieren zu einer inadäquaten Adaptationsleistung in nachfolgenden Belastungssituationen.
2. Eine soziale Unterstützung durch gleichaltrige Artgenossen mildert die ethologische und physiologische Stressantwort der isolierten Saugferkel ab.
3. Der Bekanntheitsgrad des Sozialpartners (bekannt vs. unbekannt) wirkt sich auf den Effekt der sozialen Unterstützung aus.
4. Der Ontogenesestatus der Saugferkel beeinflusst die Reaktionen der Tiere in Belastungssituationen wie maternale Deprivation und soziale Isolation.

Mit dieser Arbeit wird erstmalig der Einfluss der sozialen Unterstützung auf die komplexe Interaktion von Verhalten, Nerven- und Hormonsystem in der Regulation von psychosozialen Stress beim Schwein untersucht. Durch die Ergebnisse werden grundlegende Erkenntnisse bezüglich Wohlbefinden und Gesundheit der Tiere erwartet. Als Versuchstiere werden Ferkel im Alter von 7, 21 oder 35 Lebenstagen für vier Stunden allein bzw. mit sozialer Unterstützung isoliert. Als Isolationspartner dient entweder ein bekannter oder unbekannter Artgenosse gleichen Alters. Die Kontrolltiere verbleiben währenddessen im Wurf. Die ethologischen Untersuchungen umfassen das Verhalten der Ferkel während der Isolation sowie die Verhaltensänderungen in wiederholten „open-field“/„novel-object“-Tests. Zur Analyse physiologischer Modulationen werden Stresshormonkonzentrationen im Blutplasma und verschiedene Genexpressionen in stress- und verhaltensrelevanten Hirnarealen der Tiere analysiert.

2 MATERIAL UND METHODEN

2.1 VERSUCHSTIERE UND HALTUNGSBEDINGUNGEN

Insgesamt wurden in neun Durchgängen 324 Ferkel von 27 Sauen der deutschen Landrasse (*Sus scrofa*) untersucht, welche in der institutseigenen Zucht der „Experimentalanlage Schwein“ des Leibniz-Institutes für Nutztierbiologie (FBN) geboren und aufgezogen wurden. Die Abferkelung erfolgte in Scan-Abferkelbuchten (6 m²) mit Ferkelschutzkörben und einem beheizten Liegebereich für die Ferkel. Die Raumtemperatur betrug circa 26-28 °C und das Lichtregime war auf 12/12 Stunden Licht/Dunkel mit Licht an um 6:00 Uhr eingestellt. Innerhalb von 24 h *post partum* wurden bei den Ferkeln zootechnische Maßnahmen (Abkneifen von Zähnen und Schwanzspitze, individuelle Ohrmarkierung, orale Eisensupplementation) durchgeführt. Männliche Ferkel wurden am 4. Lebenstag kastriert, indem das Skrotum mit einem Skalpell aufgeschnitten, die *Ductus deferentes* durchtrennt und die Hoden entfernt wurden. Während der Versuchsphase verblieben die Ferkel führenden Sauen in den Abferkelbuchten und die Ferkel erhielten Wasser und Beifutter „Turbostart“ (Trede und von Pein, Deutschland) *ad libitum*.

2.2 EXPERIMENTELLER ABLAUF

2.2.1 VERSUCHSAUFBAU

Wie in Abb. 2.1 A dargestellt ist, wurden die zu untersuchenden Ferkel zufällig auf 4 Behandlungsvarianten und 3 Altersstufen aufgeteilt. Am 7., 21. und 35. Lebenstag wurden jeweils naive Probanden als Kontrolltiere ohne Isolation (K), als Ferkel mit bekanntem (IB) oder unbekanntem Isolationspartner (IU) oder als allein isolierte Tiere (IS) eingruppiert. Als bekannter Isolationspartner wurde ein Geschwistertier je Wurf ausgewählt. Am 6. Lebenstag wurde die Saugordnung der Ferkel bestimmt, um eine soziale Beziehung zwischen dem Versuchstier und dem bekannten Partner am 7. Tag zu gewährleisten. Nach Puppe und Tuchscherer (1999) ist die Saugordnung zu diesem Zeitpunkt bereits stabil. Die Zitzenbelegung

der markierten Ferkel wurde in fünf Saugakten ermittelt und daraus ein an benachbarten Zitzen saugendes Geschwisterpaar ausgesucht. Theoretisch wurde eine Mindestanzahl von 13 Ferkeln pro Wurf benötigt, um ausreichend Probanden für den jeweiligen Versuchsdurchgang zur Verfügung zu haben. In der Praxis traten jedoch krankheitsbedingte Ausfälle auf, weshalb einzelne Tiere am 35. Lebenstag wiederholt im Versuch eingesetzt werden mussten. Dabei wurden nur Kontrolltiere vom 7. Tag als spätere Isolationstiere verwendet.

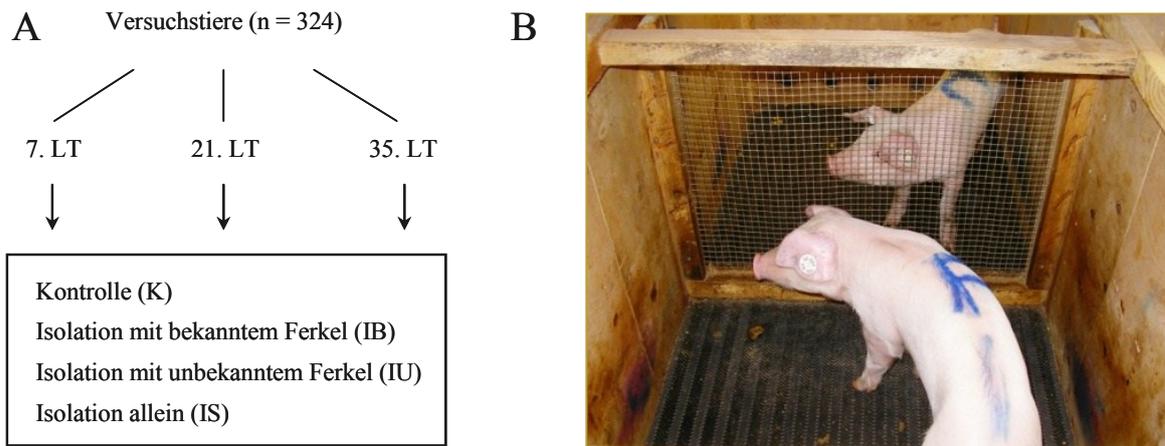


Abb. 2.1: Schematische Eingruppierung der Versuchstiere in die drei Altersstufen und die vier Behandlungsgruppen (A). Darstellung eines Versuchferkels mit Isolationspartner in der Isolationsbox (B). LT: Lebenstag

In den Durchgängen 1 bis 6 wurde der Einfluss der sozialen Isolation sowie der sozialen Unterstützung auf das Verhalten und die Stresshormonkonzentration der Ferkel untersucht. Das Ablaufschema ist in Abb. 2.2 dargestellt und gliederte sich wie folgend aufgeführt (n = 18 pro Behandlungsvariante und Altersstufe). Allen Versuchstieren wurde zu Versuchsbeginn um 7:00 Uhr, durch Fixierung der Tiere in Rückenlage und anschließender Punktion der *Vena cava cranialis*, Blut abgenommen (Entnahmedauer < 1 min; Pohlmann et al., 1975). Nach einer 30-minütigen Erholphase im Wurf schloss sich für jedes Ferkel ein zehnmütiger Verhaltenstest an, welcher im Kapitel 2.2.3 ausführlicher beschrieben wird. Während die Kontrolltiere im Wurf verblieben, wurden Ferkel aller Isolationsarten für 4 h in Isolationsboxen (0,68 × 0,75 × 0,65 m) unter gleichen klimatischen Bedingungen separiert. Den Tieren mit „social support“ wurden während der Isolation entweder bekannte (Wurfgeschwister) oder unbekannte Ferkel gleichen Alters zugesetzt. Die Trennung der Tiere innerhalb der Isolationsbox erfolgte durch ein sichtdurchlässiges Metallgitter (vgl. Abb. 2.1 B). Das Verhalten der Versuchstiere wurde während der vierstündigen Isolation mittels Videokamera

aufgezeichnet (siehe Kapitel 2.2.2). An die Isolationsprozedur schlossen sich eine zweite Blutentnahme und die Wiederholung des Verhaltenstests an. Das entnommene Blut wurde zur Plasmagewinnung in eisgekühlte präparierte Probenröhrchen (EDTA 65 Kn, KABE Labortechnik, Deutschland) abgefüllt und in einer Multifuge 3S-R (Heraeus, Deutschland) bei 3500 rpm für 10 min und 4 °C zentrifugiert. Bis zur Hormonanalyse wurden die Plasmaproben bei -80 °C gelagert.

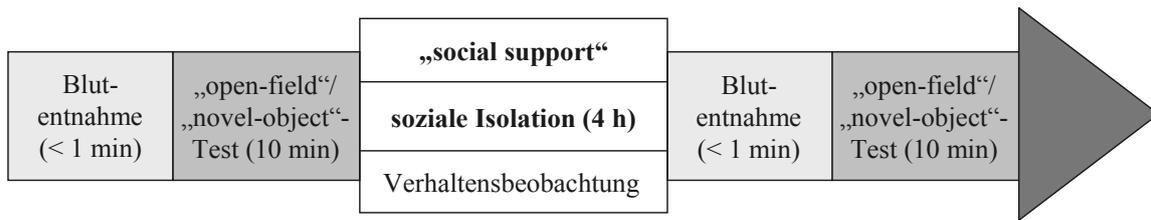


Abb. 2.2: Schematische Darstellung des experimentellen Versuchsdesigns der Durchgänge 1-6.

In den Durchgängen 7 bis 9 wurde der Einfluss von sozialer Isolation und sozialer Unterstützung auf die Stresshormonkonzentration im Plasma und die Genexpression in stressrelevanten Hirnarealen von Ferkeln untersucht. Auf die ethologischen Untersuchungen wurde in diesen Durchgängen verzichtet, um eine Beeinflussung der molekularbiologischen Parameter durch den „open-field/„novel-object“-Test auszuschließen. Das Ablaufschema ist in Abb. 2.3 dargestellt (n = 9 pro Behandlungsvariante und Altersstufe). Nach der ersten Blutentnahme erholten sich alle Ferkel für 30 min im Wurf. Während die Kontrolltiere anschließend bei dem Muttertier blieben, wurden die Ferkel aller Isolationsarten für 4 h in Isolationsboxen untergebracht. Unmittelbar nach der jeweiligen Behandlung erfolgte die zweite Blutentnahme und nach Merzung der Tiere die Gewebeentnahme. Die Ferkel wurden nacheinander mittels intravenöser Injektion von T61 (Intervet, Deutschland) euthanasiert. Vor der Eröffnung der Schädelhöhle erfolgte die Entfernung von Haut, Augen, Ohrmuscheln und Muskeln im Bereich des Schädels unter Zuhilfenahme eines Skalpells. Beiderseits des Schädels wurde am Grenzbereich zwischen *Supraoccipitale*, *Parietale* und *Squamosum* eine oszillierende Säge (Hebu, Deutschland) angesetzt und in Längsrichtung des Schädels geschnitten. Der Schnitt verlief jeweils durch die Augenhöhle und das *Lacrimale*. Ein zusätzlicher Querschnitt wurde zwischen *Nasale* und *Frontale* gelegt, um so das Schädeldach heraustrennen zu können. Nach dem Durchtrennen von *Dura mater* und den abgehenden Hirnnerven an der Hirnbasis konnte das Gehirn aus der Schädelöffnung entnommen werden. Die Lokalisierung der zu untersuchenden Hirnareale fand anhand des stereotaktischen Atlas beim Schwein statt (Félix et

al., 1999). Gemäß vorangegangener Studien von Kanitz et al. (2004, 2009) wurden aus beiden Hirnhemisphären mittels eines sterilen Skalpell der PFC, der Bereich der paarigen *Amygdalae* (inklusive Sub-Nuclei), die Hypophyse sowie das hypothalamische Gebiet (inklusive PVN) zwischen drittem Ventrikel und Thalamus entnommen. Die Dauer zwischen Exitus und Entnahme der Hirnareale betrug maximal fünf Minuten. Zur Untersuchung der Genexpression wurden die Proben in Cryo-Röhrchen (Simport, Kanada) mit RNA-Stabilisierungsreagenz RNAlater (Qiagen, Deutschland) über Nacht bei 4 °C inkubiert und anschließend bei -80 °C tiefgefroren.

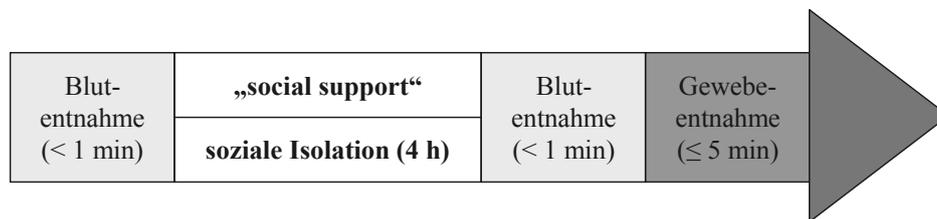


Abb. 2.3: Schematische Darstellung des experimentellen Versuchsdesigns der Durchgänge 7-9.

2.2.2 VERHALTEN WÄHREND DER ISOLATION

Die Verhaltensweisen der Versuchsferkel in den Isolationsboxen wurden mittels Infrarotkamera (Infrarot-Domekamera, s/w, EcoLine, Security Center GmbH & Co. KG, Deutschland) aufgezeichnet, welche sich in der Boxenmitte oberhalb des Trenngitters befand. Aufgrund der limitierten Befestigungshöhe der Kamera entstand ein schmaler, für die Kamera nicht sichtbarer Bereich am hinteren Boxenteil (Rückzugsbereich). Mit Hilfe des Programms „Observer Version 7.0“ (Noldus Information Technology, Niederlande) wurde das Verhalten der Tiere erfasst. Dabei wurde die kontinuierliche Direktbeobachtung („focal sampling“) mit einem zeitlichen Auflösungsvermögen von einer Sekunde angewandt. Die erfassten Verhaltensweisen sind in Tabelle 2.1 aufgeführt. Ausgewertet wurden Dauer, Häufigkeit und Latenz der Verhaltensparameter.

Tabelle 2.1: Erfasste Verhaltensweisen während der Isolationszeit mit kurzer Definition

Verhalten	Definition
Aktivität	Jede Körperhaltung, bei der das Ferkel nicht liegt (Lokomotion, Stehen, Sitzen)
Liegen	Berührung des Bodens mit Bauch oder Körperseite
Fluchtversuch	Hochspringen an Gitter oder Wand
Rückzug	Aufenthalt im Gitter abgewandten Teil der Isolationsbox
Sozialkontakt	Jeder Körperkontakt zwischen Artgenossen (nur bei IB und IU möglich)
Gitterkontakt	Körperkontakt mit Gitter ohne Kontakt zum Artgenossen
Wandkontakt	Körperkontakt mit Wandbereich

2.2.3 „OPEN-FIELD“/„NOVEL-OBJECT“-TEST

Ein kombinierter „open-field“/„novel-object“-Test diente zur Überprüfung der Verhaltensreaktivität aller Ferkel (Puppe et al., 2003, 2007). Die Tests fanden in einem separaten, schallgedämmten Raum mit quadratischer Testarena („open-field“: 2,80 × 2,80 m, Wandhöhe 1,24 m) jeweils vor und nach der Behandlung statt. Während der 10-minütigen Testdauer wurden definierte Verhaltensweisen im „focal sampling“-Verfahren mit dem Programm „Observer Version 3.0“ (Noldus Information Technology) erfasst. Zusätzlich wurde die Reaktion auf ein fremdes Objekt („novel-object“) getestet (vor Behandlung: stehendes, rosafarbenes Schwein, nach Behandlung: sitzendes, schwarz-weiß geflecktes Schwein; Figurenparadies-WW, Deutschland), welches nach 7 min in die Arenamitte herabgelassen wurde. Zwischen den Testsituationen fand eine Säuberung der Arena statt.

Die in Tabelle 2.2 aufgeführten Verhaltensweisen wurden in Form von Dauer, Häufigkeit und Latenz erfasst und ausgewertet. Analysiert wurde die Änderung des Verhaltens (Ergebnisse nach der Behandlung minus vor der Behandlung), um tierindividuelle Unterschiede zu kompensieren. Ein weiterer Vorteil der Differenzbildung ist die verbesserte Darstellung von Habitationsunterschieden zwischen den Behandlungsgruppen, da die Testwiederholung eine Habituation der Tiere nach sich ziehen kann (Hayne und Gonyou, 2003; Forkman et al., 2007).

Tabelle 2.2: Erfasste Verhaltensweisen im „open-field“/„novel-object“-Test mit kurzer Definition

Verhalten	Definition
Lokomotion	Aktive Fortbewegung mit mindestens zwei Schritten
Stehen/Sitzen	Keine aktive Fortbewegung, Stehen auf mindestens drei Gliedmaßen bzw. Sitzen
Exkretion	Absetzen von Exkrementen (Harn, Kot)
Flucht	Exploration bzw. Hochspringen an der Arenabegrenzung
Objektannäherung	Annäherung an das „novel-object“ mit einem Maximalabstand von 25 cm
Objektkontakt	Alle Berührungen des „novel-objects“ mit einem Körperteil
Vokalisation	Aktive Lautäußerungen beinhalten Grunzen (< 1 kHz) und Schreien (> 1 kHz)

2.3 LABORANALYTISCHE METHODEN

2.3.1 HORMONANALYSEN

ACTH. Die quantitative Bestimmung der ACTH-Konzentration im Plasma erfolgte mit Hilfe eines kommerziellen ELISA-Tests entsprechend der Angaben des Herstellers (EIA-3647, DRG Instruments GmbH, Deutschland). Der Assay beinhaltet einen biotinylierten Ziege-Antikörper sowie einen Peroxidase-gekoppelten Maus-Antikörper, regionspezifisch gegen C- und N-terminales humanes ACTH. Untersuchungen zur Kreuzreaktivität ergaben für die ACTH-Fragmente (1-24) und (18-39) sowie für α -Melanozyten-stimulierendes Hormon und β -Endorphin weniger als 5,0 %. Die Methode wurde für den Nachweis im Schweineplasma validiert, wobei die Empfindlichkeit 3,3 pg/ml und die Intra- und Inter-Assay-Variationskoeffizienten 2,3 % bzw. 4,5 % betragen.

Cortisol. Cortisolkonzentrationen im Blutplasma wurden in Doppelbestimmung unter Verwendung eines kommerziellen ^{125}I -RIA-Tests (DSL-2100 ACTIVE, Beckman Coulter, Deutschland) nach den Herstellervorgaben analysiert. Die Kreuzreaktivität des spezifischen Kaninchen-Cortisol-Antikörpers gegenüber Prednisolon und Corticosteron wird mit 33,3 % bzw. 9,3 % sowie gegenüber allen anderen Plasmasteroiden mit kleiner 5,0 % angegeben. Die Sensitivität lag bei 8,1 nmol/l und die Intra- bzw. Inter-Assay-Variationskoeffizienten betragen 8,2 % bzw. 9,8 %.

CBG. Die Analyse des CBG im Plasma erfolgte mit einem modifizierten Bindungsassay, welcher durch Kanitz et al. (2002) beschrieben wurde. Zur Bestimmung der

Gesamtbindungskapazität wurden 25 µl Blutplasma, 5 µl unmarkiertes Cortisol (0,78 nmol/l; Hydrocortison, Merck, Deutschland) und 5 µl ³H-markiertes Cortisol (25 pmol/l; Amersham Pharmacia Biotech, Deutschland) mit Na-Phosphat-Puffer (siehe Anhang) in einem Gesamtvolumen von 500 µl inkubiert. Die unspezifische Bindung wurde durch einen Parallelansatz mit 100-fachem Überschuss an unmarkiertem Hormon (78 nmol/l) ermittelt. Nach einer Inkubation im Wasserbad (15 min, 45 °C) folgte eine Abkühlphase der Ansätze (15 min, 2 °C). Die Trennung von gebundenem und freiem ³H-Cortisol wurde durch Präzipitation mit 500 µl eisgekühlter Dextran-Aktivkohle-Suspension durchgeführt. Nach Inkubation (20 min, 4 °C) und Zentrifugation (5 min, 4 °C, 2200 rpm) wurden 500 µl des Überstandes mit 4 ml Szintillator-Flüssigkeit (Rotiszint eco plus, Roth, Deutschland) versetzt und im Flüssigkeitsszintillationsmessgerät (LKB Wallac, Finnland) gemessen. Die Auswertung erfolgte in fmol/ml Plasma.

Freier Cortisol Index (FCI). Als ein Surrogat für die freie Cortisolkonzentration im Plasma wurde der FCI aus dem Verhältnis Cortisol/CBG berechnet.

Die Auswertung der Stresshormone erfolgte anhand der Konzentrationsänderungen (Konzentrationen nach der Behandlung minus Konzentrationen vor der Behandlung).

2.3.2 GENEXPRESSIONSANALYSEN

RNA-Extraktion. Die Gewebeproben wurden nach Entfernung des RNAlaters unter Zugabe von flüssigem Stickstoff mit Mörser und Pistill pulverisiert. Die Extraktion der totalen RNA erfolgte mit dem RNeasy Lipid Tissue Kit in Kombination mit dem RNase-Free DNase Set (Qiagen, Deutschland). Maximal 100 mg der jeweiligen pulverisierten Gewebeprobe wurden mit 1 ml Lysispuffer versetzt und mit Hilfe des Dispergiergerätes Ultra Turrax T18 basic (IKA, Deutschland) homogenisiert (90 s, 233 Hz). Das Homogenat wurde entsprechend den Herstellerangaben weiter bearbeitet. Abschließend wurde die gesamte RNA der jeweiligen Probe mit 35 µl RNase-freiem Wasser eluiert und die Konzentration mittels Spektralphotometer NanoDrop (Kisker, Deutschland) ermittelt. Die Reinheit der Nukleinsäurelösung wurde ebenfalls photometrisch bestimmt (optische Dichte bei 260 nm/optische Dichte bei 280 nm). Ein Verhältnis zwischen 1,9 und 2,1 entspricht einer reinen RNA-Isolierung, in der keine Proteinkontaminationen zu erwarten sind. Stichprobenartig wurde zudem die Integrität der RNA mit Hilfe eines 1,5 %-igen Agarosegels in MOPS-Puffer (siehe Anhang) überprüft. Bei intakter RNA sind deutlich die 28S- und die 18S-Bande der ribosomalen RNA zu erkennen, welche in

ihren Fluoreszenzintensitäten ein Verhältnis von 2:1 aufweisen sollten. Die extrahierte RNA wurde entweder sofort in der Reversen Transkription (RT) mit anschließender Polymerasekettenreaktion (PCR) eingesetzt oder bis zur Durchführung der RT-PCR bei -80 °C gelagert.

RT-PCR. Bei der RT wird die (extrahierte) RNA unter Zuhilfenahme einer reversen Transkriptase in die komplementäre Desoxyribonukleinsäure (cDNA) umgeschrieben. Die PCR ermöglicht es, unter Verwendung von synthetisierten Oligonucleotiden (Primern), beliebige DNA-Abschnitte zu amplifizieren. Dazu hybridisieren die Primer mit den jeweiligen DNA-Strängen. Zu einer Anreicherung des DNA-Abschnittes zwischen den beiden Primerbindungsstellen kommt es durch wiederholtes Durchlaufen der Arbeitsschritte: DNA-Denaturierung, Primerbindung und Elongation unter Einsatz von DNA-Polymerasen (Saiki, 1985; Mullis und Fallona, 1987).

Für alle RT-PCR-Reaktionen wurde der iScript cDNA Synthese Kit (Bio-Rad, Deutschland) verwendet, welcher mit Oligo (dT) und Random Hexamer Primern arbeitet. In einem Gesamtvolumen von 20 µl wurde eine RNA-Konzentration von 500 ng eingestellt. Der eisgekühlte Reaktionsansatz enthielt zudem 4 µl Reaktionsmix und 1 µl einer Reversen Transkriptase aus dem „Moloney murine leukemia virus“. Mit RNase-freiem Wasser wurde bis zum vorgeschriebenen Gesamtvolumen aufgefüllt. Die Inkubation des Reaktionsansatzes erfolgte im Thermocycler Primus 96 plus (MWG Biotech, Deutschland) nach folgendem Ablauf: (5 min, 25 °C), (30 min, 42 °C) und (5 min, 85 °C). Die synthetisierte cDNA-Lösung wurde für die quantitative Echtzeit-PCR (qPCR) genutzt oder bei -20 °C kurzfristig zwischengelagert. Zur internen Kontrolle für eine DNA-freie RNA-Präparation wurde in den Negativkontrollansätzen auf die Zugabe von Reverser Transkriptase verzichtet.

qPCR. Die qPCR ist eine Vervielfältigungsmethode für Nukleinsäuren, die auf dem Prinzip der herkömmlichen PCR beruht und zusätzlich die Möglichkeit der Quantifizierung in Echtzeit bietet. Die Quantifizierung wird mit Hilfe von Fluoreszenzmessungen am Ende oder während eines Zyklus durchgeführt. Die Fluoreszenz nimmt proportional mit der Menge der PCR-Produkte zu und ermöglicht so deren Quantifizierung. In der vorliegenden Arbeit wurde die Quantifizierung mit externer Kalibrierkurve ausgewählt. Für den Nachweis der doppelsträngigen DNA wurde der Cyanin-Farbstoff SYBR Green 1 genutzt, der im Komplex mit DNA ein Absorptionsmaximum bei 494 nm aufweist. Als Kalibrierkurve diente die Verdünnungsreihe eines pGEM-T Vektors (Promega, USA), welcher die Zielsequenz des GR beinhaltet (siehe Tabelle 2.3). Als Verdünnungsschritte wurden Mengen von 620 pg, 62 pg, 6,2 pg und 0,62 pg des Vektorsystems eingesetzt. Die spezifischen Primer für die Analyse der Zielgene wurden Exon-Intron-übergreifend mit dem Programm „Primer 3“ von Rozen und

Skaletsky (1998) erstellt. Die Primersynthese erfolgte durch die Firma TIB Molbiol (Berlin, Deutschland). Analysiert wurden die mRNA Expressionen von GR, MR, 11 β -HSD1, 11 β -HSD2, POMC, CRH, c-fos, IL-6 und TNF- α . Für die einzelnen Zielgene sind die Nukleotidsequenzen der Primer, die Längen und spezifischen Schmelztemperaturen der entstandenen Produkte (berechnet mit „Primer 3“) sowie die Zugangsnummern der genutzten Nukleotidsequenzen in Tabelle 2.3 angegeben.

Tabelle 2.3: Charakterisierung der verwendeten Primer in der qPCR.

Gen	Forward Primer 5' → 3' Reverse Primer 5' → 3'	Produktlänge (bp)	spezifische Schmelztemperatur (°C)	Zugangsnummer ¹
GR	GTTCCAGAGAACCCCAAGAGTTCA TCAAAGGTGCTTTGGTCTGTGGTA	173	78,0	AY779185
MR	GTCTTCTTCAAAAAGAGCCGTGGAA CTCCTCGTGGAGGCCTTTAACTT	189	74,5	M36074
11 β -HSD1	GGTCAACTTCCTCAGCTACGTGGT AGGACACAGAGAGTGATGGACACG	222	76,7	NM_008288
11 β -HSD2	TGGTACCCTTGAGATGACCAA CACTGGTCCACGTTTTTCACT	246	80,4	AF414125
POMC	GTGGGAGATGCCGAGATTGT CTCCTCCTCCTCGCGCTTCT	343	85,8	X00135
CRH	CTCAGAGCCCAAGTCCGTTGAGAGA GCATTTTAGGGGCGCTAGCTTCTGA	178	76,6	NM_001113062
c-fos	GGGACAGTCTCTCCTACTACCACT GGTGAGGGGCTCTGGTCT	213	81,0	AJ132510
IL-6	GAGGTACTGGCAGAAAACAACC CGTTCTGTGACTGCAGCTTATC	304	76,4	NM_214399
TNF- α	GCCTACTGCACTTCGAGGTTAT GACCTGGGAGTAGATGAGGTACAG	266	79,9	X57321

¹⁾ Zugangsnummer für die Datenbank des *National Centers for Biotechnology Information*

GR: Glucocorticoidrezeptor, MR: Mineralocorticoidrezeptor, HSD: Hydroxysteroiddehydrogenase, POMC: Proopiomelanocortin, CRH: Corticotropin-freisetzendes Hormon, IL: Interleukin, TNF: Tumornekrosefaktor

Für die qPCR wurde der iQ SYBR Green Supermix (Bio-Rad, Deutschland) verwendet. Das Gesamtvolumen von 10 μ l pro Probe setzte sich aus 5 μ l Supermix, 4 μ l des jeweiligen Primerpaares (0,5 μ M je Primer) und 1 μ l Probe (entspricht 25 ng eingesetzter total RNA) bzw.

Standard bzw. interner Kontrolle aus der RT-PCR bzw. Wasser (als Negativkontrolle für die qPCR) zusammen. Die Proben wurden in Doppelbestimmungen auf einer 96-Loch-PCR-Platte pipettiert. Versehen mit einer adhäsiven Folie, die einen Verdunstungsschutz während der qRT-PCR lieferte, wurde die PCR-Platte im iCycler Thermal Cycler 96-Well (Bio-Rad, Deutschland) inkubiert. Das verwendete Programm ist in Tabelle 2.4 angegeben. Schritt 1 bis 5 entsprachen dabei Denaturierung, Primerbindung und Elongation. Zusätzlich fungierte der 1. Schritt zur Aktivierung der eingesetzten DNA-Polymerase. Im letzten Schritt wurde eine Schmelzkurvenanalyse durchgeführt, anhand derer die Spezifität der Amplifikate bestimmt werden kann. Durch kontinuierliche Temperaturerhöhung wurde die DNA aufgeschmolzen. Bei Erreichen der spezifischen Schmelztemperatur denaturierte das doppelsträngige DNA-Fragment zu zwei Einzelsträngen. Der gebundene Fluoreszenzfarbstoff wurde freigesetzt und somit eine Fluoreszenzabnahme detektiert. Die Darstellung der Ergebnisse erfolgte in pg RNA/ μg total RNA und die Konzentration des MR/GR Verhältnisses wurde zur besseren Übersicht mit 10^2 multipliziert.

Tabelle 2.4: Protokoll des iCycler-Programmes während der qPCR.

Schritt (Zyklus)	Temperatur (°C)	Dauer (min)
1 (1x)	94,0	03:00
2 (1x)	60,0	00:30
	70,0	00:45
3 (5x)	94,0	00:10
	60,0	00:30
	70,0	00:45
4 (40x)	94,0	00:10
	60,0	00:30
	70,0	00:45
		(+ 00:05 pro Zyklus)
5 (1x)	94,0	00:10
	60,0	00:30
	70,0	07:00
6 (1x)	95,0	01:00
	60,0	
7 (35x)	(+ 1,0 pro Zyklus)	00:10

Produktkontrolle. Die Agarose-Gelelektrophorese wurde zur Verifizierung der entstandenen qPCR-Produkte genutzt, indem die spezifischen Produktgrößen im Gel nachgewiesen wurden (vgl. Tabelle 2.3). Dazu wurden jeweils 3 µl Probenlösung mit 1 µl Ladepuffer (6x Mass Ruler Loading Dye Solution, Fermentas, Deutschland) vermischt und in die Taschen eines Agarosegels aufgetragen. Das 2 %-ige Agarosegel wurde mit 5 µl des sensitiven Fluoreszenzfarbstoffes Sybr Gold (MobiTec, Deutschland) versetzt. Als Größenreferenz im Gel diente eine DNA-Leiter (Fast Ruler DNA Ladder, Low Range, Fermentas, Deutschland), welche einen Bereich von 50 bis 1500 Basenpaaren abdeckte. In der Elektrophoreseapparatur E 865 (Consort, Belgien) mit 1x TBE-Puffer (siehe Anhang) wurden die Nukleotidsequenzen nach ihrer Größe aufgetrennt (60 min, 77 V).

Zur Überprüfung der Spezifität von neu erstellen Primerpaaren wurde das qPCR-Produkt sequenziert. Die Aufreinigung und Konzentrierung des Fragmentes erfolgte mit Hilfe des MSB Spin PCRapace Kits (Invitek, Deutschland). Die Sequenzierung des aufgereinigten Produktes wurde mit dem DNA-Analysesystem Genetic Analyzer 3130 (Applied Biosystems, USA) durchgeführt.

2.4 STATISTISCHE VERFAHREN

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mit der Software SAS, Version 9.2 (SAS Institute Inc., USA). Mit der Prozedur UNIVARIATE in SAS/BASE software (SAS Institute Inc., 2009a) wurden deskriptive Statistiken berechnet und die Daten mit dem Shapiro-Wilk-Test auf Normalverteilung getestet. Mittels einer multifaktoriellen Varianzanalyse (ANOVA) wurden normalverteilte Daten mit der SAS-Prozedur MIXED in SAS/STAT software (SAS Institute Inc., 2009b) und nicht normalverteilte Daten mit der SAS-Prozedur GLIMMIX (SAS Institute Inc., 2009b) (Distribution: lognormal) analysiert. Das Varianzanalysemodell beinhaltete jeweils die fixen Faktoren Durchgang (1-9), Geschlecht (männlich, weiblich), Alter (7., 21., 35. Tag), Behandlungsvariante (K, IB, IU, IS) und die Interaktion Alter × Behandlungsvariante sowie den zufälligen Faktor Sau. Messwiederholungen am gleichen Tier wurden im Modell berücksichtigt, indem die Option „repeated“ in der SAS-Prozedur MIXED (bzw. „random _residual_“ im Falle der SAS-Prozedur GLIMMIX) zur Bestimmung der Blockdiagonalstruktur der Restkovarianzmatrix (Typ: compound symmetry) verwendet wurde. Bei den Verhaltensparametern aus den „open-field“/„novel-object“-Tests und den Hormonkonzentrationen wurden die Änderungen der Werte analysiert (Ergebnisse nach der Behandlung minus vor der Behandlung). Da der Faktor Geschlecht bei den Änderungen der

Parameter keine signifikante Rolle spielte, wurde das obige Modell ohne den Faktor Geschlecht angewandt.

Korrelationsanalysen zwischen ausgewählten Parametern erfolgten mit der SAS-Prozedur CORR (SAS Institute Inc., 2009a), wobei Spearman Rangkorrelationskoeffizienten geschätzt und gegen Null getestet wurden.

Für die Darstellung der Ergebnisse wurden zusätzlich „least square means“ und deren Standardfehler für alle festen Effekte in den oben genannten Modellen berechnet und deren paarweise Differenzen getestet. Diese multiplen Mittelwertvergleiche erfolgten mit dem Tukey-Kramer-Test. Das Signifikanzniveau α wurde mit 0,05 gewählt, d.h. alle Testergebnisse mit P-Werten $\leq \alpha$ sind signifikant und Ergebnisse mit P-Werten $> 0,05$ und $\leq 0,1$ werden als Tendenz betrachtet.

3 ERGEBNISSE

3.1 VERHALTEN WÄHREND DER ISOLATION

3.1.1 LOKOMOTIONSVERHALTEN

Die Art der Isolation beeinflusste signifikant die Dauer ($F_{2,140} = 32,77$; $P < 0,001$) und die Latenz des Liegeverhaltens ($F_{2,127} = 7,88$; $P < 0,001$) sowie die Aktivitätsdauer ($F_{2,128} = 5,08$; $P < 0,01$) der Probanden während der Isolation. Tabelle 3.1 zeigt die Werte für die einzelnen Isolationsvarianten und die Ergebnisse der jeweiligen paarweisen Vergleiche. Probanden mit Isolationspartner lagen während der Isolationsprozedur signifikant länger als allein isolierte Tiere, wobei Ferkel mit bekanntem Isolationspartner die längste Liegedauer aufwiesen. Dementsprechend zeigten Tiere mit sozialer Unterstützung auch eine kürzere Latenz des Liegeverhaltens. Zudem hatten Ferkel mit bekanntem Isolationspartner gegenüber allein und mit unbekanntem Partner isolierten Tieren eine signifikant geringere Aktivitätsdauer.

Das Alter der Tiere hatte einen signifikanten Effekt auf die Liegelatenz ($F_{2,128} = 3,95$; $P < 0,05$) und die Aktivitätsdauer ($F_{2,129} = 3,48$; $P < 0,05$). Die Liegedauer wurde nicht signifikant vom Tieralter beeinflusst, jedoch lagen Ferkel mit bekanntem Isolationspartner in allen drei Altersgruppen länger als allein isolierte Tiere. Zusätzlich hatten 21 Tage alte Ferkel mit unbekanntem Partner eine längere Liegedauer als die gleichaltrigen Probanden, die allein isoliert waren (Abb. 3.1 A). Unabhängig von der Isolationsvariante legten sich 7 Tage alte Ferkel signifikant später nieder als die 21 Tage alten Tiere (Tabelle A.1). Zudem legten sich allein isolierte Ferkel vom 7. Lebenstag signifikant später nieder als die gleichaltrigen Tiere mit bekanntem Isolationspartner (Abb. 3.1 B). Die Aktivitätsdauer war bei 7 Tage alten Ferkeln tendenziell größer als bei den älteren Probanden (vs. 21. Tag: $t = 2,32$; $P = 0,06$; vs. 35. Tag: $t = 2,23$; $P = 0,07$; Abb. 3.1 C).

3 Ergebnisse

Tabelle 3.1: Einfluss der Isolationsvarianten auf die Dauer und Latenz des Liegeverhaltens sowie auf die Aktivitätsdauer während der Isolation (n = 54 pro Isolationsvariante). Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Effekte zwischen den Gruppen (a,b,c P < 0,05; Tukey-Kramer-Test); IB: Isolation mit bekanntem Partner, IU: Isolation mit unbekanntem Partner, IS: Isolation allein

Verhalten	Isolationsvariante		
	IB	IU	IS
Liegen			
Dauer (min)	201,3 ± 6,6 ^a	176,2 ± 6,7 ^b	127,2 ± 6,6 ^c
Latenz (s)	674,2 ± 126,2 ^a	845,9 ± 127,7 ^a	1299,7 ± 126,5 ^b
Aktivität			
Dauer (min)	29,1 ± 3,0 ^a	40,1 ± 3,0 ^b	38,5 ± 3,0 ^b

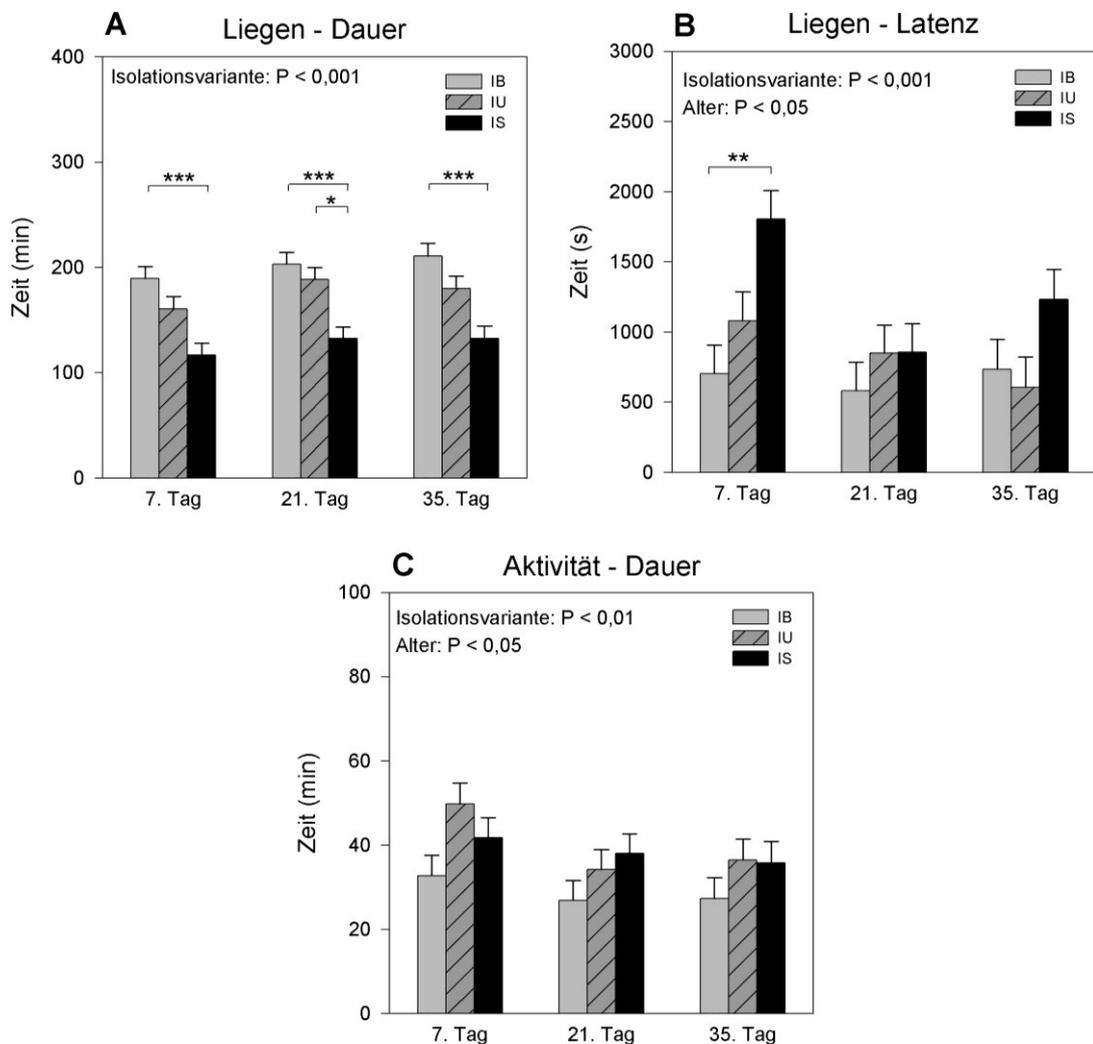


Abb. 3.1: Einfluss der Isolationsvarianten in Abhängigkeit vom Alter auf die Liegedauer (A) und Liegelatenz (B) sowie auf die Aktivitätsdauer (C) während der Isolation (n = 18 pro Isolationsvariante und Altersgruppe). Das Stern-Symbol kennzeichnet signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen (Tukey-Kramer-Test): * P < 0,05; ** P < 0,01; *** P < 0,001; IB: Isolation mit bekanntem Partner, IU: Isolation mit unbekanntem Partner, IS: Isolation allein

3.1.2 FLUCHTVERHALTEN

Die Isolationsvariante hatte einen signifikanten Einfluss auf die Dauer ($F_{2,130} = 7,64$; $P < 0,001$) und die Häufigkeit ($F_{2,128} = 9,59$; $P < 0,001$) der Fluchtversuche während der Isolationsprozedur. Tabelle 3.2 zeigt die Werte für die einzelnen Isolationsvarianten und die Ergebnisse der paarweisen Vergleichstests. Dabei konnte gezeigt werden, dass Ferkel mit sozialer Unterstützung kürzere (Abb. 3.2 A) und weniger auftretende Fluchtversuche aufwiesen als allein isolierte Probanden.

Das Alter beeinflusste die Latenz der Fluchtversuche signifikant ($F_{2,126} = 10,88$; $P < 0,001$), wobei 7 Tage alte Ferkel später zu flüchten versuchten als Tiere vom 21. und 35. Lebenstag (Tabelle A.1). Zusätzlich wiesen 7 Tage alte Ferkel mit bekanntem Isolationspartner eine geringere Häufigkeit der Fluchtversuche auf als die gleichaltrigen allein isolierten Tiere (Abb. 3.2 B). Die Latenz der Fluchtversuche wurde weder von der Isolationsvariante noch vom Alter der Ferkel signifikant beeinflusst (Abb. 3.2 C).

Tabelle 3.2: Einfluss der Isolationsvarianten auf die Dauer, Häufigkeit und Latenz der Fluchtversuche während der Isolation ($n = 54$ pro Isolationsvariante). Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Effekte zwischen den Gruppen ($^{a,b} P < 0,05$; Tukey-Kramer-Test); IB: Isolation mit bekanntem Partner, IU: Isolation mit unbekanntem Partner, IS: Isolation allein

Verhalten	Isolationsvariante		
	IB	IU	IS
Fluchtversuch			
Dauer (min)	$0,7 \pm 0,3^a$	$1,0 \pm 0,3^a$	$2,2 \pm 0,3^b$
Häufigkeit (Anzahl)	$11,4 \pm 4,4^a$	$16,4 \pm 4,5^a$	$36,8 \pm 4,4^b$
Latenz (s)	$4,2 \pm 0,4$	$4,9 \pm 0,4$	$4,8 \pm 0,4$

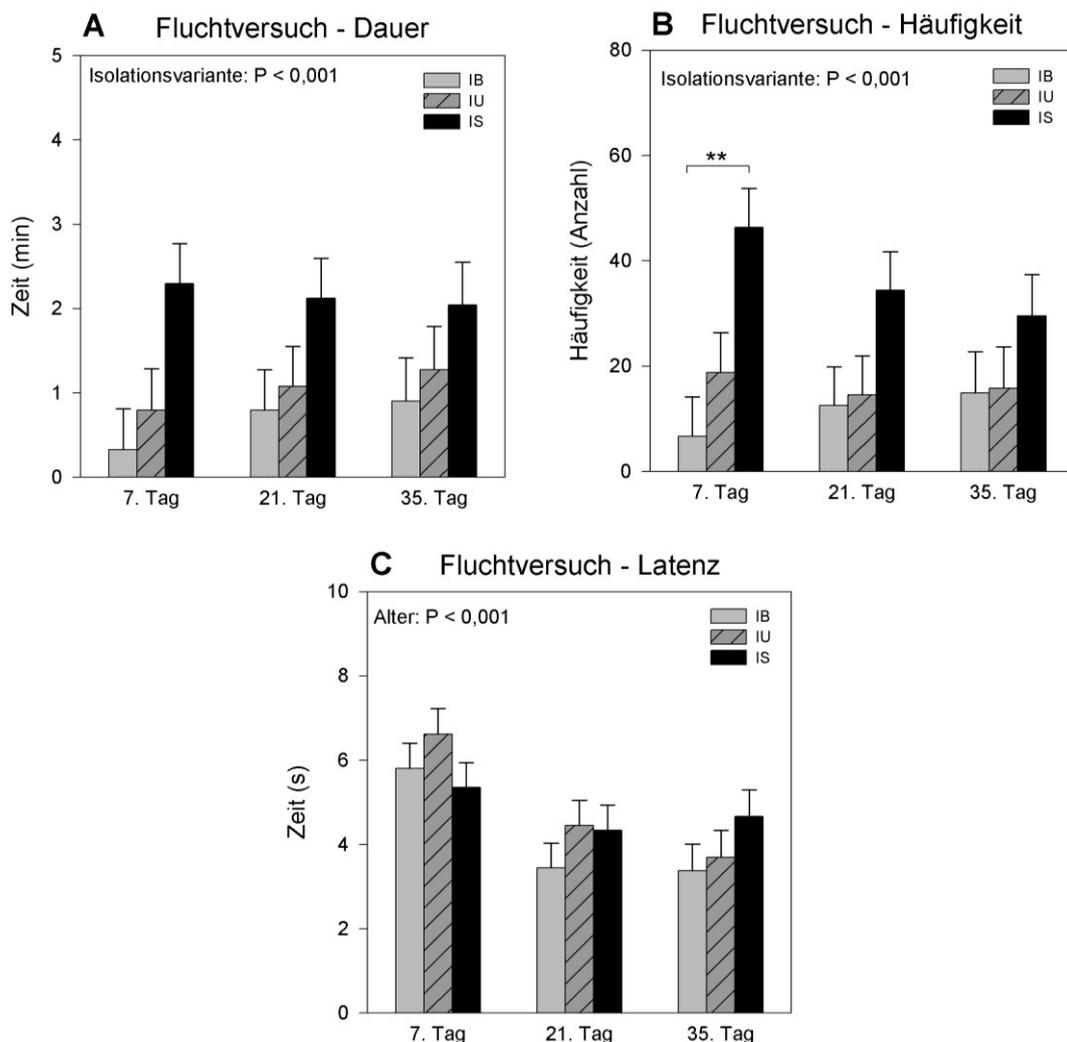


Abb. 3.2: Einfluss der Isolationsvarianten in Abhängigkeit vom Alter auf Dauer (A), Häufigkeit (B) und Latenz (C) der Fluchtversuche während der Isolation ($n = 18$ pro Isolationsvariante und Altersgruppe). Das Stern-Symbol kennzeichnet signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen (Tukey-Kramer-Test): ** $P < 0,01$; IB: Isolation mit bekanntem Partner, IU: Isolation mit unbekanntem Partner, IS: Isolation allein

3.1.3 RÜCKZUGSVERHALTEN

Die Isolationsart beeinflusste während der Isolation die Dauer ($F_{2,140} = 24,36$, $P < 0,001$), die Häufigkeit ($F_{2,127} = 12,82$; $P < 0,001$) und auch die Latenz ($F_{2,140} = 12,77$; $P < 0,001$) des Rückzugsverhaltens signifikant. Wie die paarweisen Vergleiche in Tabelle 3.3 zeigen, betraten allein isolierte Tiere öfter den Gitter abgewandten Boxenteil, hielten sich länger dort auf und zogen sich auch schneller in diesen Bereich zurück als die Tiere mit sozialer Unterstützung. Zudem betraten Ferkel mit bekanntem Isolationspartner tendenziell später diesen Boxenbereich als isolierte Ferkel mit unbekanntem Partner ($t = 2,13$; $P = 0,09$).

Das Alter der Ferkel hatte einen signifikanten Effekt auf die Rückzugslatenz der Tiere ($F_{2,140} = 8,60$; $P < 0,001$). Die 35 Tage alten Ferkel betraten den Gitter abgewandten Boxenbereich signifikant früher als die Tiere vom 7. Tag und 21. Tag (Tabelle A.1). Zudem wurde nachgewiesen, dass sich die allein isolierten Tiere in allen Altersgruppen signifikant länger im Gitter abgewandten Boxenteil aufhielten als die jeweils gleichaltrigen Ferkel mit bekanntem Isolationspartner. Bei 35 Tage alten, allein isolierten Probanden war die Rückzugsdauer größer als bei den gleichaltrigen Tieren, welche mit unbekanntem Partner isoliert wurden (Abb. 3.3 A). Bei 7 und 21 Tage alten Ferkeln konnte festgestellt werden, dass sich die allein isolierten Tiere in der Tendenz häufiger im Gitter abgewandten Boxenteil aufhielten als die jeweils gleichaltrigen Probanden mit bekanntem Isolationspartner (7. Tag: $t = 3,09$; $P = 0,06$; 21. Tag: $t = 3,12$; $P = 0,05$; Abb. 3.3 B). Zusätzlich zogen sich 7 Tage alte Ferkel, welche mit bekanntem Partner isoliert waren, später in den Gitter abgewandten Boxenbereich zurück als die gleichaltrigen allein bzw. mit unbekanntem Partner isolierten Tiere ($t = 2,98$; $P < 0,1$; Abb. 3.3 C).

Tabelle 3.3: Einfluss der Isolationsvarianten auf die Rückzugsdauer, die Rückzugshäufigkeit und die Rückzugslatenz während der Isolation ($n = 54$ pro Isolationsvariante). Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Effekte zwischen den Gruppen ($^{a,b} P < 0,05$; Tukey-Kramer-Test); IB: Isolation mit bekanntem Partner, IU: Isolation mit unbekanntem Partner, IS: Isolation allein

Verhalten	Isolationsvariante		
	IB	IU	IS
Rückzug			
Dauer (min)	$11,7 \pm 4,5^a$	$19,6 \pm 4,5^a$	$53,3 \pm 4,5^b$
Häufigkeit (Anzahl)	$27,8 \pm 6,5^a$	$45,9 \pm 6,5^a$	$70,8 \pm 6,5^b$
Latenz (s)	$4,6 \pm 0,2^a$	$3,9 \pm 0,2^a$	$3,0 \pm 0,2^b$

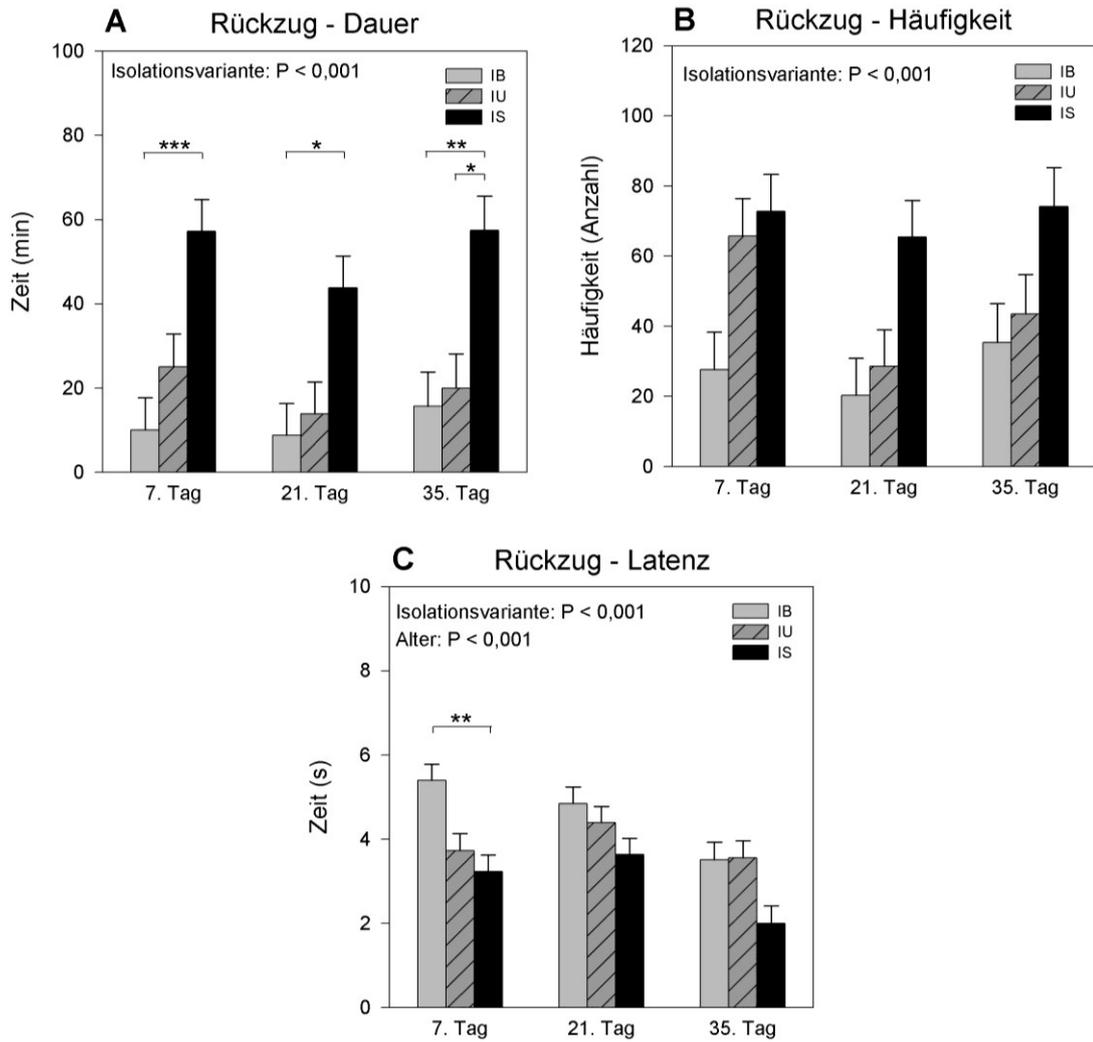


Abb. 3.3: Einfluss der Isolationsvarianten in Abhängigkeit vom Alter auf die Rückzugsdauer (A), die Rückzugshäufigkeit (B) und die Rückzugslatenz (C) während der Isolation ($n = 18$ pro Isolationsvariante und Altersgruppe). Das Stern-Symbol kennzeichnet signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen (Tukey-Kramer-Test): * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$; IB: Isolation mit bekanntem Partner, IU: Isolation mit unbekanntem Partner, IS: Isolation allein

3.1.4 SOZIALVERHALTEN

Die Isolationsvariante hatte einen signifikanten Einfluss auf die Häufigkeit des Sozialkontaktes während der Isolation ($F_{1,80} = 3,87$; $P < 0,05$), wobei Probanden mit unbekanntem Isolationspartner häufiger Kontakt zu ihrem sozialen Gefährten aufnahmen als Ferkel mit bekanntem Partner (Tabelle 3.4).

Das Alter der Ferkel beeinflusste die Dauer des Sozialkontaktes signifikant ($F_{2,91} = 3,97$; $P < 0,05$). Sieben Tage alte Ferkel wiesen dabei kürzeren Kontakt zu ihren Sozialpartnern auf als 21 Tage alte Probanden (Tabelle A.1; Abb. 3.4 A). Die Häufigkeit (Abb. 3.4 B) und die Latenz (Abb. 3.4 C) des Sozialkontaktes waren nicht altersabhängig.

Tabelle 3.4: Einfluss der Isolationsvarianten auf die Dauer, Häufigkeit und Latenz des Sozialkontaktes während der Isolation ($n = 54$ pro Isolationsvariante). Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Effekte zwischen den Gruppen (^{a,b} $P < 0,05$; Tukey-Kramer-Test); IB: Isolation mit bekanntem Partner, IU: Isolation mit unbekanntem Partner, IS: Isolation allein

Verhalten	Isolationsvariante		
	IB	IU	IS
Sozialkontakt			
Dauer (min)	109,3 ± 6,7	98,9 ± 6,8	—
Häufigkeit (Anzahl)	80,9 ± 7,1 ^a	97,4 ± 7,1 ^b	—
Latenz (s)	2,6 ± 0,2	2,9 ± 0,2	—

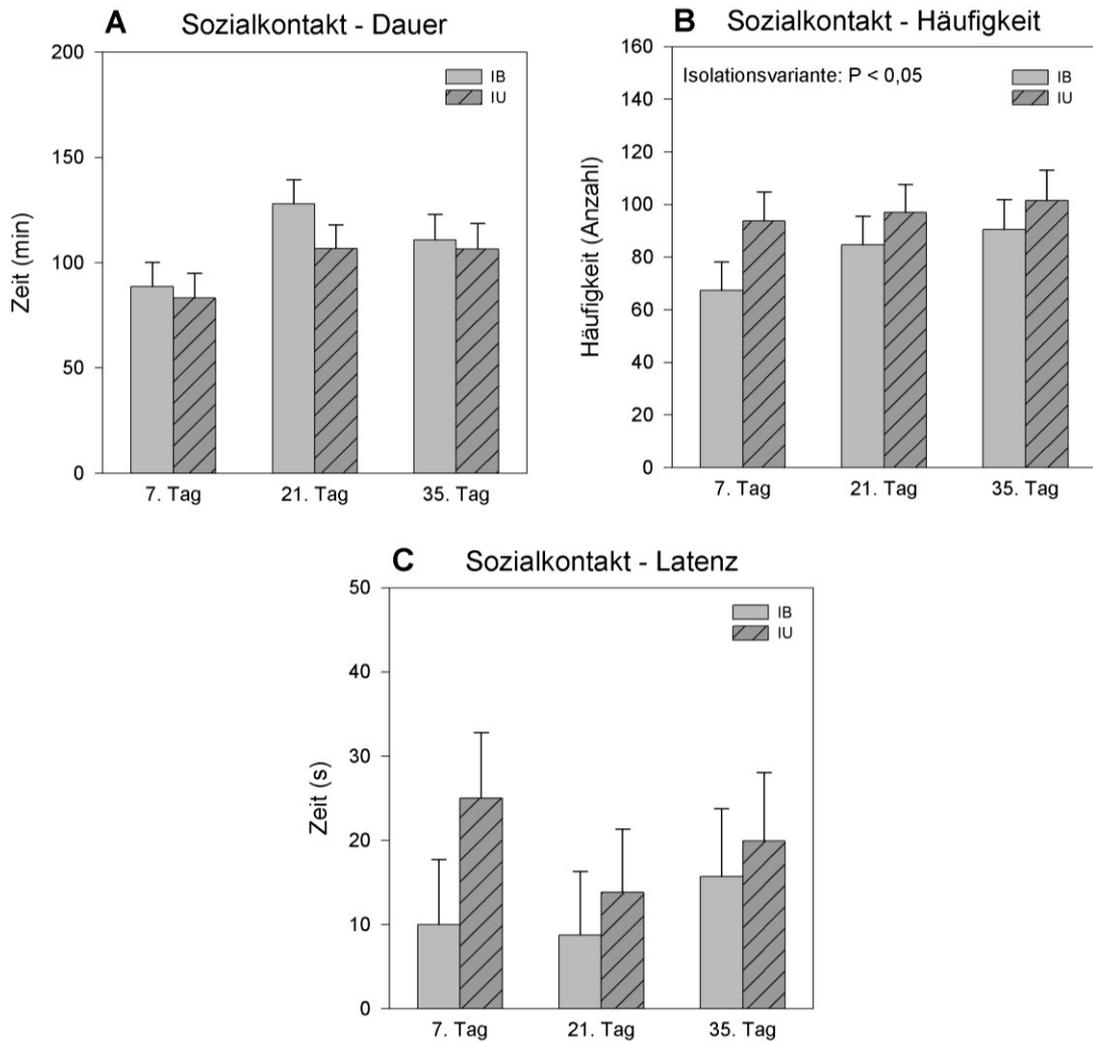


Abb. 3.4: Einfluss der Isolationsvarianten in Abhängigkeit vom Alter auf die Dauer (A), die Häufigkeit (B) und die Latenz (C) des Sozialkontaktes während der Isolation ($n = 18$ pro Isolationsvariante und Altersgruppe). IB: Isolation mit bekanntem Partner, IU: Isolation mit unbekanntem Partner

3.2 VERHALTEN IM „OPEN-FIELD“/„NOVEL-OBJECT“-TEST

3.2.1 VERHALTEN VOR DER BEHANDLUNG

Vor der Behandlung hatte die Behandlungsgruppe keinen signifikanten Effekt auf das Verhalten der Probanden während des „open-field“/„novel-object“-Tests (Tabelle A.2). Jedoch gab es einen Alterseffekt vor der Behandlung auf folgende Verhaltensparameter: Lokomotion (Dauer: $F_{2,177} = 7,95$; $P < 0,001$; Häufigkeit: $F_{2,131} = 14,51$; $P < 0,001$), Stehen/Sitzen (Dauer: $F_{2,179} = 5,83$; $P < 0,01$; Häufigkeit: $F_{2,164} = 4,73$; $P < 0,05$), Flucht (Dauer: $F_{2,179} = 6,80$; $P < 0,01$; Häufigkeit: $F_{2,175} = 8,14$; $P < 0,001$; Latenz: $F_{2,180} = 5,29$; $P < 0,01$), Vokalisation (Dauer: $F_{2,178} = 3,60$; $P < 0,05$; Häufigkeit: $F_{2,167} = 13,51$; $P < 0,001$) und Objektkontakt (Häufigkeit: $F_{2,166} = 4,73$; $P < 0,05$; Latenz: $F_{2,186} = 6,94$; $P < 0,01$). In Tabelle 3.5 sind die Werte für die einzelnen Altersgruppen und die Ergebnisse der jeweiligen paarweisen Vergleiche dargestellt. Unabhängig von einer Behandlung wiesen 7 Tage alte Tiere in dem verwendeten Verhaltenstest eine signifikant längere Lokomotionsdauer und dementsprechend eine kürzere Steh- und Sitzdauer als die beiden älteren Probandengruppen auf. Die Lokomotionshäufigkeit war sowohl bei 7 Tage als auch bei 21 Tage alten Ferkeln größer als bei Tieren vom 35. Lebenstag. Des Weiteren versuchten 7 Tage und 21 Tage alte Ferkel länger und öfter zu flüchten als die 35 Tage alten Probanden. Tiere vom 21. Lebenstag zeigten jedoch gegenüber den 7 Tage und 35 Tage alten Ferkeln eine geringere Fluchtlatenz. Die Vokalisation und die Objektkontakthäufigkeit waren bei 7 Tage und 21 Tage alten Probanden gegenüber den älteren Tieren signifikant erhöht. Ferkel der jüngsten Altersgruppe brauchten, im Vergleich zu 21 Tage und 35 Tage alten Tieren, zudem mehr Zeit bis sie erstmaligen Kontakt mit dem „novel-object“ aufnahmen.

3 Ergebnisse

Tabelle 3.5: Einfluss des Alters auf die Dauer, Häufigkeit und Latenz von Verhaltensparametern im „open-field“/„novel-object“-Test vor der Behandlung (n = 72 pro Altersgruppe). Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Effekte zwischen den Gruppen (^{a,b,c} P < 0,05; Tukey-Kramer-Test)

Verhalten	Alter		
	7. Tag	21. Tag	35. Tag
Lokomotion			
Dauer (s)	262,7 ± 9,7 ^a	225,1 ± 9,6 ^b	229,1 ± 9,9 ^b
Häufigkeit (Anzahl)	56,4 ± 1,9 ^a	53,7 ± 1,9 ^a	46,5 ± 1,9 ^b
Latenz (s)	9,9 ± 1,4	9,5 ± 1,4	10,6 ± 1,5
Stehen/Sitzen			
Dauer (s)	191,9 ± 9,5 ^a	222,9 ± 9,5 ^b	232,6 ± 9,8 ^b
Häufigkeit (Anzahl)	63,4 ± 2,9 ^a	72,0 ± 2,9 ^b	64,0 ± 3,0 ^a
Exkretion			
Dauer (s)	22,7 ± 3,3	27,1 ± 3,3	24,7 ± 3,4
Häufigkeit (Anzahl)	2,8 ± 0,5	3,7 ± 0,5	3,1 ± 0,5
Latenz (s)	263,5 ± 29,5	253,7 ± 29,3	261,9 ± 30,2
Flucht			
Dauer (s)	28,2 ± 2,8 ^a	31,3 ± 2,8 ^a	19,7 ± 2,8 ^b
Häufigkeit (Anzahl)	11,8 ± 0,9 ^a	13,8 ± 0,9 ^a	9,4 ± 0,9 ^b
Latenz (s)	115,6 ± 10,9 ^a	70,0 ± 10,8 ^b	107,5 ± 11,2 ^a
Vokalisation			
Dauer (s)	415,1 ± 10,3 ^a	402,7 ± 10,3	379,8 ± 10,7 ^b
Häufigkeit (Anzahl)	108,2 ± 3,2 ^a	117,5 ± 3,2 ^b	99,5 ± 3,3 ^c
Latenz (s)	8,3 ± 1,2	6,2 ± 1,2	8,0 ± 1,3
Objektkontakt			
Dauer (s)	29,8 ± 2,8	29,9 ± 2,9	30,2 ± 2,9
Häufigkeit (Anzahl)	8,8 ± 0,4 ^a	9,3 ± 0,4 ^a	7,6 ± 0,4 ^b
Latenz (s)	439,4 ± 2,3 ^a	427,9 ± 2,3 ^b	430,3 ± 2,4 ^b

3.2.2 VERHALTENSÄNDERUNG NACH DER BEHANDLUNG

Lokomotion. Die Art der Behandlung verursachte Unterschiede im Verhalten der Probanden in den „open-field“/„novel-object“-Tests. Sowohl die Änderung (Ergebnisse nach der Behandlung minus vor der Behandlung) der Lokomotionsdauer ($F_{3,171} = 5,10$; $P < 0,01$) als auch die Änderung der Dauer von Stehen/Sitzen ($F_{3,169} = 5,74$; $P < 0,001$) wurden von der Behandlung signifikant beeinflusst. Die Tabelle 3.6 zeigt die Ergebnisse der paarweisen Vergleiche. Durch den wiederholten Verhaltenstest kam es bei allen Probanden zu einer Habituationsreaktion, d.h. einer Abnahme des Lokomotionsverhaltens und dementsprechend zu einer Zunahme der Verhaltensweise Stehen/Sitzen. Die Abnahme der Lokomotion war bei Kontrolltieren und Ferkeln mit bekanntem Isolationspartner deutlich ausgeprägter als bei allein isolierten Tieren (Abb. 5A). Demzufolge war die Zunahme der Steh-/Sitzdauer bei allein isolierten Tieren signifikant geringer als bei Kontrolltieren und Ferkeln mit bekanntem Partner. Des Weiteren

zeigten auch die Ferkel mit unbekanntem Partner eine geringere Zunahme der Steh-/Sitzdauer im Vergleich zu den Kontrollen.

Tabelle 3.6: Einfluss der Behandlung auf die Änderung der Lokomotions- und Steh-/Sitzdauer in den „open-field“/„novel-object“-Tests (n = 54 pro Behandlungsvariante). Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Effekte zwischen den Gruppen (^{a,b,c} P < 0,05; Tukey-Kramer-Test); K: Kontrolle, IB: Isolation mit bekanntem Partner, IU: Isolation mit unbekanntem Partner, IS: Isolation allein

Verhalten	Behandlungsvariante			
	K	IB	IU	IS
Lokomotion Dauer (s)	-114,9 ± 12,4 ^a	-119,8 ± 12,1 ^a	-92,9 ± 12,2	-72,6 ± 12,2 ^b
Stehen/Sitzen Dauer (s)	148,1 ± 13,8 ^a	137,0 ± 13,8 ^{a,b}	100,8 ± 13,8 ^{b,c}	83,8 ± 13,9 ^c

Die Änderung der Lokomotionsdauer wurde nicht vom Alter der Ferkel beeinflusst (Abb. 3.5 A). Jedoch war die Änderung der Steh-/Sitzdauer signifikant altersabhängig ($F_{2,174} = 3,30$; $P < 0,05$), wobei 7 Tage alte Ferkel eine geringere Zunahme von Stehen/Sitzen aufwiesen als Tiere vom 21. Lebenstag (Tabelle A.3; Abb. 3.5 B).

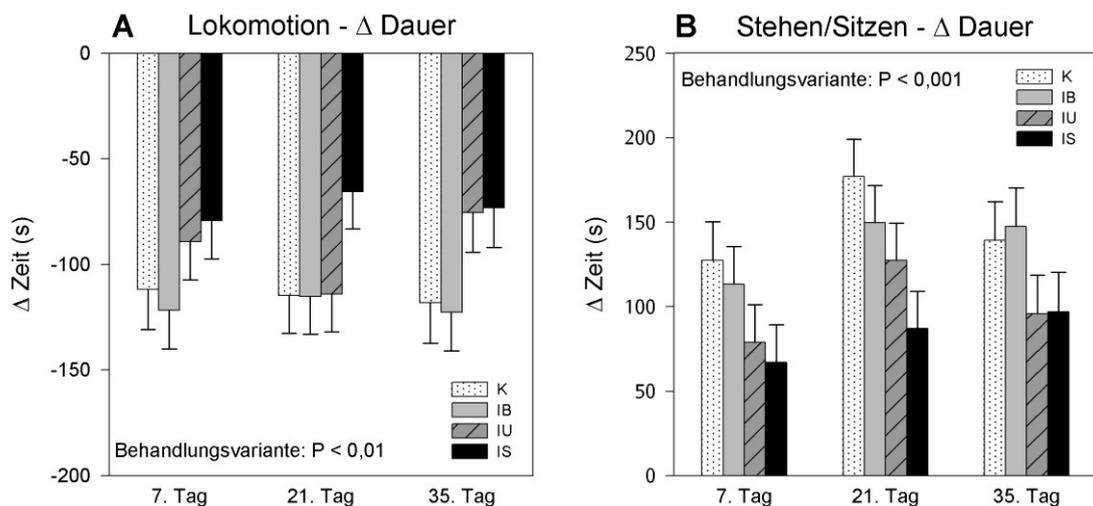


Abb. 3.5: Einfluss der Behandlungsvarianten in Abhängigkeit vom Alter auf die Änderung der Lokomotions- (A) und Steh-/Sitzdauer (B) in den „open-field“/„novel-object“-Tests (n = 18 pro Behandlungsvariante und Altersgruppe). K: Kontrolle, IB: Isolation mit bekanntem Partner, IU: Isolation mit unbekanntem Partner, IS: Isolation allein

Exkretion. Durch die Behandlungsvariante wurde die Änderung der Exkretionshäufigkeit ($F_{3,108} = 3,39$; $P < 0,05$) und die Änderung der Exkretionslatenz ($F_{3,175} = 5,65$; $P < 0,001$) signifikant beeinflusst. Wie die paarweisen Vergleiche in Tabelle 3.7 zeigen, war die Abnahme der Exkretion bei allein isolierten Tieren ausgeprägter als bei den Kontrolltieren. Zudem wiesen Kontrolltiere und Ferkel mit bekanntem Partner eine geringere Zunahme der Exkretionslatenz auf, verglichen mit allein und mit unbekanntem Partner isolierten Tieren.

Tabelle 3.7: Einfluss der Behandlung auf die Änderung der Exkretionshäufigkeit und Exkretionslatenz in den „open-field“/„novel-object“-Tests ($n = 54$ pro Behandlungsvariante). Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Effekte zwischen den Gruppen (a,b,c $P < 0,05$; Tukey-Kramer-Test); K: Kontrolle, IB: Isolation mit bekanntem Partner, IU: Isolation mit unbekanntem Partner, IS: Isolation allein

Verhalten	Behandlungsvariante			
	K	IB	IU	IS
Exkretion				
Häufigkeit (Anzahl)	$-0,9 \pm 0,4^a$	$-1,6 \pm 0,5$	$-2,0 \pm 0,5$	$-2,7 \pm 0,5^b$
Latenz (s)	$29,1 \pm 39,1^a$	$17,6 \pm 38,5^a$	$149,3 \pm 38,6^b$	$165,5 \pm 38,7^b$

Während sich kein Alterseffekt auf die Änderung der Exkretionshäufigkeit zeigte, beeinflusste das Alter der Ferkel die Änderung der Exkretionslatenz signifikant ($F_{2,173} = 5,60$; $P < 0,01$). Im Vergleich zu 7 Tage alten Ferkeln war die Zeit bis zur ersten Exkretion im „open-field“/„novel-object“-Test bei 21 Tage und 35 Tage alten Tieren signifikant geringer (Tabelle A.3; Abb. 3.6 B).

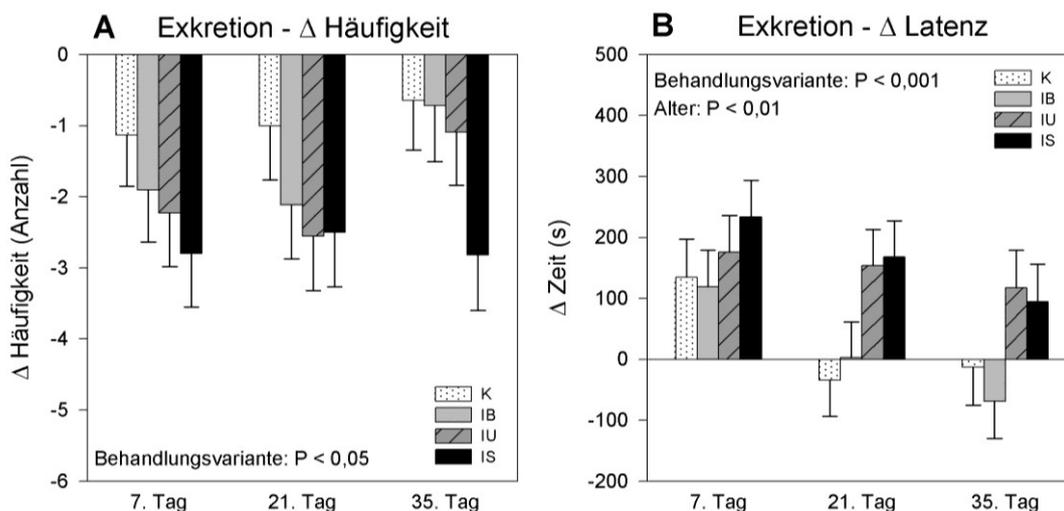


Abb. 3.6: Einfluss der Behandlungsvarianten in Abhängigkeit vom Alter auf die Änderung der Exkretionshäufigkeit (A) und Exkretionslatenz (B) in den „open-field“/„novel-object“-Tests ($n = 18$ pro Behandlungsvariante und Altersgruppe). K: Kontrolle, IB: Isolation mit bekanntem Partner, IU: Isolation mit unbekanntem Partner, IS: Isolation allein

Fluchtverhalten. Die Behandlungsvariante hatte einen signifikanten Effekt auf die Änderung der Fluchtdauer ($F_{3,182} = 6,69$; $P < 0,001$), der Fluchthäufigkeit ($F_{3,181} = 7,22$; $P < 0,001$) und der Fluchtlatenz ($F_{3,182} = 8,98$, $P < 0,001$). Die Tabelle 3.8 zeigt die Werte für die einzelnen Behandlungsvarianten. Durch Tukey-Kramer-Tests konnte ermittelt werden, dass Ferkel, die allein oder mit einem unbekanntem Partner isoliert wurden, eine geringere Abnahme des Fluchtverhaltens zeigten als die Kontrolltiere.

Das Alter der Ferkel beeinflusste ebenfalls signifikant die Änderung der Fluchtdauer ($F_{2,175} = 10,36$; $P < 0,001$), der Fluchthäufigkeit ($F_{2,174} = 11,29$; $P < 0,001$) und der Fluchtlatenz ($F_{2,179} = 3,23$, $P < 0,05$). Bei Ferkeln vom 7. Lebenstag war die Abnahme des Fluchtverhaltens signifikant geringer im Vergleich zu 21 Tage und 35 Tage alten Tieren (Tabelle A.3). Dementsprechend wiesen 7 Tage alte Tiere eine geringere Zunahme der Fluchtlatenz auf als die 21 Tage alten Probanden. Zudem konnte gezeigt werden, dass 7 Tage alte, allein und mit unbekanntem Partner isolierte Tiere eine signifikant geringere Abnahme des Fluchtverhaltens (Dauer und Häufigkeit) aufwiesen als die gleichaltrigen Kontrollferkel (Abb. 3.7 A/B). Im Vergleich zu den jeweiligen Kontrolltieren trat bei Ferkeln mit unbekanntem Isolationspartner am 7. und 35. Lebenstag eine geringere Zunahme der Fluchtlatenz auf (7. Tag: $t = 3,16$; $P < 0,1$; 35. Tag: $t = 3,53$; $P < 0,05$; Abb. 3.7 C).

3 Ergebnisse

Tabelle 3.8: Einfluss der Behandlung auf die Änderung der Fluchtdauer, -häufigkeit und -latenz in den „open-field“/„novel-object“-Tests (n = 54 pro Behandlungsvariante). Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Effekte zwischen den Gruppen (^{a,b} P < 0,05; Tukey-Kramer-Test); K: Kontrolle, IB: Isolation mit bekanntem Partner, IU: Isolation mit unbekanntem Partner, IS: Isolation allein

Verhalten	Behandlungsvariante			
	K	IB	IU	IS
Flucht				
Dauer (s)	-21,4 ± 3,9 ^a	-9,6 ± 3,8	-0,6 ± 3,8 ^b	-2,2 ± 3,8 ^b
Häufigkeit (Anzahl)	-8,8 ± 1,1 ^a	-5,1 ± 1,1	-3,2 ± 1,1 ^b	-2,2 ± 1,1 ^b
Latenz (s)	250,8 ± 29,6 ^a	160,4 ± 29,3	68,4 ± 29,3 ^b	101,3 ± 29,3 ^b

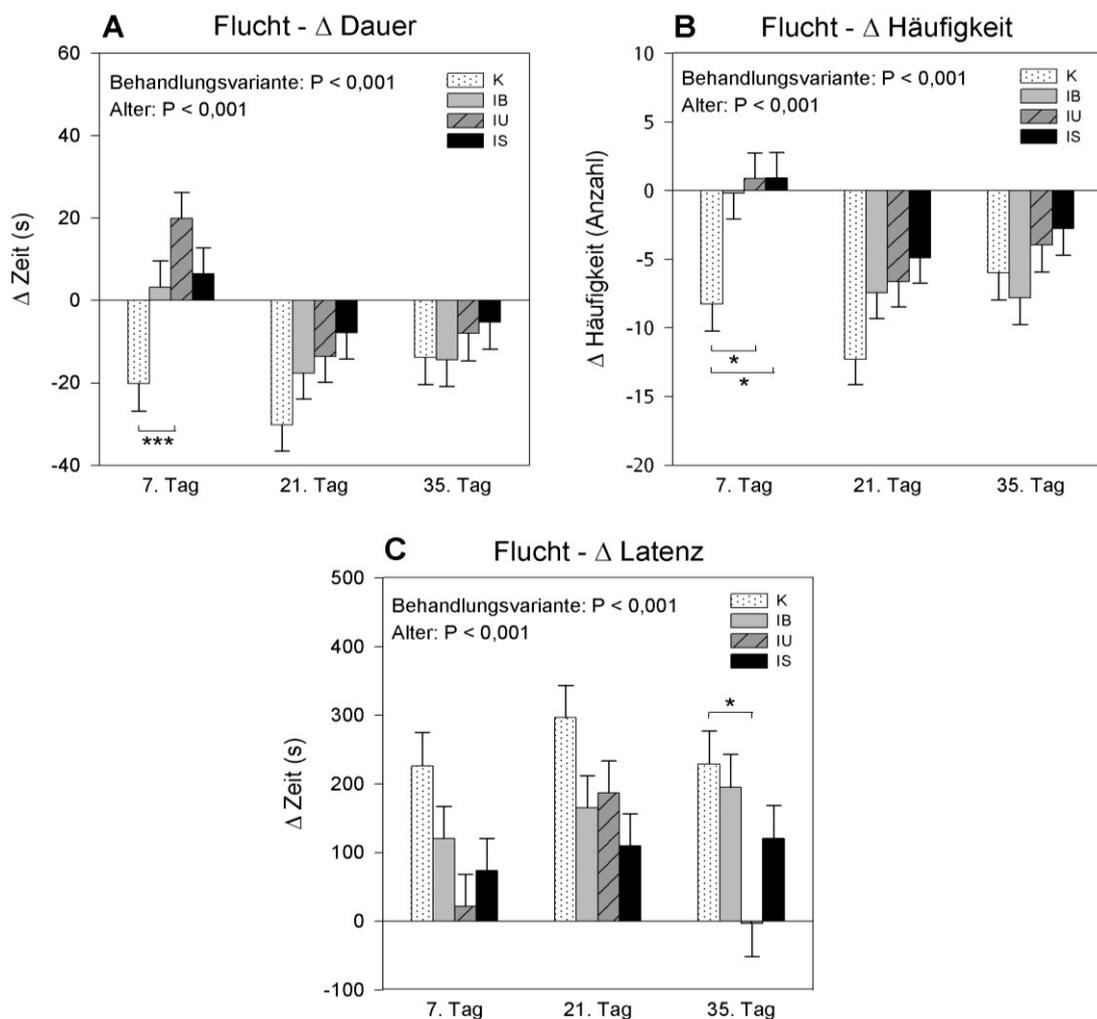


Abb. 3.7: Einfluss der Behandlungsvarianten in Abhängigkeit vom Alter auf die Änderung der Fluchtdauer (A), Fluchthäufigkeit (B) und Fluchtlatenz (C) in den „open-field“/„novel-object“-Tests (n = 18 pro Behandlungsvariante und Altersgruppe). Das Stern-Symbol kennzeichnet signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen (Tukey-Kramer-Test): * P < 0,05; *** P < 0,001; K: Kontrolle, IB: Isolation mit bekanntem Partner, IU: Isolation mit unbekanntem Partner, IS: Isolation allein

Vokalisation. Sowohl die Änderung der Vokalisationsdauer ($F_{3,166} = 4,82$; $P < 0,01$) als auch die Änderung der Vokalisationshäufigkeit ($F_{3,181} = 5,17$; $P < 0,01$) wurden von der Behandlung signifikant beeinflusst. Tabelle 3.9 zeigt die Werte für die einzelnen Behandlungsvarianten und die Ergebnisse der paarweisen Vergleiche. Ferkel mit bekanntem Isolationspartner hatten eine signifikant größere Abnahme der Vokalisationsdauer als allein und mit unbekanntem Partner isolierte Tiere. Weiterhin zeigten Ferkel mit unbekanntem Isolationspartner eine geringere Abnahme der Vokalisationshäufigkeit verglichen mit Kontrolltieren und Probanden mit bekanntem Partner.

Tabelle 3.9: Einfluss der Behandlung auf die Änderung der Vokalisationsdauer und -häufigkeit in den „open-field“/„novel-object“-Tests ($n = 54$ pro Behandlungsvariante). Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Effekte zwischen den Gruppen (^{a,b} $P < 0,05$; Tukey-Kramer-Test); K: Kontrolle, IB: Isolation mit bekanntem Partner, IU: Isolation mit unbekanntem Partner, IS: Isolation allein

Verhalten	Behandlungsvariante			
	K	IB	IU	IS
Vokalisation				
Dauer (s)	-149,9 ± 15,5	-169,3 ± 15,8 ^a	-112,8 ± 15,7 ^b	-106,9 ± 15,9 ^b
Häufigkeit (Anzahl)	-32,1 ± 4,5 ^a	-27,1 ± 4,5 ^a	-11,0 ± 4,5 ^b	-19,0 ± 4,5

Auch das Alter der Ferkel zeigte einen signifikanten Effekt auf die Änderung der Vokalisationsdauer ($F_{2,177} = 4,33$; $P < 0,05$) und Vokalisationshäufigkeit ($F_{2,176} = 5,36$; $P < 0,01$). Die 7 Tage alten Ferkel wiesen, im Vergleich zu 21 Tage alten Tieren, eine geringere Abnahme der Vokalisationsdauer (Abb. 3.8 A) und Vokalisationshäufigkeit auf (Tabelle A.3; Abb. 3.8 B).

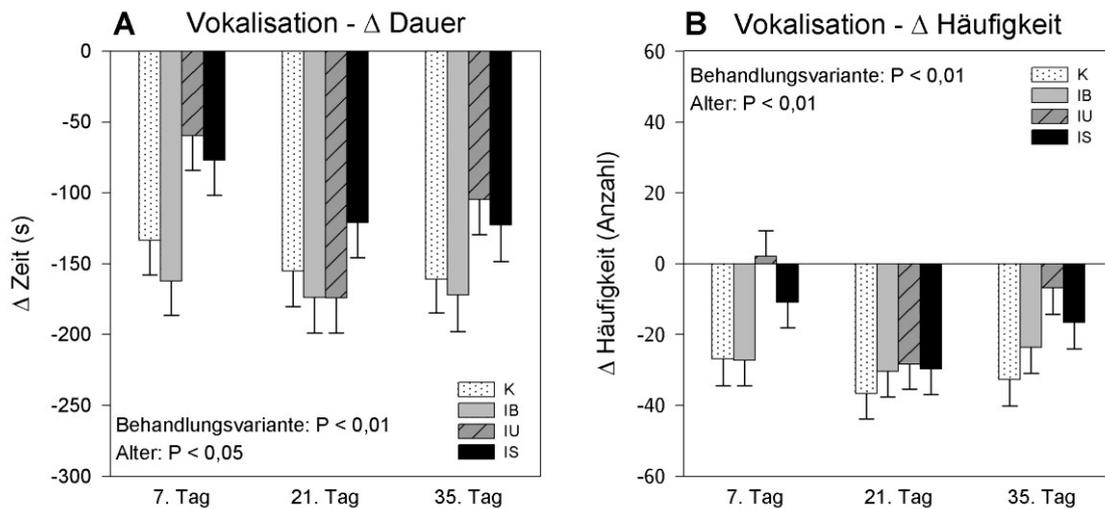


Abb. 3.8: Einfluss der Behandlungsvarianten in Abhängigkeit vom Alter auf die Änderung der Vokalisationsdauer (A) und Vokalisationshäufigkeit (B) in den „open-field“/„novel-object“-Tests (n = 18 pro Behandlungsvariante und Altersgruppe). K: Kontrolle, IB: Isolation mit bekanntem Partner, IU: Isolation mit unbekanntem Partner, IS: Isolation allein

Objektkontakt. Weder die Änderung der Dauer noch die Änderung der Latenz des Objektkontaktes wurden von der Behandlungsvariante beeinflusst. Die Behandlung hatte jedoch einen signifikanten Effekt auf die Änderung der Häufigkeit, mit der das „novel-object“ kontaktiert wurde ($F_{3,173} = 2,66$; $P < 0,05$). Die Tabelle 3.10 zeigt die Werte für die einzelnen Behandlungsvarianten. Durch paarweise Vergleiche konnten keine signifikanten Unterschiede im Objektkontaktverhalten zwischen den Gruppen ermittelt werden.

Tabelle 3.10: Einfluss der Behandlung auf die Änderung der Objektkontaktdauer, -häufigkeit und -latenz in den „open-field“/„novel-object“-Tests (n = 54 pro Behandlungsvariante). K: Kontrolle, IB: Isolation mit bekanntem Partner, IU: Isolation mit unbekanntem Partner, IS: Isolation allein

Verhalten	Behandlungsvariante			
	K	IB	IU	IS
Objektkontakt				
Dauer (s)	$-2,1 \pm 4,2$	$-5,1 \pm 4,1$	$3,6 \pm 4,1$	$6,5 \pm 4,1$
Häufigkeit (Anzahl)	$-2,7 \pm 0,7$	$-3,1 \pm 0,7$	$-1,0 \pm 0,7$	$-0,9 \pm 0,7$
Latenz (s)	$27,7 \pm 8,5$	$22,8 \pm 8,3$	$11,0 \pm 8,3$	$23,6 \pm 8,3$

Das Alter hatte einen signifikanten Einfluss auf die Änderung der Objektkontaktdauer ($F_{2,179} = 8,68$; $P < 0,001$) und auf die Änderung der Objektkontakthäufigkeit ($F_{2,179} = 8,81$; $P < 0,001$). Die Änderung der Latenz des Objektkontaktes war nicht altersabhängig (Abb. 3.9 C). Die paarweisen Vergleiche in Tabelle A.3 zeigen, dass 21 Tage alte Probanden eine größere Abnahme der Objektkontaktdauer (vs. 35. Tag: $t = 2,29$; $P < 0,1$; Abb. 3.9 A) und Objektkontakthäufigkeit (Abb. 3.9 B) aufwiesen als 7 Tage und 35 Tage alte Tiere.

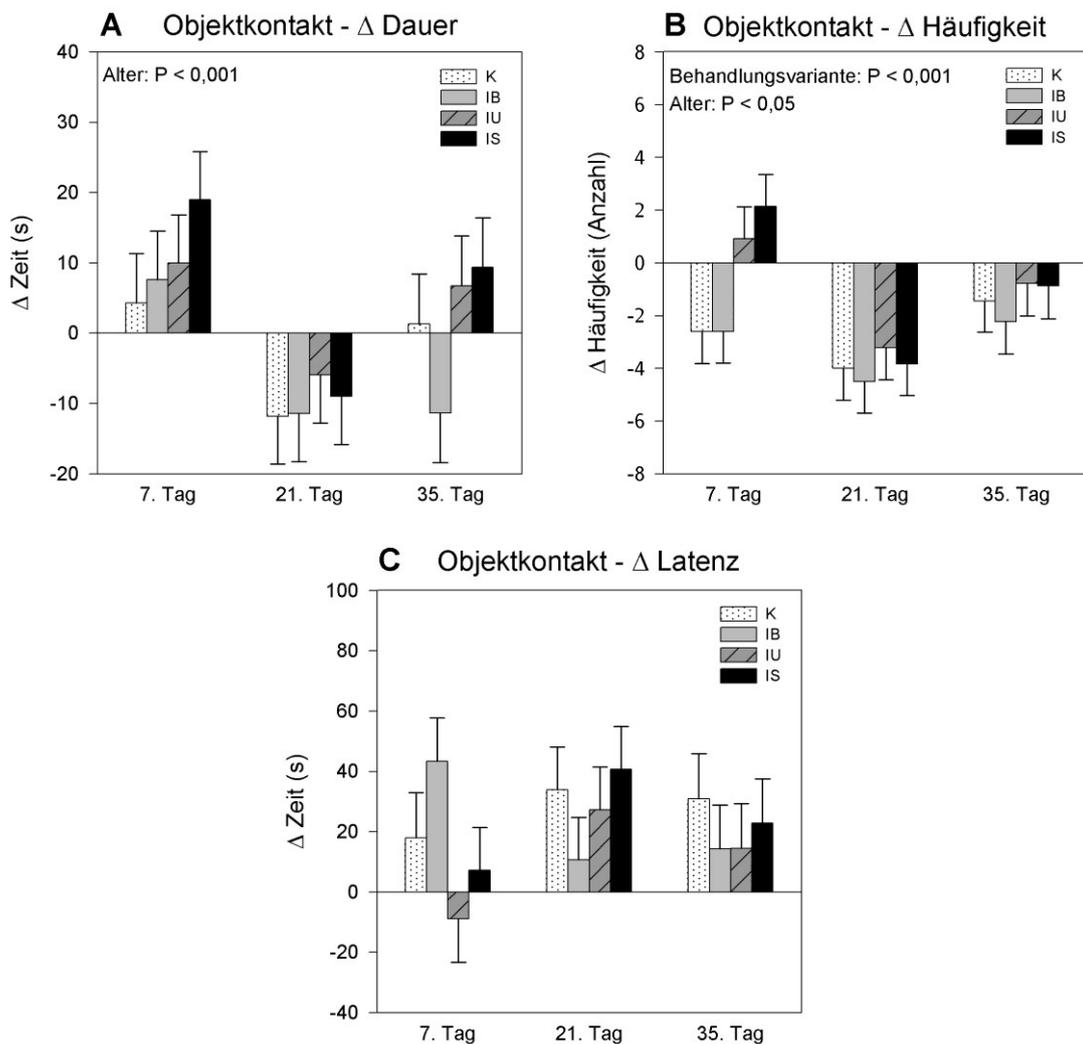


Abb. 3.9: Einfluss der Behandlungsvarianten in Abhängigkeit vom Alter auf die Änderung der Objektkontaktdauer (A), -häufigkeit (B) und -latenz (C) in den „open-field“/„novel-object“-Tests ($n = 18$ pro Behandlungsvariante und Altersgruppe). K: Kontrolle, IB: Isolation mit bekanntem Partner, IU: Isolation mit unbekanntem Partner, IS: Isolation allein

3.3 HORMONELLE UNTERSUCHUNGEN

3.3.1 STRESSHORMONE VOR DER BEHANDLUNG

Die basalen ACTH-, Cortisol- und CBG-Konzentrationen im Plasma sowie der FCI unterschieden sich vor der Behandlung nicht signifikant zwischen den Behandlungsvarianten (Tabelle A.4). Ein Alterseffekt wurde nur für die CBG-Konzentrationen nachgewiesen ($F_{2,176} = 18,15$; $P < 0,001$). Tabelle 3.11 zeigt die Konzentrationen für die einzelnen Altersgruppen und die Ergebnisse der paarweisen Vergleiche. Mittels Tukey-Kramer-Tests wurde festgestellt, dass die CBG-Konzentration vom 7. Tag zum 35. Tag signifikant anstieg.

Tabelle 3.11: Einfluss des Alters auf die ACTH-, Cortisol- und CBG-Konzentrationen sowie den FCI vor der Behandlung ($n = 72$ pro Altersgruppe). Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Effekte zwischen den Gruppen ($^{a,b,c} P < 0,05$; Tukey-Kramer-Test).

Stresshormon	Alter		
	7. Tag	21. Tag	35. Tag
ACTH (pg/ml)	33,3 ± 3,1	39,2 ± 2,7	33,5 ± 3,3
Cortisol (nmol/l)	61,3 ± 4,6	64,8 ± 4,0	73,1 ± 4,6
CBG (fmol/ml)	24,1 ± 3,0 ^a	36,0 ± 2,9 ^b	44,5 ± 3,0 ^c
FCI	2,3 ± 0,6	3,1 ± 0,6	2,4 ± 0,7

3.3.2 STRESSHORMONÄNDERUNG NACH DER BEHANDLUNG

Die Behandlungsvariante beeinflusste signifikant die Änderung (Ergebnisse nach der Behandlung minus vor der Behandlung) der ACTH- ($F_{3,131} = 4,77$; $P < 0,01$), Cortisol- ($F_{3,102} = 17,32$; $P < 0,001$) und CBG-Konzentrationen ($F_{3,180} = 9,09$; $P < 0,001$) sowie die Änderung des FCI ($F_{3,35} = 3,73$; $P < 0,05$). Tabelle 3.12 zeigt die Änderungen der Stresshormonkonzentrationen und des FCI für die einzelnen Behandlungsvarianten und die Ergebnisse der jeweiligen paarweisen Vergleiche. Im Vergleich zu Kontrollferkeln hatten Tiere, die allein oder mit unbekanntem Partner isoliert wurden, signifikant erhöhte ACTH-Konzentrationen. Probanden aller Isolationsvarianten reagierten mit signifikanten Erhöhungen ihrer Cortisolkonzentrationen. Der Anstieg von Cortisol war bei Ferkeln mit sozialer Unterstützung jedoch geringer als bei allein isolierten Tieren (vs. IB: $t = 3,55$; $P < 0,01$; vs. IU: $t = 2,32$; $P < 0,1$). Die CBG-Konzentration änderte sich bei allen isolierten Ferkeln in Richtung einer signifikanten Erniedrigung im Vergleich zu den Kontrolltieren. Gegenüber Kontrolltieren

und Ferkeln, die mit einem unbekanntem Partner isoliert wurden, wiesen Probanden aus alleiniger Isolation signifikant höhere FCI-Werte auf.

Tabelle 3.12: Einfluss der Behandlung auf die Änderung der ACTH-, Cortisol- und CBG-Konzentrationen sowie des FCI (n = 54 pro Behandlungsvariante). Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Effekte zwischen den Gruppen (^{a,b,c} P < 0,05; Tukey-Kramer-Test); K: Kontrolle, IB: Isolation mit bekanntem Partner, IU: Isolation mit unbekanntem Partner, IS: Isolation allein

Stresshormon	Behandlungsvariante			
	K	IB	IU	IS
ACTH (pg/ml)	-12,3 ± 7,1 ^a	10,7 ± 7,8	12,7 ± 7,3 ^b	23,7 ± 7,5 ^b
Cortisol (nmol/l)	-12,6 ± 10,4 ^a	31,7 ± 11,3 ^b	50,9 ± 10,1 ^{b,c}	81,3 ± 10,2 ^c
CBG (fmol/ml)	10,4 ± 3,1 ^a	-3,7 ± 3,1 ^b	-5,6 ± 3,1 ^b	-8,4 ± 3,1 ^b
FCI	0,7 ± 3,7 ^a	3,9 ± 4,4	0,8 ± 3,8 ^a	16,6 ± 3,9 ^b

Auf die Änderungen der untersuchten Stresshormone konnte kein signifikanter Alterseffekt gefunden werden (Tabelle A.5). Es wurde jedoch nachgewiesen, dass allein isolierte Tiere vom 21. Lebenstag signifikant höhere ACTH-Konzentrationen aufwiesen als die gleichaltrigen Kontrollferkel (Abb. 3.10 A). Wie Abb. 3.10 B zeigt, war die Cortisolkonzentration bei Tieren aus alleiniger Isolation in allen Altersgruppen höher im Vergleich zu den Kontrolltieren. Zusätzlich traten bei Ferkeln mit unbekanntem Isolationspartner am 7. Tag höhere Cortisolwerte auf als bei den Kontrolltieren. Eine in der Tendenz geringere Cortisolkonzentration wiesen 21 Tage alte Ferkel mit bekanntem Isolationspartner im Vergleich zu den gleichaltrigen allein isolierten Tiere auf (t = 3,24; P = 0,07). Signifikant geringere CBG-Werte wurden, verglichen mit den Kontrollferkeln, bei 21 Tage alten Tieren gefunden, die allein und mit bekanntem Partner isoliert waren (Abb. 3.10 C).

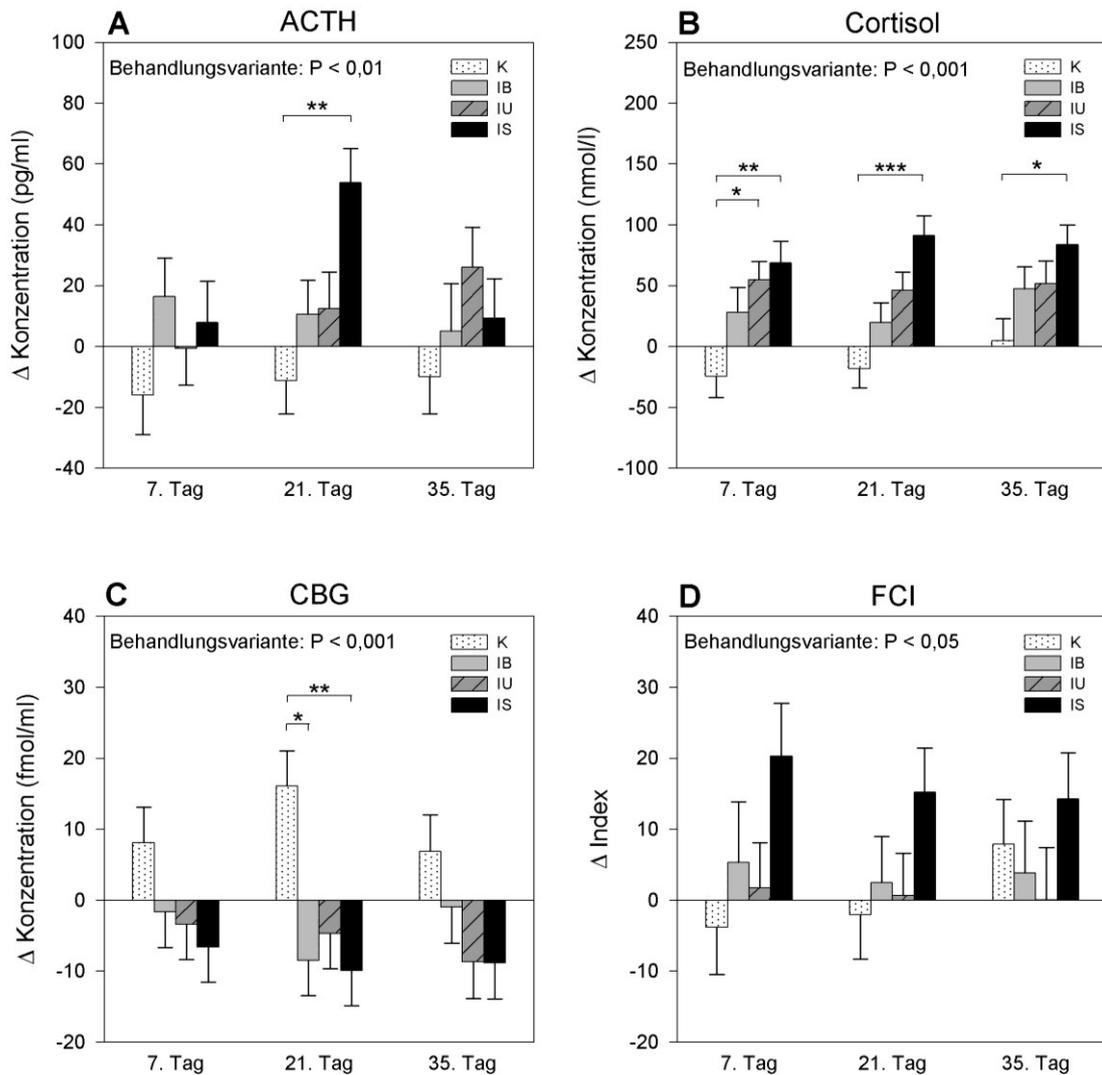


Abb. 3.10: Einfluss der Behandlungsvarianten in Abhängigkeit vom Alter auf die Änderungen der Plasmakonzentrationen von ACTH (A), Cortisol (B) und CBG (C) sowie die Änderung des FCI (D) ($n = 18$ pro Behandlungsvariante und Altersgruppe). Da Stern-Symbol kennzeichnet signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen (Tukey-Kramer-Test): * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$; IB: Isolation mit bekanntem Partner, IU: Isolation mit unbekanntem Partner, IS: Isolation allein

3.4 GENEXPRESSIONSTUDIEN IN STRESSRELEVANTEN HIRNREGIONEN

3.4.1 PRÄFRONTALER CORTEX

GR, MR. Im PFC hatte die Behandlungsvariante einen signifikanten Effekt auf die Expression von GR ($F_{3,70} = 3,56$; $P < 0,05$) und MR mRNA ($F_{3,67} = 6,11$; $P < 0,001$). Auch das MR/GR Verhältnis wurde von der Behandlung signifikant beeinflusst ($F_{3,69} = 7,47$; $P < 0,001$). Tabelle 3.13 zeigt die Ergebnisse der paarweisen Vergleichstests. Ferkel, die mit einem unbekanntem Partner isoliert waren, hatten geringere Expression von GR mRNA als Kontrollferkel und allein isolierte Tiere (vs. K: $t = 2,49$; $P = 0,07$). Die MR mRNA war bei Tieren aller Isolationsarten geringer als bei den Kontrollferkeln (vs. IB: $t = 2,44$; $P < 0,1$). Dementsprechend besaßen allein isolierte Tiere ein niedrigeres MR/GR Verhältnis als Kontrollferkel und Probanden mit unbekanntem Isolationspartner. Ferkel mit bekanntem Isolationspartner hatten ein in der Tendenz geringeres Rezeptorverhältnis im Vergleich zu den Kontrolltieren ($t = 2,37$; $P = 0,09$).

Das Alter der Ferkel beeinflusste sowohl die GR ($F_{2,28} = 9,67$; $P < 0,001$) als auch die MR mRNA signifikant ($F_{2,32} = 3,31$; $P < 0,05$). Kein Alterseffekt konnte auf das MR/GR Verhältnis gefunden werden. Tukey-Kramer-Tests zeigten, dass 7 Tage alte Ferkel größere mRNA Expressionen von GR (Abb. 3.11 A) und MR mRNA aufwiesen als die 21 Tage alten Tiere (Tabelle A.6). Bei 35 Tage alten Tieren wurde festgestellt, dass Probanden aller Isolationsarten geringere Konzentrationen an MR mRNA hatten als die Kontrollferkel (vs. IS: $t = 3,17$; $P < 0,1$; Abb. 3.11 B). Das MR/GR Verhältnis war bei 21 Tage alten, allein isolierten Tieren niedriger als bei den gleichaltrigen Kontrollferkeln (Abb. 3.12).

Tabelle 3.13: Einfluss der Behandlungsvarianten auf die mRNA Expression von GR und MR im PFC ($n = 27$ pro Behandlungsvariante). Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Effekte zwischen den Gruppen (^{a,b} $P < 0,05$; Tukey-Kramer-Test); K: Kontrolle, IB: Isolation mit bekanntem Partner, IU: Isolation mit unbekanntem Partner, IS: Isolation allein

mRNA (pg/ μ g total RNA)	Behandlungsvariante			
	K	IB	IU	IS
GR	48,42 \pm 3,28	46,21 \pm 3,28	40,66 \pm 3,29 ^a	50,21 \pm 3,29 ^b
MR	0,54 \pm 0,06 ^a	0,44 \pm 0,06	0,39 \pm 0,06 ^b	0,39 \pm 0,06 ^b
MR/GR	1,09 \pm 0,09 ^a	0,89 \pm 0,09	1,01 \pm 0,09 ^a	0,71 \pm 0,09 ^b

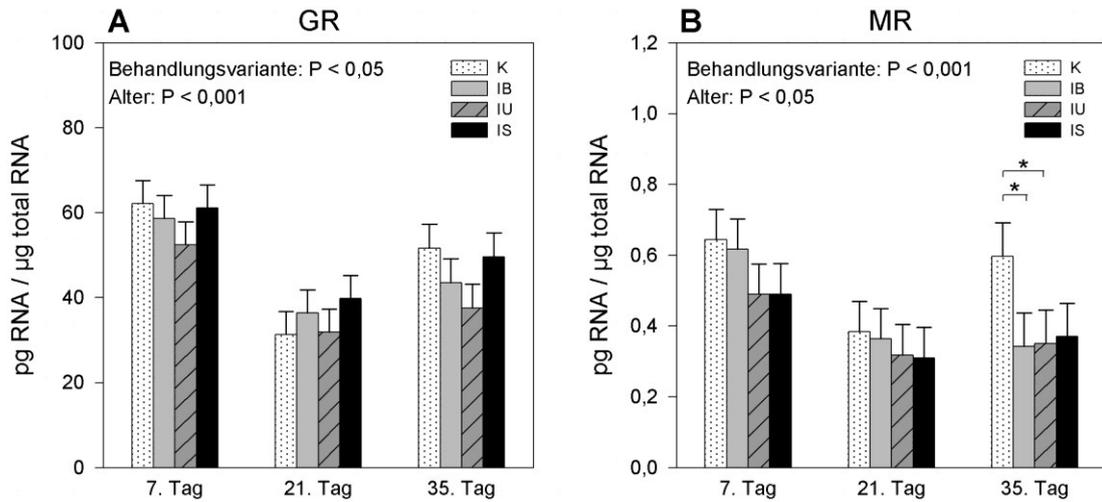


Abb. 3.11: Einfluss der Behandlungsvarianten in Abhängigkeit vom Alter auf die mRNA Expression von GR (A) und MR (B) im PFC ($n = 9$ pro Behandlungsvariante und Altersgruppe). Das Stern-Symbol kennzeichnet signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen (Tukey-Kramer-Test): * $P < 0,05$; K: Kontrolle, IB: Isolation mit bekanntem Partner, IU: Isolation mit unbekanntem Partner, IS: Isolation allein

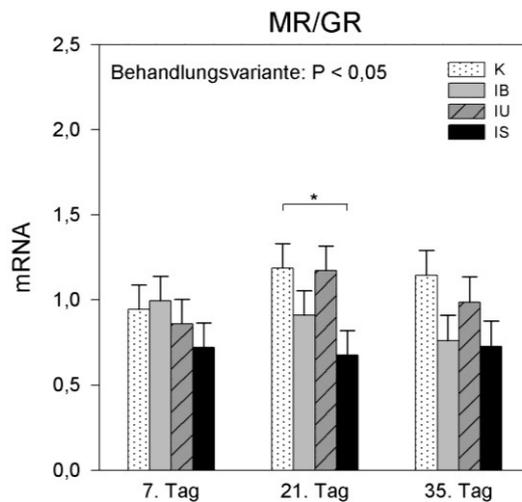


Abb. 3.12: Einfluss der Behandlungsvarianten in Abhängigkeit vom Alter auf das Verhältnis MR/GR ($n = 9$ pro Behandlungsvariante und Altersgruppe). Das Stern-Symbol kennzeichnet signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen (Tukey-Kramer-Test): * $P < 0,05$; K: Kontrolle, IB: Isolation mit bekanntem Partner, IU: Isolation mit unbekanntem Partner, IS: Isolation allein

11 β -HSD1, 11 β -HSD2. Die Behandlungsvariante hatte keinen Effekt auf den mRNA Gehalt der 11 β -HSD1, beeinflusste jedoch die Expression der 11 β -HSD2 mRNA ($F_{3,69} = 5,92$; $P < 0,01$). Wie aus Tabelle 3.14 ersichtlich wird, war der Gehalt an 11 β -HSD2 mRNA in allein isolierten Tieren signifikant größer im Vergleich zu den Kontrollferkeln und Probanden mit sozialer Unterstützung.

Die 11 β -HSD1 mRNA Expression wurde nicht vom Lebensalter beeinflusst (Abb. 3.13 A). Ein signifikanter Alterseffekt konnte aber auf die 11 β -HSD2 mRNA festgestellt werden ($F_{2,33} = 7,06$; $P < 0,01$). Tukey-Kramer-Tests zeigten, dass 7 Tage alte Ferkel höhere Expressionen von 11 β -HSD2 mRNA aufwiesen als die Tiere vom 21. Lebenstag (Tabelle A.6; Abb. 3.13 B).

Tabelle 3.14: Einfluss der Behandlungsvarianten auf die mRNA Expression von 11 β -HSD1 und 11 β -HSD2 im PFC ($n = 27$ pro Behandlungsvariante). Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Effekte zwischen den Gruppen (^{a,b} $P < 0,05$; Tukey-Kramer-Test); K: Kontrolle, IB: Isolation mit bekanntem Partner, IU: Isolation mit unbekanntem Partner, IS: Isolation allein

mRNA (pg/ μ g total RNA)	Behandlungsvariante			
	K	IB	IU	IS
11 β -HSD1	5,21 \pm 1,08	5,06 \pm 1,08	5,75 \pm 1,08	4,72 \pm 1,08
11 β -HSD2	1,13 \pm 0,16 ^a	1,24 \pm 0,16 ^a	1,13 \pm 0,16 ^a	1,60 \pm 0,16 ^b

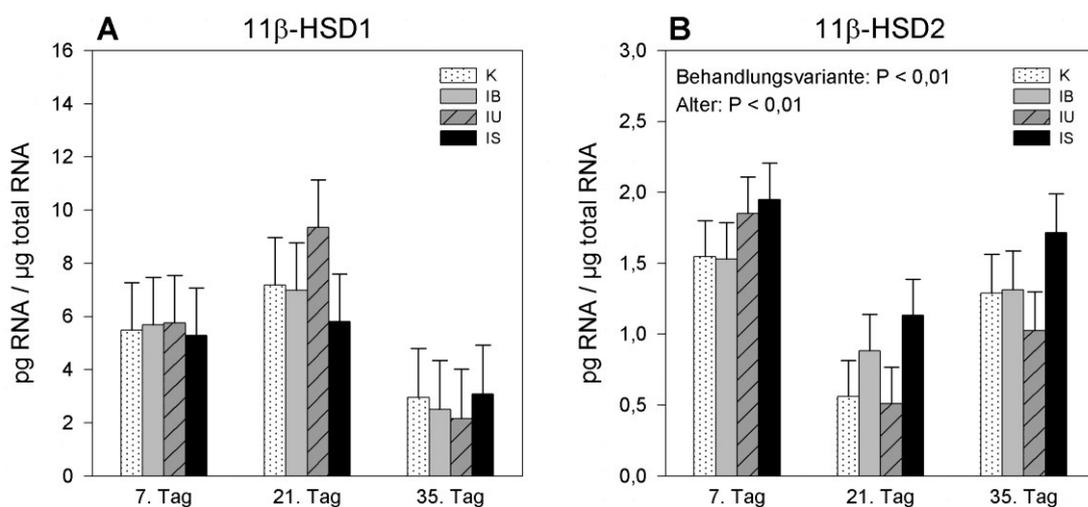


Abb. 3.13: Einfluss der Behandlungsvarianten in Abhängigkeit vom Alter auf die mRNA Expression von 11 β -HSD1 (A) und 11 β -HSD2 (B) im PFC ($n = 9$ pro Behandlungsvariante und Altersgruppe). K: Kontrolle, IB: Isolation mit bekanntem Partner, IU: Isolation mit unbekanntem Partner, IS: Isolation allein

CRH, c-fos. Die Art der Behandlung hatte keinen Effekt auf die Expression der CRH und c-fos mRNA (Tabelle 3.15). Jedoch beeinflusste das Alter der Tiere sowohl den Gehalt an CRH ($F_{2,27} = 45,22$; $P < 0,001$) als auch an c-fos mRNA ($F_{2,93} = 9,72$; $P < 0,001$). Die paarweisen Vergleiche in Tabelle A.6 zeigen, dass 7 Tage alte Ferkel höhere Expressionen von CRH mRNA aufwiesen als 21 Tage und 35 Tage alte Tiere (Abb. 3.14 A). Ferkel vom 21. Lebenstag hatten gegenüber 7 Tage und 35 Tage alten Tieren den niedrigsten Gehalt an c-fos mRNA (Abb. 3.14 B).

Tabelle 3.15: Einfluss der Behandlungsvarianten auf die mRNA Expression von CRH und c-fos im PFC ($n = 27$ pro Behandlungsvariante). K: Kontrolle, IB: Isolation mit bekanntem Partner, IU: Isolation mit unbekanntem Partner, IS: Isolation allein

mRNA (pg/ μ g total RNA)	Behandlungsvariante			
	K	IB	IU	IS
CRH	23,12 \pm 1,84	23,77 \pm 1,84	22,01 \pm 1,84	24,26 \pm 1,84
c-fos	6,01 \pm 1,03	5,04 \pm 1,03	4,11 \pm 1,03	5,16 \pm 1,03

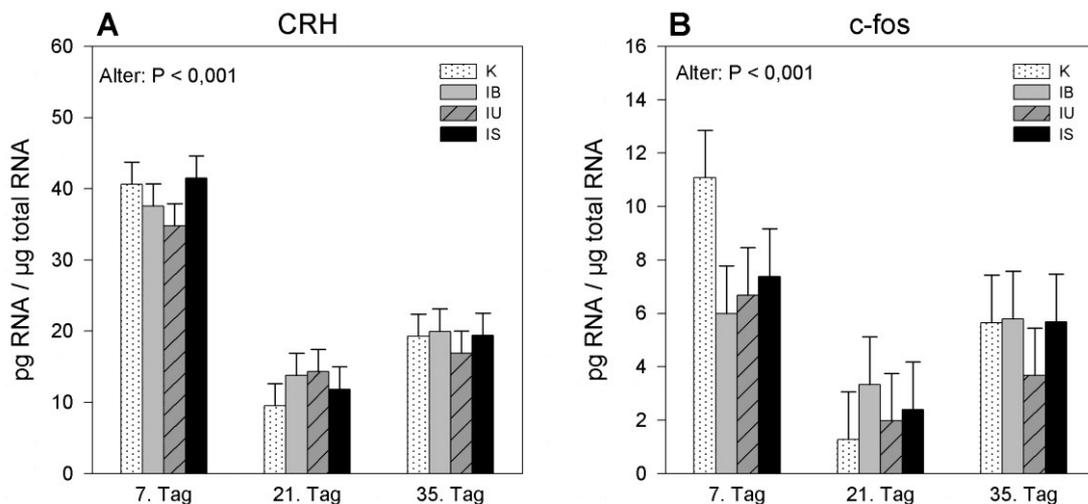


Abb. 3.14: Einfluss der Behandlungsvarianten in Abhängigkeit vom Alter auf die mRNA Expression von CRH (A) und c-fos (B) im PFC ($n = 9$ pro Behandlungsvariante und Altersgruppe). K: Kontrolle, IB: Isolation mit bekanntem Partner, IU: Isolation mit unbekanntem Partner, IS: Isolation allein

IL-6, TNF- α . Die mRNA Expression von IL-6 wurde tendenziell durch die Behandlungsvariante beeinflusst ($F_{3,71}=2,49$; $P = 0,07$), wogegen kein Effekt auf die TNF- α mRNA nachgewiesen wurde. In Tabelle 3.16 sind die mRNA Expressionen der Behandlungsvarianten aufgeführt. Ferkel mit unbekanntem Isolationspartner hatten einen in der Tendenz geringeren Gehalt an IL-6 mRNA als allein isolierte Tiere ($t = 2,41$; $P = 0,08$).

Es konnte ein signifikanter Effekt des Tieralters auf die Expression der IL-6 mRNA nachgewiesen werden ($F_{2,30} = 8,68$; $P < 0,01$; Abb. 3.15 A). Der Gehalt an TNF- α mRNA blieb dagegen vom Lebensalter unbeeinflusst (Abb. 3.15 B). Im Vergleich zu 21 Tage und 35 Tage alten Probanden, wiesen Ferkel vom 7. Lebenstag eine signifikant höhere Expression von IL-6 mRNA auf (Tabelle A.6).

Tabelle 3.16: Einfluss der Behandlungsvarianten auf die mRNA Expression von IL-6 und TNF- α im PFC ($n = 27$ pro Behandlungsvariante). K: Kontrolle, IB: Isolation mit bekanntem Partner, IU: Isolation mit unbekanntem Partner, IS: Isolation allein

mRNA (pg/ μ g total RNA)	Behandlungsvariante			
	K	IB	IU	IS
IL-6	0,08 \pm 0,01	0,08 \pm 0,01	0,07 \pm 0,01	0,11 \pm 0,01
TNF- α	0,26 \pm 0,05	0,17 \pm 0,05	0,17 \pm 0,05	0,22 \pm 0,05

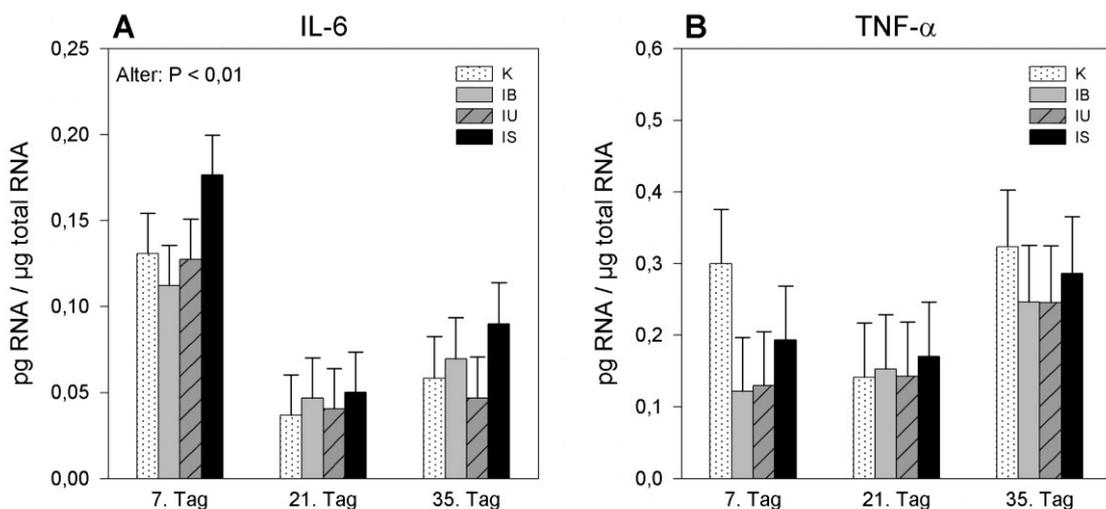


Abb. 3.15: Einfluss der Behandlungsvarianten in Abhängigkeit vom Alter auf die mRNA Expression von IL-6 (A) und TNF- α (B) im PFC ($n = 9$ pro Behandlungsvariante und Altersgruppe). K: Kontrolle, IB: Isolation mit bekanntem Partner, IU: Isolation mit unbekanntem Partner, IS: Isolation allein

3.4.2 AMYGDALA

GR, MR. In der Amygdala hatte die Behandlungsvariante keinen Effekt auf die Expression der MR mRNA, beeinflusste jedoch den Gehalt an GR mRNA ($F_{3,71} = 4,94$; $P < 0,01$) und das MR/GR Verhältnis signifikant ($F_{3,72} = 4,45$; $P < 0,01$). Tukey-Kramer-Tests zeigten, dass Ferkel mit unbekanntem Isolationspartner deutlich geringere GR mRNA Expressionen aufwiesen als Kontrolltiere und Probanden, die allein oder mit einem bekannten Partner isoliert waren (vs. IB: $t = 2,54$; $P < 0,1$; Tabelle 3.17). Zudem zeigte sich, dass allein isolierte Tiere ein niedrigeres Rezeptorverhältnis aufwiesen als Kontrollferkel und Probanden mit unbekanntem Isolationspartner.

Das Alter hatte keinen Effekt auf die Expression von GR und MR mRNA (Abb. 3.16), beeinflusste jedoch das Verhältnis der beiden Rezeptoren signifikant ($F_{2,27} = 4,09$; $P < 0,05$). Sieben Tage alte Ferkel, die mit unbekanntem Partner isoliert waren, wiesen einen geringeren Gehalt an GR mRNA auf als die gleichaltrigen Kontrollferkel (Abb. 3.16 A). Das MR/GR Verhältnis von 7 Tage alten Ferkeln war niedriger im Vergleich zu den 35 Tage alten Tieren (Tabelle A.7). Zudem hatten allein isolierte Tiere vom 35. Lebenstag ein signifikant niedrigeres Rezeptorverhältnis als die gleichaltrigen Ferkel, welche mit unbekanntem Partner isoliert wurden (Abb. 3.17).

Tabelle 3.17: Einfluss der Behandlungsvarianten auf die mRNA Expression von GR und MR in der Amygdala ($n = 27$ pro Behandlungsvariante). Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Effekte zwischen den Gruppen (^{a,b} $P < 0,05$; Tukey-Kramer-Test); K: Kontrolle, IB: Isolation mit bekanntem Partner, IU: Isolation mit unbekanntem Partner, IS: Isolation allein

mRNA (pg/ μ g total RNA)	Behandlungsvariante			
	K	IB	IU	IS
GR	68,17 \pm 3,93 ^a	66,25 \pm 3,93	53,98 \pm 3,94 ^b	71,34 \pm 3,95 ^a
MR	0,47 \pm 0,04	0,41 \pm 0,04	0,39 \pm 0,04	0,36 \pm 0,04
MR/GR	0,71 \pm 0,06 ^a	0,63 \pm 0,06	0,71 \pm 0,06 ^a	0,49 \pm 0,06 ^b

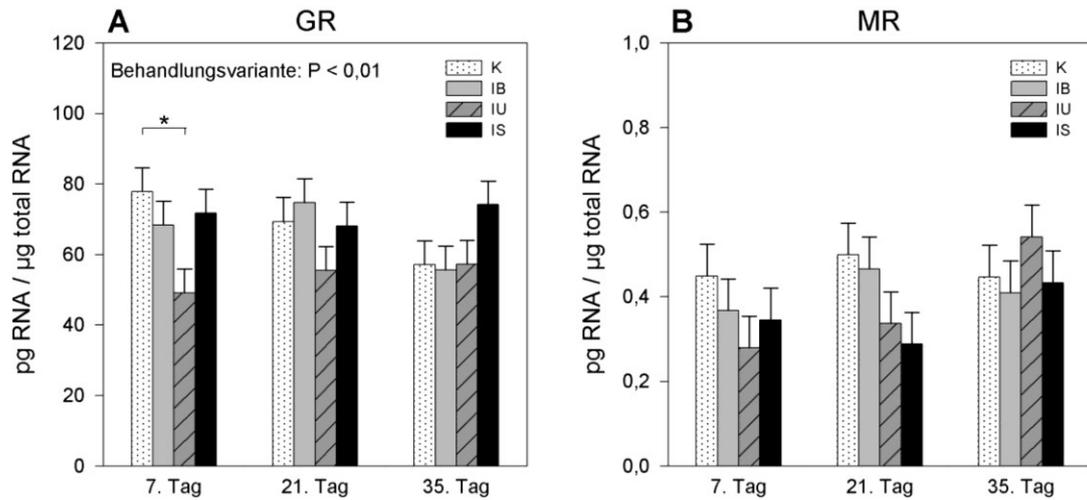


Abb. 3.16: Einfluss der Behandlungsvarianten in Abhängigkeit vom Alter auf die mRNA Expression von GR (A) und MR (B) in der Amygdala (n = 9 pro Behandlungsvariante und Altersgruppe). Das Stern-Symbol kennzeichnet signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen (Tukey-Kramer-Test): * P < 0,05; K: Kontrolle, IB: Isolation mit bekanntem Partner, IU: Isolation mit unbekanntem Partner, IS: Isolation allein

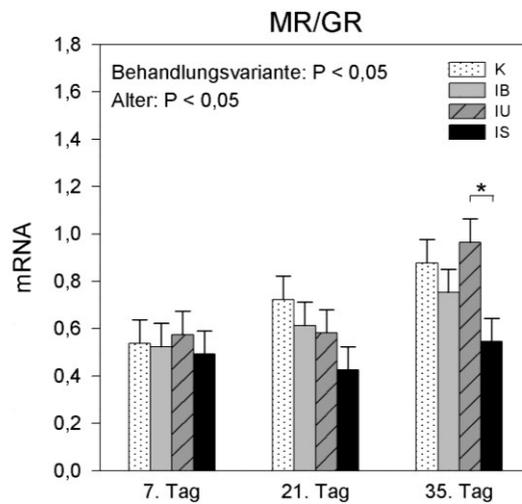


Abb. 3.17: Einfluss der Behandlungsvarianten in Abhängigkeit vom Alter auf das Verhältnis MR/GR (n = 9 pro Behandlungsvariante und Altersgruppe). Das Stern-Symbol kennzeichnet signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen (Tukey-Kramer-Test): * P < 0,05; K: Kontrolle, IB: Isolation mit bekanntem Partner, IU: Isolation mit unbekanntem Partner, IS: Isolation allein

11 β -HSD1, 11 β -HSD2. Die Behandlungsvariante hatte keinen Effekt auf die mRNA Expression von 11 β -HSD1, beeinflusste jedoch den Gehalt an 11 β -HSD2 signifikant ($F_{3,72} = 7,82$; $P < 0,001$). Wie die paarweisen Vergleiche in Tabelle 3.18 zeigen, war die mRNA Menge an 11 β -HSD2 bei allein isolierten Tieren deutlich größer als bei Kontrollferkeln und Probanden mit sozialer Unterstützung.

Tabelle 3.18: Einfluss der Behandlungsvarianten auf die mRNA Expression von 11 β -HSD1 und 11 β -HSD2 in der Amygdala ($n = 27$ pro Behandlungsvariante). Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Effekte zwischen den Gruppen (^{a,b} $P < 0,05$; Tukey-Kramer-Test); K: Kontrolle, IB: Isolation mit bekanntem Partner, IU: Isolation mit unbekanntem Partner, IS: Isolation allein

mRNA (pg/ μ g total RNA)	Behandlungsvariante			
	K	IB	IU	IS
11 β -HSD1	9,53 \pm 0,72	8,85 \pm 0,72	8,68 \pm 0,72	9,19 \pm 0,72
11 β -HSD2	1,04 \pm 0,12 ^a	1,15 \pm 0,12 ^a	1,09 \pm 0,12 ^a	1,60 \pm 0,12 ^b

Das Alter der Ferkel hatte einen tendenziellen Einfluss sowohl auf die 11 β -HSD1 mRNA ($F_{2,24} = 3,17$; $P = 0,06$) als auch auf die 11 β -HSD2 mRNA ($F_{2,29} = 2,93$; $P = 0,07$). Im Vergleich zu 35 Tage alten Tieren wiesen Ferkel vom 7. Lebenstag höhere Expressionen von 11 β -HSD1 ($t = 2,46$; $P = 0,05$) und geringere von 11 β -HSD2 auf ($t = 2,42$; $P = 0,06$; Tabelle A.7). Zusätzlich wurde festgestellt, dass 35 Tage alte, allein isolierte Tiere mehr 11 β -HSD2 exprimierten als die gleichaltrigen Kontrollferkel und Probanden mit sozialer Unterstützung (Abb. 3.18 B).

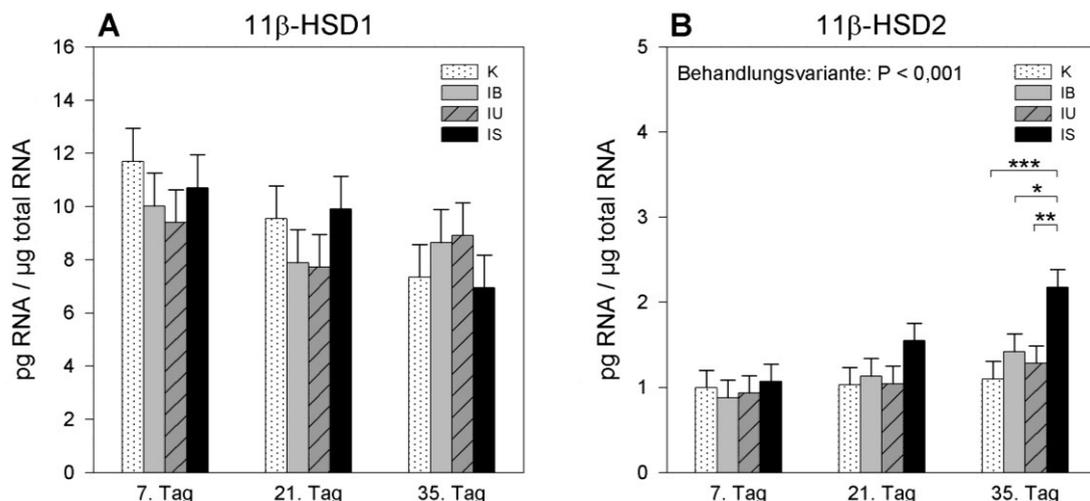


Abb. 3.18: Einfluss der Behandlungsvarianten in Abhängigkeit vom Alter auf die mRNA Expression von 11 β -HSD1 (A) und 11 β -HSD2 (B) in der Amygdala ($n = 9$ pro Behandlungsvariante und Altersgruppe). Das Stern-Symbol kennzeichnet signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen (Tukey-Kramer-Test): ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$; K: Kontrolle, IB: Isolation mit bekanntem Partner, IU: Isolation mit unbekanntem Partner, IS: Isolation allein

CRH, c-fos. Die Behandlungsvariante hatte keinen Effekt auf die Expression der CRH mRNA, beeinflusste jedoch den mRNA Gehalt an c-fos tendenziell ($F_{3,70} = 2,71$; $P = 0,05$). Tabelle 3.19 zeigt die Ergebnisse der einzelnen Behandlungsvarianten. Durch Tukey-Kramer-Tests wurde festgestellt, dass allein isolierte Tiere in der Tendenz mehr c-fos mRNA aufwiesen als Kontrollferkel ($t = 2,45$; $P = 0,08$) und Probanden mit unbekanntem Isolationspartner ($t = 2,47$; $P = 0,07$).

Tabelle 3.19: Einfluss der Behandlungsvarianten auf die mRNA Expression von CRH und c-fos in der Amygdala ($n = 27$ pro Behandlungsvariante). K: Kontrolle, IB: Isolation mit bekanntem Partner, IU: Isolation mit unbekanntem Partner, IS: Isolation allein

mRNA (pg/ μ g total RNA)	Behandlungsvariante			
	K	IB	IU	IS
CRH	$8,84 \pm 1,74$	$9,53 \pm 1,74$	$9,02 \pm 1,74$	$10,87 \pm 1,75$
c-fos	$1,99 \pm 0,28$	$2,32 \pm 0,28$	$1,99 \pm 0,28$	$2,82 \pm 0,28$

Das Alter hatte keinen Effekt auf die CRH mRNA, beeinflusste jedoch die c-fos mRNA signifikant ($F_{2,25} = 8,46$; $P < 0,01$). Die paarweisen Vergleiche in Tabelle A.7 zeigen, dass 7 Tage alte Ferkel deutlich niedrigere mRNA Expressionen von c-fos hatten als 21 Tage alte Tiere ($t = 2,28$; $P < 0,1$) und 35 Tage alte Tiere. Zudem konnte nachgewiesen werden, dass 35 Tage alte, allein isolierte Tiere signifikant mehr c-fos mRNA aufwiesen als die dazugehörigen Kontrollferkel (Abb. 3.19 B).

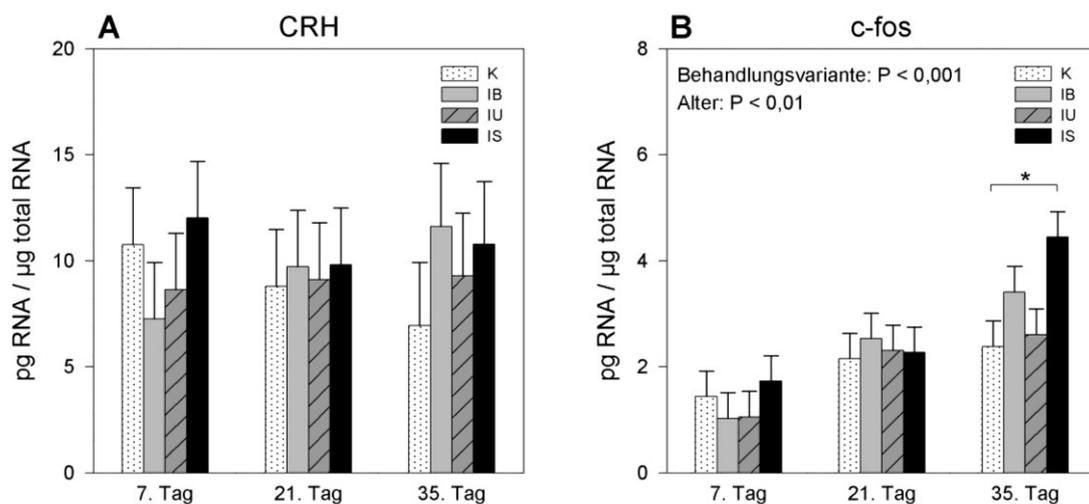


Abb. 3.19: Einfluss der Behandlungsvarianten in Abhängigkeit vom Alter auf die mRNA Expression von CRH (A) und c-fos (B) in der Amygdala ($n = 9$ pro Behandlungsvariante und Altersgruppe). Das Stern-Symbol kennzeichnet signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen (Tukey-Kramer-Test): * $P < 0,05$; K: Kontrolle, IB: Isolation mit bekanntem Partner, IU: Isolation mit unbekanntem Partner, IS: Isolation allein

IL-6, TNF- α . Die mRNA Expression von IL-6 wurde signifikant ($F_{3,72} = 2,70$; $P < 0,05$), die TNF- α tendenziell von der Behandlungsvariante beeinflusst ($F_{3,71} = 2,18$; $P < 0,1$). Die entsprechende mRNA Expression der Zytokine in Abhängigkeit von der Behandlungsvariante ist in Tabelle 3.20 dargestellt. Ferkel mit unbekanntem Isolationspartner wiesen eine in der Tendenz geringere Expression von IL-6 mRNA im Vergleich zu allein ($t = 2,50$; $P = 0,07$) bzw. mit bekanntem Partner isolierten Tieren auf ($t = 2,42$; $P = 0,08$). Auch der Gehalt an TNF- α mRNA war bei Ferkeln mit unbekanntem Isolationspartner tendenziell geringer als bei allein isolierten Tieren ($t = 2,49$; $P = 0,07$).

Tabelle 3.20: Einfluss der Behandlungsvarianten auf die Genexpression ($n = 27$ pro Behandlungsvariante). K: Kontrolle, IB: Isolation mit bekanntem Partner, IU: Isolation mit unbekanntem Partner, IS: Isolation allein

mRNA (pg/ μ g total RNA)	Behandlungsvariante			
	K	IB	IU	IS
IL-6	0,53 \pm 0,07	0,58 \pm 0,07	0,42 \pm 0,07	0,58 \pm 0,07
TNF- α	0,27 \pm 0,03	0,26 \pm 0,03	0,21 \pm 0,03	0,30 \pm 0,03

Das Alter der Ferkel beeinflusste die mRNA Expression von IL-6 ($F_{2,31} = 3,43$; $P < 0,05$) und TNF- α ($F_{2,29} = 9,35$; $P < 0,001$). Tukey-Kramer-Tests zeigten, dass 7 Tage alte Ferkel einen signifikant geringeren Gehalt an IL-6 mRNA aufwiesen als Tiere vom 21. Lebenstag (Tabelle A.7; Abb. 3.20 A). Ebenso war die mRNA Expression von TNF- α bei 7 Tage alten Ferkeln geringer als bei 21 Tage und 35 Tage alten Probanden (Abb. 3.20 B).

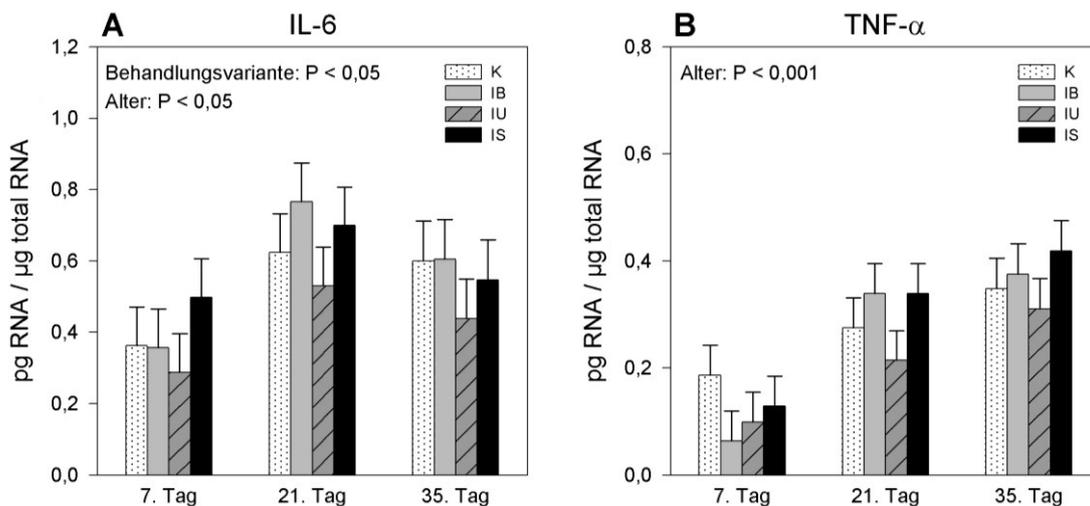


Abb. 3.20: Einfluss der Behandlungsvarianten in Abhängigkeit vom Alter auf die mRNA Expression von IL-6 (A) und TNF- α (B) in der Amygdala ($n = 9$ pro Behandlungsvariante und Altersgruppe). K: Kontrolle, IB: Isolation mit bekanntem Partner, IU: Isolation mit unbekanntem Partner, IS: Isolation allein

3.4.3 HYPOTHALAMUS

GR, MR. Die Behandlungsvariante hatte einen signifikanten Effekt auf die mRNA Expression von GR ($F_{3,72} = 3,26$; $P < 0,05$) und MR ($F_{3,70} = 3,71$; $P < 0,05$) sowie auf das Verhältnis von MR/GR ($F_{3,71} = 10,03$; $P < 0,001$). Die Tabelle 3.21 zeigt die Ergebnisse der paarweisen Vergleiche. Tiere, die mit unbekanntem Partner isoliert wurden, hatten signifikant geringere GR mRNA Expressionen als allein isolierte Ferkel. Im Vergleich zu Kontrollferkeln wiesen Tiere aus alleiniger Isolation eine geringere MR mRNA auf. Auch Probanden mit Isolationspartner hatten einen tendenziell geringeren MR mRNA Gehalt verglichen mit den Kontrollferkeln (vs. IB: $t = 2,39$; $P = 0,09$; vs. IU: $t = 2,43$; $P = 0,08$). Zudem zeigte sich, dass Kontrolltiere und Ferkel mit unbekanntem Isolationspartner ein größeres Verhältnis von MR/GR aufwiesen als Tiere, die allein und mit bekanntem Partner isoliert wurden.

Tabelle 3.21: Einfluss der Behandlungsvarianten auf die mRNA Expression von GR und MR im Hypothalamus ($n = 27$ pro Behandlungsvariante). Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Effekte zwischen den Gruppen (^{a,b} $P < 0,05$; Tukey-Kramer-Test); K: Kontrolle, IB: Isolation mit bekanntem Partner, IU: Isolation mit unbekanntem Partner, IS: Isolation allein

mRNA (pg/ μ g total RNA)	Behandlungsvariante			
	K	IB	IU	IS
GR	99,68 \pm 7,11	106,02 \pm 7,11	92,23 \pm 7,12 ^a	116,45 \pm 7,14 ^b
MR	0,50 \pm 0,04 ^a	0,38 \pm 0,04	0,37 \pm 0,04	0,34 \pm 0,04 ^b
MR/GR	0,47 \pm 0,03 ^a	0,34 \pm 0,03 ^b	0,45 \pm 0,03 ^a	0,29 \pm 0,03 ^b

Das Alter der Ferkel beeinflusste signifikant den Gehalt an MR mRNA ($F_{2,24} = 8,37$; $P < 0,05$) sowie das Verhältnis von MR/GR ($F_{2,25} = 5,04$; $P < 0,05$). Die Expression der GR mRNA war nicht altersabhängig (Abb. 3.21 A). Tukey-Kramer-Tests zeigten, dass 7 Tage und 21 Tage alte Probanden eine geringere MR mRNA Expression aufwiesen als Tiere vom 35. Lebenstag (Tabelle A.8; Abb. 3.21 B). Dementsprechend wiesen 35 Tage alte Tiere ein größeres Rezeptorverhältnis auf als 7 Tage ($t = 2,21$; $P < 0,1$) und 21 Tage alte Probanden. Zusätzlich zeigte sich bei Tieren vom 35. Lebenstag, dass das Verhältnis von MR/GR bei allein isolierten Ferkeln niedriger war als bei Tieren, die mit einem unbekanntem Partner isoliert wurden (Abb. 3.22).

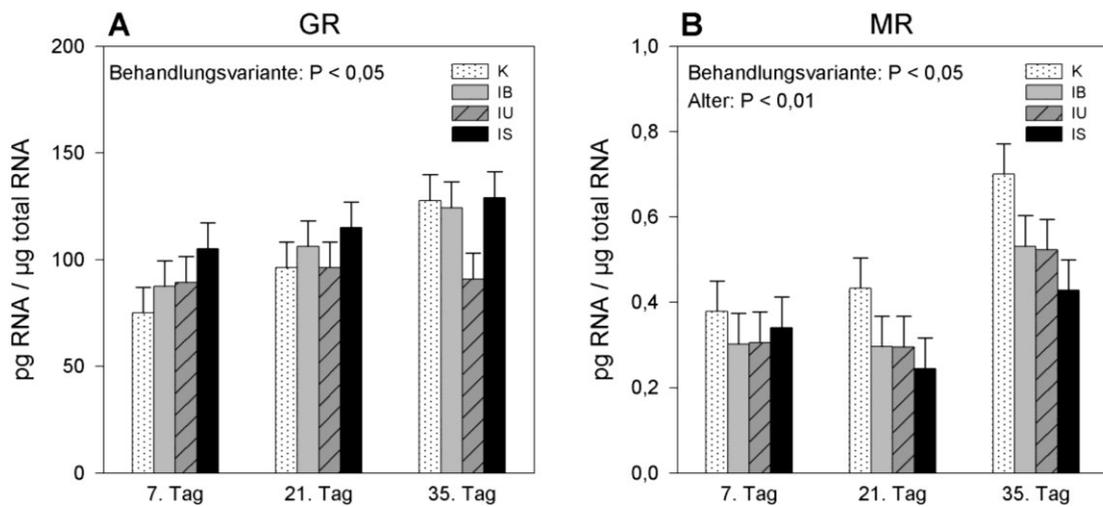


Abb. 3.21: Einfluss der Behandlungsvarianten in Abhängigkeit vom Alter auf die mRNA Expression von GR (A) und MR (B) ($n = 9$ pro Behandlungsvariante und Altersgruppe) im Hypothalamus. K: Kontrolle, IB: Isolation mit bekanntem Partner, IU: Isolation mit unbekanntem Partner, IS: Isolation allein

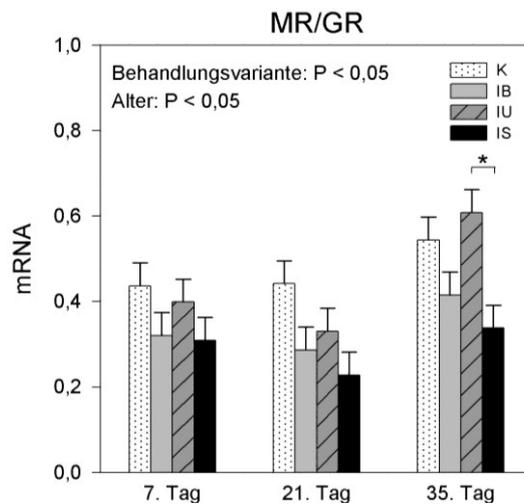


Abb. 3.22: Einfluss der Behandlungsvarianten in Abhängigkeit vom Alter auf das Verhältnis MR/GR im Hypothalamus ($n = 9$ pro Behandlungsvariante und Altersgruppe). Das Stern-Symbol kennzeichnet signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen (Tukey-Kramer-Test): * $P < 0,05$; K: Kontrolle, IB: Isolation mit bekanntem Partner, IU: Isolation mit unbekanntem Partner, IS: Isolation allein

11 β -HSD1, 11 β -HSD2. Ein signifikanter Effekt der Behandlungsvariante wurde auf den mRNA Gehalt an 11 β -HSD2 festgestellt ($F_{3,72} = 3,58$; $P < 0,05$). Paarweise Vergleiche zeigten, dass Kontrolltiere und mit unbekanntem Partner isolierte Tiere geringere Werte aufwiesen als Probanden aus Alleinisolierung (Tabelle 3.22).

Das Alter beeinflusste die 11 β -HSD1 mRNA Expression signifikant ($F_{2,29} = 4,01$; $P < 0,05$), wobei 21 Tage alte Ferkel niedrigere mRNA Konzentrationen aufwiesen als 35 Tage alte Tiere (Tabelle A.8; Abb. 3.23 A). Es konnte kein Alterseffekt auf die 11 β -HSD2 mRNA nachgewiesen werden. (Abb. 3.23 B).

Tabelle 3.22: Einfluss der Behandlungsvarianten auf die mRNA Expression von 11 β -HSD1 und 11 β -HSD2 im Hypothalamus ($n = 27$ pro Behandlungsvariante). Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Effekte zwischen den Gruppen (^{a,b} $P < 0,05$; Tukey-Kramer-Test); K: Kontrolle, IB: Isolation mit bekanntem Partner, IU: Isolation mit unbekanntem Partner, IS: Isolation allein

mRNA (pg/ μ g total RNA)	Behandlungsvariante			
	K	IB	IU	IS
11 β -HSD1	5,56 \pm 0,59	5,96 \pm 0,59	6,15 \pm 0,59	5,97 \pm 0,59
11 β -HSD2	1,05 \pm 0,11 ^a	1,21 \pm 0,11	1,03 \pm 0,11 ^a	1,42 \pm 0,11 ^b

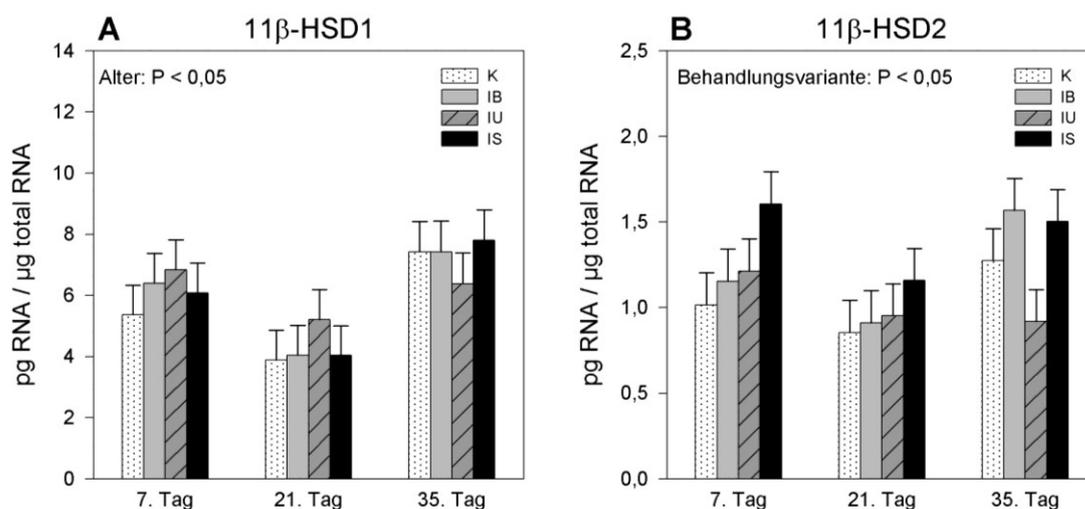


Abb. 3.23: Einfluss der Behandlungsvarianten in Abhängigkeit vom Alter auf die mRNA Expression von 11 β -HSD1 (A) und 11 β -HSD2 (B) im Hypothalamus ($n = 9$ pro Behandlungsvariante und Altersgruppe). K: Kontrolle, IB: Isolation mit bekanntem Partner, IU: Isolation mit unbekanntem Partner, IS: Isolation allein

CRH, c-fos. Die Behandlungsvariante hatte keinen Effekt auf die Expression der CRH mRNA (Abb. 3.24 A), beeinflusste jedoch den Gehalt an c-fos mRNA signifikant ($F_{3,71} = 8,11$; $P < 0,001$). Tukey-Kramer-Tests zeigten, dass Tiere aller Isolationsarten eine signifikant höhere c-fos mRNA aufwiesen als die Kontrollferkel (Tabelle 3.23).

Es wurde kein Effekt des Alters auf die Expression von CRH und c-fos mRNA gefunden (Tabelle A.8). Durch paarweise Vergleiche konnte jedoch gezeigt werden, dass 7 Tage alte, allein isolierte Tiere einen größeren Gehalt an c-fos mRNA hatten als die gleichaltrigen Kontrollferkel (Abb. 3.24 B).

Tabelle 3.23: Einfluss der Behandlungsvarianten auf die mRNA Expression von CRH und c-fos im Hypothalamus ($n = 27$ pro Behandlungsvariante). Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Effekte zwischen den Gruppen (^{a,b} $P < 0,05$; Tukey-Kramer-Test); K: Kontrolle, IB: Isolation mit bekanntem Partner, IU: Isolation mit unbekanntem Partner, IS: Isolation allein

mRNA (pg/ μ g total RNA)	Behandlungsvariante			
	K	IB	IU	IS
CRH	$2,86 \pm 0,42$	$3,39 \pm 0,42$	$3,21 \pm 0,42$	$3,82 \pm 0,43$
c-fos	$1,30 \pm 0,24^a$	$2,31 \pm 0,24^b$	$2,28 \pm 0,24^b$	$2,82 \pm 0,24^b$

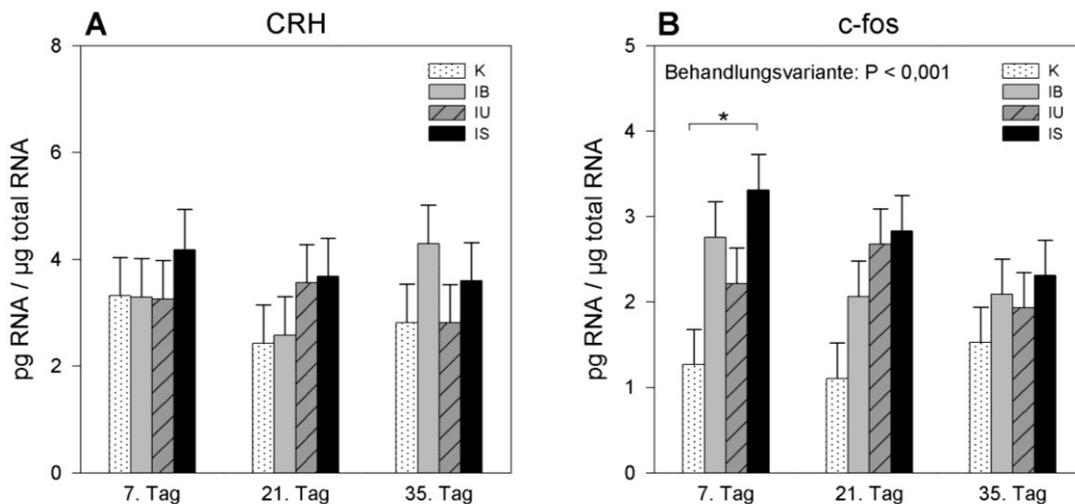


Abb. 3.24: Einfluss der Behandlungsvarianten in Abhängigkeit vom Alter auf die mRNA Expression von CRH (A) und c-fos (B) im Hypothalamus ($n = 9$ pro Behandlungsvariante und Altersgruppe). Das Stern-Symbol kennzeichnet signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen (Tukey-Kramer-Test): * $P < 0,05$; K: Kontrolle, IB: Isolation mit bekanntem Partner, IU: Isolation mit unbekanntem Partner, IS: Isolation allein

IL-6, TNF- α . Die Behandlungsvariante hatte keinen signifikanten Effekt auf die Expression von IL-6 mRNA, beeinflusste jedoch den Gehalt an TNF- α mRNA tendenziell ($F_{3,71} = 2,51$; $P = 0,07$). Paarweise Vergleiche zeigten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Behandlungsvarianten (Tabelle 3.24).

Die statistische Analyse zeigte einen Einfluss des Alters auf die IL-6 mRNA Expression ($F_{2,19} = 9,15$; $P < 0,01$). Durch Tukey-Kramer-Tests wurde festgestellt, dass 7 Tage alte Ferkel eine signifikant höhere IL-6 mRNA-Konzentration aufwiesen als 21 Tage alte Tiere (Tabelle A.8; Abb. 3.25 A). Die mRNA Expression von TNF- α wurde nicht vom Lebensalter beeinflusst (Abb. 3.25 B)

Tabelle 3.24: Einfluss der Behandlungsvarianten auf die mRNA Expression von IL-6 und TNF- α im Hypothalamus (n = 27 pro Behandlungsvariante). K: Kontrolle, IB: Isolation mit bekanntem Partner, IU: Isolation mit unbekanntem Partner, IS: Isolation allein

mRNA (pg/ μ g total RNA)	Behandlungsvariante			
	K	IB	IU	IS
IL-6	0,36 \pm 0,05	0,30 \pm 0,05	0,28 \pm 0,05	0,36 \pm 0,05
TNF- α	0,25 \pm 0,05	0,23 \pm 0,05	0,22 \pm 0,05	0,38 \pm 0,05

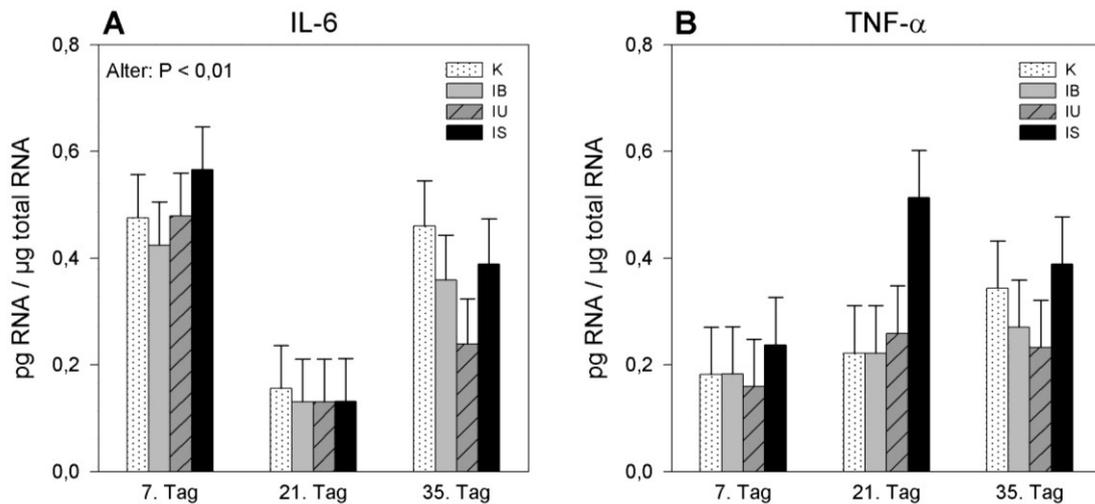


Abb. 3.25: Einfluss der Behandlungsvarianten in Abhängigkeit vom Alter auf die mRNA Expression von IL-6 (A) und TNF- α (B) im Hypothalamus (n = 9 pro Behandlungsvariante und Altersgruppe). K: Kontrolle, IB: Isolation mit bekanntem Partner, IU: Isolation mit unbekanntem Partner, IS: Isolation allein

3.4.4 HYPOPHYSE

GR, MR. Die Behandlungsvariante hatte keinen Effekt auf die GR und MR mRNA Expression. Ein signifikanter Behandlungseffekt zeigte sich aber auf das mRNA Verhältnis von MR/GR ($F_{3,72} = 3,74$, $P < 0,05$). Wie in Tabelle 3.25 zu sehen ist, wiesen allein isolierte Ferkel ein geringeres Rezeptorverhältnis auf als Kontrolltiere und Ferkel mit unbekanntem Isolationspartner.

Die Abb. 3.26 zeigt die GR und MR mRNA Expression der Isolationsvarianten an unterschiedlichen Lebensstagen. Es konnte ein tendenzieller Alterseffekt auf den Gehalt an GR mRNA gefunden werden ($F_{2,33} = 3,14$; $P = 0,06$; Tabelle A.9). Die MR mRNA Expression wurde dagegen von der Interaktion Alter \times Behandlungsvariante beeinflusst ($F_{6,70} = 2,49$; $P < 0,05$) Jedoch erbrachten paarweise Vergleiche keine signifikanten Unterschiede zwischen den verschiedenen Gruppen (Abb. 3.26 B). Das Rezeptorverhältnis MR/GR war nicht altersabhängig (Abb. 3.27).

Tabelle 3.25: Einfluss der Behandlungsvarianten auf die mRNA Expression von GR und MR in der Hypophyse ($n = 27$ pro Behandlungsvariante). Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Effekte zwischen den Gruppen (^{a,b} $P < 0,05$; Tukey-Kramer-Test); K: Kontrolle, IB: Isolation mit bekanntem Partner, IU: Isolation mit unbekanntem Partner, IS: Isolation allein

mRNA (pg/ μ g total RNA)	Behandlungsvariante			
	K	IB	IU	IS
GR	57,50 \pm 7,53	55,63 \pm 7,53	53,21 \pm 7,53	65,63 \pm 7,54
MR	0,62 \pm 0,09	0,52 \pm 0,09	0,53 \pm 0,09	0,46 \pm 0,09
MR/GR	0,99 \pm 0,01 ^a	0,87 \pm 0,01	1,01 \pm 0,01 ^a	0,63 \pm 0,01 ^b

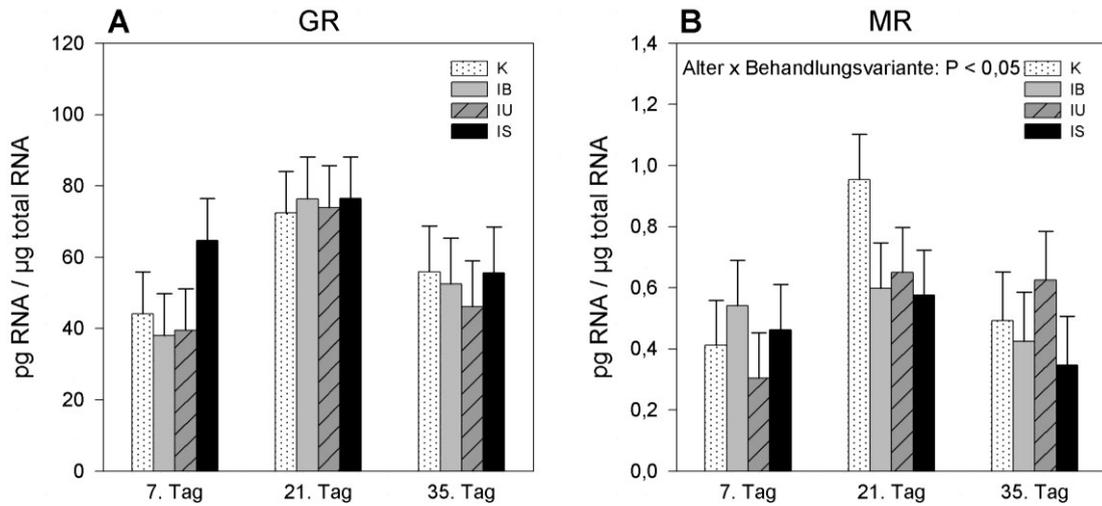


Abb. 3.26: Einfluss der Behandlungsvarianten in Abhängigkeit vom Alter auf die mRNA Expression von GR (A) und MR (B) in der Hypophyse (n = 9 pro Behandlungsvariante und Altersgruppe). K: Kontrolle, IB: Isolation mit bekanntem Partner, IU: Isolation mit unbekanntem Partner, IS: Isolation allein

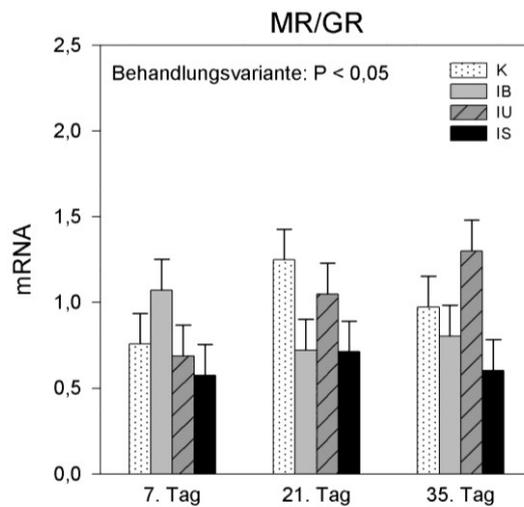


Abb. 3.27: Einfluss der Behandlungsvarianten in Abhängigkeit vom Alter auf das Verhältnis MR/GR in der Hypophyse (n = 9 pro Behandlungsvariante und Altersgruppe). K: Kontrolle, IB: Isolation mit bekanntem Partner, IU: Isolation mit unbekanntem Partner, IS: Isolation allein

11 β -HSD1, 11 β -HSD2. Die Behandlungsvariante hatte einen Effekt auf den Gehalt an 11 β -HSD1 mRNA ($F_{3,71} = 3,17$; $P < 0,05$), beeinflusste jedoch nicht die mRNA Expression von 11 β -HSD2. Mittels Tukey-Kramer-Tests wurde nachgewiesen, dass Ferkel mit bekanntem Isolationspartner geringere 11 β -HSD1 mRNA-Werte hatten als die Kontrolltiere (Tabelle 3.26).

Es konnte ein signifikanter Alterseffekt auf die Konzentration an 11 β -HSD1 mRNA gefunden werden ($F_{2,30} = 5,54$; $P < 0,01$). Tiere vom 7. Lebenstag wiesen weniger 11 β -HSD1 mRNA auf als die 21 Tage alten Ferkel (Tabelle A.9; Abb. 3.28 A). Der Gehalt an 11 β -HSD2 wurde nicht vom Alter beeinflusst (Abb. 3.28 B).

Tabelle 3.26: Einfluss der Behandlungsvarianten auf die mRNA Expression von 11 β -HSD1 und 11 β -HSD2 in der Hypophyse ($n = 27$ pro Behandlungsvariante). Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Effekte zwischen den Gruppen (^{a,b} $P < 0,05$; Tukey-Kramer-Test); K: Kontrolle, IB: Isolation mit bekanntem Partner, IU: Isolation mit unbekanntem Partner, IS: Isolation allein

mRNA (pg/ μ g total RNA)	Behandlungsvariante			
	K	IB	IU	IS
11 β -HSD1	21,33 \pm 1,95 ^a	15,50 \pm 1,95 ^b	19,15 \pm 1,96	18,62 \pm 1,96
11 β -HSD2	5,70 \pm 1,48	5,48 \pm 1,48	5,81 \pm 1,48	7,67 \pm 1,49

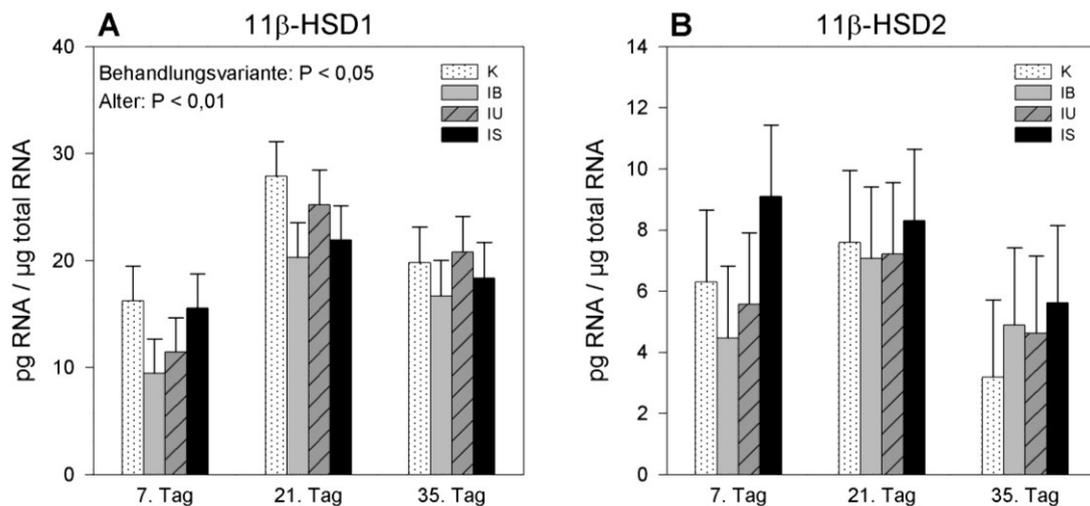


Abb. 3.28: Einfluss der Behandlungsvarianten in Abhängigkeit vom Alter auf die mRNA Expression von 11 β -HSD1 (A) und 11 β -HSD2 (B) in der Hypophyse ($n = 9$ pro Behandlungsvariante und Altersgruppe). K: Kontrolle, IB: Isolation mit bekanntem Partner, IU: Isolation mit unbekanntem Partner, IS: Isolation allein

POMC, c-fos. Weder die Behandlungsvariante noch das Alter hatten einen Effekt auf die POMC und c-fos mRNA Expression in der Hypophyse (Abb. 3.29; Tabelle A.9). Paarweise Vergleiche zeigten jedoch einen tendenziell höheren Gehalt an POMC mRNA bei allein isolierten Ferkeln im Vergleich zu den Kontrolltieren ($t = 2,38$; $P = 0,09$; Tabelle 3.27).

Tabelle 3.27: Einfluss der Behandlungsvarianten auf die mRNA Expression von POMC und c-fos in der Hypophyse ($n = 27$ pro Behandlungsvariante). K: Kontrolle, IB: Isolation mit bekanntem Partner, IU: Isolation mit unbekanntem Partner, IS: Isolation allein

mRNA (pg/ μ g total RNA)	Behandlungsvariante			
	K	IB	IU	IS
POMC	$87,74 \pm 29,14$	$108,60 \pm 29,14$	$123,83 \pm 29,16$	$149,16 \pm 29,19$
c-fos	$9,93 \pm 2,73$	$7,86 \pm 2,73$	$5,64 \pm 2,73$	$10,09 \pm 2,74$

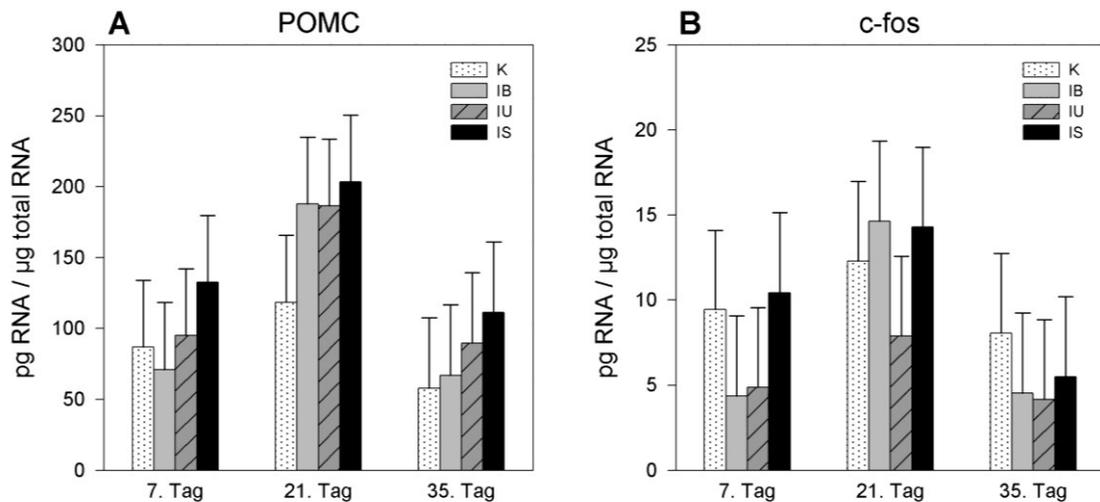


Abb. 3.29: Einfluss der Behandlungsvarianten in Abhängigkeit vom Alter auf die mRNA Expression von POMC (A) und c-fos (B) in der Hypophyse ($n = 9$ pro Behandlungsvariante und Altersgruppe). K: Kontrolle, IB: Isolation mit bekanntem Partner, IU: Isolation mit unbekanntem Partner, IS: Isolation allein

IL-6, TNF- α . Auch die mRNA Expressionen der Zytokine IL-6 und TNF- α in der Hypophyse wurden weder von der Behandlungsvariante noch vom Alter signifikant beeinflusst (Tabelle 3.28, Tabelle A.9, Abb. 3.30).

Tabelle 3.28: Einfluss der Behandlungsvarianten auf die mRNA Expression von IL-6 und TNF- α in der Hypophyse (n = 27 pro Behandlungsvariante). K: Kontrolle, IB: Isolation mit bekanntem Partner, IU: Isolation mit unbekanntem Partner, IS: Isolation allein

mRNA (pg/ μ g total RNA)	Behandlungsvariante			
	K	IB	IU	IS
IL-6	0,08 \pm 0,05	0,09 \pm 0,05	0,09 \pm 0,05	0,18 \pm 0,05
TNF- α	0,38 \pm 0,09	0,35 \pm 0,09	0,35 \pm 0,09	0,28 \pm 0,09

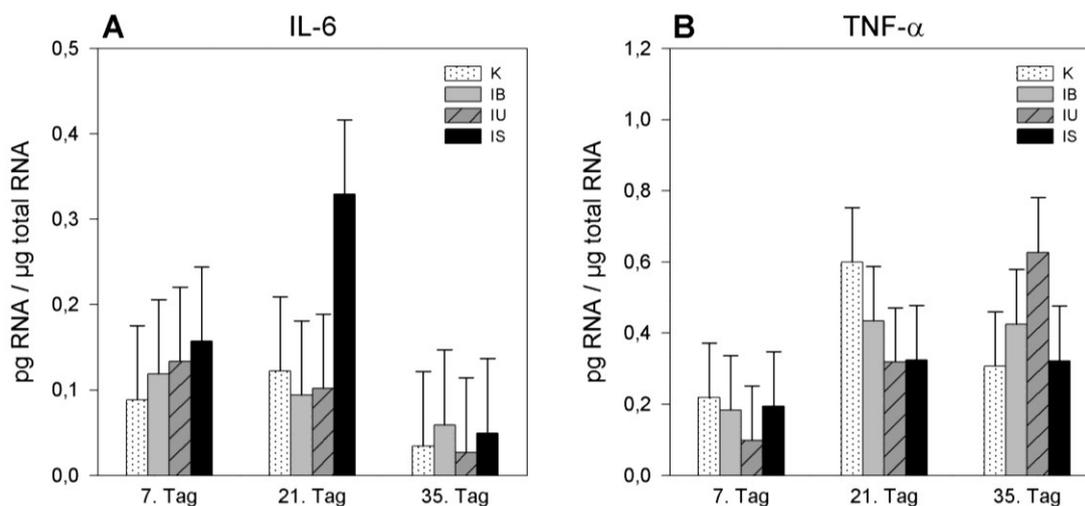


Abb. 3.30: Einfluss der Behandlungsvarianten in Abhängigkeit vom Alter auf die mRNA Expression von IL-6 (A) und TNF- α (B) in der Hypophyse (n = 9 pro Behandlungsvariante und Altersgruppe). K: Kontrolle, IB: Isolation mit bekanntem Partner, IU: Isolation mit unbekanntem Partner, IS: Isolation allein

3.5 KORRELATIONEN

Mit Hilfe von Korrelationen können potentielle Beziehungen zwischen untersuchten Parametern festgestellt werden. Durch von Borell und Ladewig (1992) ist bekannt, dass das Verhalten von Schweinen gut mit der adrenocorticalen Stressreaktivität korreliert. Deshalb wurden in dieser Arbeit die Verhaltensweisen während der Isolation und die Cortisolkonzentration nach der Isolation, die Verhaltensänderungen in den „open-field“/„novel-object“-Tests und die Cortisoländerung sowie die ACTH- bzw. Cortisolkonzentration und die RNA Expression im Gehirn einer Korrelationsanalyse unterzogen. Als Maß für die Korrelation wurde „Spearman's Rangkorrelationskoeffizient“ bestimmt. Aufgrund der verschiedenen Isolationsvarianten (IB, IU, IS) wurden Korrelationsunterschiede zwischen den getesteten Parametern erwartet. Die Kontrollgruppe wurde nicht in die Untersuchung einbezogen, da in dieser keine Stressreaktion aufgrund maternaler Deprivation und sozialer Isolation auftreten konnte. Nachfolgend werden nur signifikante Korrelationen angegeben.

3.5.1 VERHALTEN WÄHREND DER ISOLATION UND CORTISOL

Die Korrelation zwischen den Verhaltensweisen während der Isolation und der Plasma-Cortisolkonzentration nach der Isolation wurde untersucht. Die Analyse zeigt, dass bei Tieren mit sozialer Unterstützung keine signifikanten Korrelationen zwischen den Verhaltensweisen während der Isolation und der Cortisolkonzentration auftraten. Dagegen wurden bei allein isolierten Ferkeln positive Korrelationen zwischen der Fluchtdauer und Cortisol ($r_s = +0,41$; $n = 52$; $P < 0,01$) sowie zwischen der Fluchthäufigkeit und Cortisol ($r_s = +0,44$; $n = 52$; $P < 0,01$) gefunden.

3.5.2 VERHALTEN IM „OPEN-FIELD“/„NOVEL-OBJECT“-TEST UND CORTISOL

Mögliche Korrelationen zwischen den Verhaltensänderungen in den „open-field“/„novel-object“-Tests und den Cortisoländerungen (Ergebnisse nach der Behandlung minus vor der Behandlung) wurden ebenfalls analysiert. Ferkel, die mit einem bekannten Partner isoliert waren, wiesen eine negative Korrelation zwischen der Änderung der Lokomotionsdauer und der Cortisoländerung ($r_s = -0,35$; $n = 39$; $P < 0,05$) sowie eine positive Korrelation zwischen der Änderung der Steh-/Sitzdauer und der Cortisoländerung auf ($r_s = +0,41$; $n = 39$; $P < 0,05$).

Tiere, die mit einem unbekanntem Partner isoliert waren, zeigten positive Korrelationen zwischen der Änderung der Lokomotionsdauer und der Cortisoländerung ($r_s = +0,39$; $n = 39$; $P < 0,05$) sowie zwischen der Vokalisationsdauer und der Cortisoländerung ($r_s = +0,34$; $n = 39$; $P < 0,05$). Bei allein isolierten Tieren konnten keine signifikanten Korrelationen zwischen Verhaltens- und Cortisoländerungen gefunden werden.

3.5.3 HORMONKONZENTRATION UND RNA EXPRESSION

PFC. Die Korrelationsanalyse zwischen den Hormonkonzentrationen im Plasma und den Genexpressionen im PFC ergab negative Korrelationen bei den allein isolierten Ferkeln zwischen Cortisol und 11 β -HSD1 mRNA ($r_s = -0,43$; $n = 27$; $P < 0,05$).

Amygdala. In der Amygdala wurde bei allein isolierten Probanden eine negative Korrelation zwischen ACTH und der 11 β -HSD1 mRNA gefunden ($r_s = -0,49$; $n = 27$; $P < 0,01$).

Hypothalamus. Positive Korrelationen zwischen der Cortisolkonzentration im Plasma und der GR mRNA Expression im Hypothalamus wurden nur bei Ferkeln mit bekanntem Isolationspartner ($r_s = +0,39$; $n = 27$; $P < 0,05$) und bei allein isolierten Tieren gefunden ($r_s = +0,42$; $n = 27$; $P < 0,05$).

Hypophyse. In der Hypophyse wurden bei Ferkeln mit bekanntem Isolationspartner positive Korrelationen zwischen ACTH und IL-6 mRNA nachgewiesen werden ($r_s = +0,48$; $n = 27$; $P < 0,05$). Dagegen zeigte sich bei Ferkeln mit unbekanntem Isolationspartner eine negative Korrelation zwischen Cortisol und der mRNA Expression von POMC ($r_s = -0,48$; $n = 27$; $P < 0,05$). Bei allein isolierten Ferkeln bestand eine positive Korrelation zwischen Cortisol und c-fos mRNA ($r_s = +0,40$; $n = 27$; $P < 0,05$).

4 DISKUSSION

Diese Arbeit zeigt anhand eines multidisziplinären Untersuchungsansatzes, dass psychosozialer Stress in Form von maternaler Deprivation und sozialer Isolation zu veränderten ethologischen und physiologischen Reaktionsmechanismen bei Ferkeln führte. Die Veränderungen umfassten Erhöhungen in der Verhaltensreaktivität und dem generellen Erregungsgrad der Tiere, gesteigerte Stresshormonkonzentrationen und modifizierte Expressionen von Genen, welche die Glucocorticoidantwort in stress- und verhaltensrelevanten Hirnregionen regulieren. Weiterhin wurde erstmalig der komplexe Einfluss der sozialen Unterstützung auf Verhalten und Neuroendokrinum beim juvenilen Hausschwein untersucht. Unabhängig vom interindividuellen Bekanntheitsgrad wiesen Ferkel, die zusammen mit einem Artgenossen isoliert wurden, geringer ausgeprägte ethologische und physiologische Stressreaktionen im Vergleich zu den allein isolierten Tieren auf. Der Effekt der Unterstützung war bei den Versuchstieren mit bekanntem Sozialpartner jedoch deutlicher ausgeprägt, was sich in einem ruhigeren, weniger erregten Verhalten dieser Ferkel zeigte. Der ontogenetische Einfluss wirkte sich bei den Tieren dahingehend aus, dass junge Ferkel deutlich mehr Adaptationsprobleme infolge der Isolationsprozedur aufwiesen als die älteren Tiere.

4.1 EFFEKTE DER SOZIALEN ISOLATION

In der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluss der sozialen Isolation auf die Verhaltensreaktivität der Ferkel in „open-field“/„novel-object“-Tests untersucht. Dazu wurden die Verhaltenstests sowohl vor als auch nach der Isolation durchgeführt. Durch die wiederholte Darbietung eines Stimulus kommt es zu einer Habituationsreaktion, die aus einer verringerten ethologischen und physiologischen Reizantwort resultiert (Harris, 1943; Gattermann, 2006). So reagierten Tiere auf Stimuli durch eine Anreicherung ihrer Haltungsumwelt mit einer verstärkten Verhaltensantwort, die jedoch schnell einer Habituation unterliegen kann (Tarou und Bashaw, 2007). Weitere Studien belegen, dass auch die wiederholte Durchführung von Verhaltenstests zu verminderten Verhaltensreaktionen in den jeweiligen Testsituationen führte. Nach Hayne und Gonyou (2003) verringerte sich bei Schweinen die Annäherungszeit an eine unbekannte Person nach einem wiederholt durchgeführten „human-approach“-Test. Auf die

mehrmalige Konfrontation mit einem „open-field“-Test reagierten Ferkel mit einer Reduktion aktiver Verhaltensweisen wie Lokomotion und Vokalisation (Kanitz et al., 2009).

Im Rahmen dieser Arbeit wurde die wiederholte Durchführung des „open-field“/„novel-object“-Tests genutzt, um Abweichungen in der Habituationsreaktion als Folge der sozialen Isolation zu untersuchen. Haltungsbedingte Herausforderungen wie Isolation oder Absetzen können in psychosozialen Stress resultieren, welcher eine hyperreaktive Stressantwort in Form verminderter Habituation bedingen kann (McEwen, 2007). Diese Hyperstimulation kann zu Adaptationsproblemen führen und sich negativ auf das Wohlbefinden der Tiere auswirken (Korte et al., 2007). Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigen, dass eine soziale Isolation nach einem „open-field“/„novel-object“-Test eine verminderte Habituation in der Verhaltensreaktivität während des darauffolgenden „open-field“/„novel-object“-Tests bewirkte. Dies war durch eine geringere Abnahme des Lokomotions- und Fluchtverhaltens und einer geringeren Zunahme der passiven Verhaltensweise Stehen/Sitzen bei den allein isolierten Tieren gekennzeichnet. Diese Befunde bestätigen vorangegangene Arbeiten, in denen isolierte Ferkel in einem wiederholten „open-field“-Test keine Habituation bezüglich der Vokalisationshäufigkeit (Ruis et al., 2001) bzw. eine verminderte Abnahme aktiven Verhaltens im Vergleich zu den Kontrollen aufwiesen (Kanitz et al., 2009). Die in der vorliegenden Arbeit durch die Isolation ausgelöste Aktivitätssteigerung stellt eine kurzfristige Auswirkung der sozialen Deprivation dar. Daneben zeigten sich bei vielen Säugetieren auch langfristige Veränderungen im Verhalten. Die soziale Isolation während der postnatalen Phase führte bei adulten Nagern zu erhöhtem Ängstlichkeitsverhalten (Wigger und Neumann, 1999; Kalinichev et al., 2002). Zahlreiche Untersuchungen an verschiedenen Spezies demonstrierten zudem, dass sozial deprivierte Tiere bis in die adulte Lebensphase hinein stereotype Verhaltensweisen aufwiesen (Latham und Mason, 2008). Generell reagieren Tiere auf eine soziale Deprivation mit einer biphasischen Verhaltensantwort, welche sich in eine anfängliche Protestphase mit erhöhten aktiven Verhaltensmustern und einer anschließenden passiven Phase mit „depressionsähnlichem“ Verhalten untergliedern lässt (Hoff et al., 1994; Hennessy et al., 1995). Die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführte einmalige Isolation führte zu einer kurzfristigen Aktivitätssteigerung bei den Ferkeln und entspricht dem initialen Teil der biphasischen Reaktion. Im Gegensatz zur einmaligen Isolation führte eine wiederholte zweistündige Isolation bei Saugferkeln zu einer verminderten Verhaltensreaktivität im „open-field“-Test, was als depressives Verhalten gewertet werden kann (Kanitz et al., 2004).

Die aktuellen Ergebnisse belegen, dass nicht nur die Verhaltensantwort sondern auch die physiologischen Parameter durch die soziale Isolation verändert wurden. Isolierte Ferkel wiesen, im Gegensatz zu den Kontrolltieren, höhere Konzentrationen an Stresshormonen wie ACTH und Cortisol auf. Diese Ergebnisse verdeutlichen eine Aktivierung der HPA-Achse

infolge der Isolationsprozedur und bestätigen zahlreiche vorangegangene Arbeiten, in denen ebenfalls erhöhte ACTH- und Cortisolwerte nach akuter und chronischer Isolation von Schweinen gefunden wurden (Ruis et al., 2001; Kanitz et al., 2004, 2009; Tuchscherer et al., 2010). Die hier untersuchte einmalige Isolation von Ferkeln führte weiterhin zu erniedrigten CBG-Konzentrationen im Plasma. Daraus resultierte eine höhere Verfügbarkeit von freiem und damit biologisch aktivem Cortisol (Le Roux et al., 2002). Auch bei anderen Säugetierspezies zeigten sich Veränderungen in der Stressantwort nach einer sozialen Isolation. Schmidt et al. (2004) konnten bei Nagern feststellen, dass die Isolation verschiedene Komponenten der HPA-Achse zu unterschiedlichen Zeitpunkten nach der Deprivation beeinflusste. Dies beinhaltete ein erhöhtes basales ACTH- und Cortisolniveau (Rosenfeld et al., 1991; Cirulli et al., 1994; Rentesi et al., 2010) sowie eine generell erhöhte HPA-Antwort auf zusätzliche Stressoren (Suchecki et al., 1993; Kuhn und Schanberg, 1998; Schmidt et al., 2002; Rivarola und Suárez, 2009). Auch bei Menschen und Primaten führte die maternale Deprivation zu einer Aktivierung der HPA-Achse und bedingte erhöhte Cortisolwerte während eines sozialen Stresstests im Erwachsenenalter (Sanchez, 2006; Pesonen et al., 2010). Generell sind die endokrinen Veränderungen Kennzeichen für ein aktiviertes HPA-System infolge der maternalen Deprivation und sozialen Isolation.

Bereits eine einmalige soziale Isolation bewirkte in der vorliegenden Arbeit eine veränderte Genexpression in stress- und verhaltenrelevanten Hirnregionen wie PFC, Amygdala, Hypothalamus und Hypophyse. Die sozial isolierten Ferkel wiesen dabei eine geringere MR mRNA Expression in PFC und Hypothalamus auf, der Gehalt an GR mRNA blieb dagegen unbeeinflusst. Das Verhältnis von MR/GR veränderte sich in den vier untersuchten Hirnregionen infolge der Isolation signifikant, wobei das MR/GR Verhältnis bei sozial isolierten Ferkeln niedriger war als bei den Kontrolltieren. Poletto et al. (2006) haben gezeigt, dass schon eine 15-minütige soziale Isolation bei Ferkeln zu einer Reduktion der GR und MR mRNA im PFC führte, wogegen die mRNA Expression im Hippocampus unverändert blieb. Eine vierstündige Isolation von Ferkeln verursachte nach Kanitz et al. (2009) eine Erhöhung der GR und MR mRNA im Hypothalamus, während im Hippocampus keine isolationsbedingten Veränderungen auftraten. In der Amygdala resultierte die Isolation zusätzlich in einer verminderten MR mRNA Expression. Auch bei anderen Säugerspezies wie Nager und Primaten konnte eine verminderte GR und MR mRNA Expression im limbischen System infolge sozialer Deprivation gefunden werden (Vazquez et al., 1996; Avishai-Eliner et al., 1999; Schmidt et al., 2002, 2004; Arabadzisz et al., 2010; Faturi et al., 2010). Nach Liberzon et al. (1999) führte eine Stressprozedur in Form von drei aufeinanderfolgenden, verschiedenen Stressoren nach 24 Stunden zu einer Reduktion der MR und GR mRNA. Längerfristig betrachtet, bewirkte die gleiche Stressprozedur nach einer siebentägigen Erholphase eine erniedrigte MR mRNA sowie

eine erhöhte GR mRNA Expression. Generell kann die Verschiebung des Rezeptorverhältnisses in einer modifizierten HPA-Regulation resultieren. Eine verringerte Expression des MR zieht eine erhöhte basale und stressinduzierte Aktivität der HPA-Achse nach sich (de Kloet et al., 1994). Besonders Modulationen der GR-Aktivität bewirken zudem Veränderungen in den negativen Rückkopplungsmechanismen der Stressachse (de Kloet et al., 1998). Auch die Verhaltensadaptation und kognitive Funktionen können über die Glucocorticoid-gesteuerten Rezeptoren reguliert werden (McEwen und Sapolsky, 1995). Nach Oitzl et al. (1997) ist der GR vorrangig in Langzeitgedächtnisprozesse involviert, wohingegen der MR entscheidend die Verhaltensreaktionen in neuen Situationen beeinflusst. Untersuchungen von Greenwood-Van Meerveld et al. (2001) an Ratten unterstützen diese Aussage, da Cortisol-Injektionen in die Amygdala eine Aktivierung von Corticosteroidrezeptoren auslöste, die bei den Tieren ein ängstlichkeitsähnliches Verhalten im Kreuzlabyrinth induzierten. Interessanterweise wurde durch die Gabe von GR- und MR-Antagonisten diese Cortisol-vermittelte Wirkung wieder aufgehoben (Myers und Greenwood-Van Meersfeld, 2007). Letztendlich verweist eine Imbalance von GR- und MR-vermittelten Effekten auf eine Fehlsteuerung der Stressantwort, von Adaptationsmechanismen sowie von kognitiven Prozessen (de Kloet und Derijk, 2004).

Die vorliegende Arbeit belegte mittels der Untersuchungen an den Glucocorticoid-konvertierenden Enzymen 11 β -HSD1 und 11 β -HSD2, dass eine vierstündige Isolation zu erhöhten Expressionsraten der 11 β -HSD2 im PFC, der Amygdala und dem Hypothalamus der Ferkel führte. Die Expression der 11 β -HSD1 mRNA blieb in den hier untersuchten Hirngebieten von der Isolation unbeeinflusst. Nach Poletto et al. (2006) bewirkte eine 15-minütige Isolation keine Veränderungen der hippocampalen 11 β -HSD1 und 11 β -HSD2 mRNA Expression. Allerdings war die mRNA Expression beider Enzyme im PFC der Ferkel reduziert. Kanitz et al. (2009) konnten feststellen, dass eine soziale Isolation die 11 β -HSD1 mRNA in Hypothalamus und Hippocampus der Tiere erhöhte. Dagegen blieben die Expression der 11 β -HSD1 mRNA in der Amygdala und die 11 β -HSD2 mRNA in allen untersuchten Hirnarealen von der Isolation unbeeinflusst. Allgemein ermöglicht die 11 β -HSD2 die Umwandlung von biologisch aktiven Glucocorticoiden in ihre inerte Form. Die gesteigerte Enzymexpression von 11 β -HSD2 in der vorliegenden Studie stellt wahrscheinlich einen Adaptationsmechanismus dar, um den Organismus vor hohen Cortisolkonzentrationen infolge nachfolgender potentieller Stressoren zu schützen. Gerade in der postnatalen Phase bedarf das Gehirn eines Schutzes vor hohen Glucocorticoidkonzentrationen, da diese die Zellproliferation und die Zelldifferenzierung inhibieren können (Holmes und Seckl, 2006).

Zusammenfassend belegen die aufgeführten Studien, dass die unterschiedlichen Ergebnisse sowohl in den verschiedenen angelegten Versuchsdesigns (z.B. Art und Dauer des Stressors, Zeitpunkt der Analyse) als auch in rassespezifischen Besonderheiten der Schweine

begründet sein können. So unterschieden sich Schweine verschiedener Rassen signifikant in der basalen und stressbedingten Konzentration von ACTH und Cortisol (Désautés et al., 1997; Foury et al., 2007). Auch die Konzentration und die Bindungskapazität von CBG waren rasseabhängig (Marple et al., 1974; Geverink et al., 2006). Zusätzlich traten Unterschiede in der mRNA Expression von GR, MR, 11 β -HSD1 und 11 β -HSD2 (Wei et al., 2010) sowie in der Rezeptordichte von GR und MR (Perreau et al., 1999) auf cerebraler Ebene aufgrund der Rassezugehörigkeit auf.

Der Einfluss der Isolation auf die neuronale Aktivität in stressrelevanten Hirngebieten wurde mit Hilfe der c-fos Expression untersucht. In Übereinstimmung mit der Studie von Kanitz et al. (2009) konnte festgestellt werden, dass die soziale Isolation von Ferkeln zu erhöhten Konzentrationen an c-fos mRNA im Hypothalamus und der Amygdala führte. In beiden Hirngebieten verursachten psychische Stressoren höhere neuronale Aktivitätsniveaus verglichen mit physischen Stressfaktoren (Emmert und Herman, 1999; Abraham und Kovacs, 2000). Da sowohl der Hypothalamus als auch die Amygdala eine zentrale Rolle in der Regulation der Stressantwort spielen, kann deren isolationsabhängige Beeinflussung zu Veränderungen in der Stressadaptation führen. Eine gesteigerte neuronale Aktivität konnte auch in Untersuchungen an gestressten Nagern gefunden werden. Psychischer Stress in Form von Immobilisation bewirkte bei Ratten eine deutliche Zunahme der c-fos mRNA in Hypothalamus und Amygdala sowie in zahlreichen weiteren stressrelevanten Hirnregionen (Vallès et al., 2006; Ons et al., 2010). Auch psychosozialer Stress durch maternale Deprivation erhöhte die c-fos mRNA im Hypothalamus (Smith et al., 1997; Akbari et al., 2008). Soziale Isolation in Kombination mit einem Stresstest führte zu einer gesteigerten Anzahl Fos-positiver Zellen im Hypothalamus und der Amygdala von isolierten Ratten (Sanders und Anticevic, 2007).

Untersuchungen an verschiedenen Tierarten belegten, dass sowohl psychischer als auch physischer Stress die Gentranskription, die Proteinsynthese und die Freisetzung von proinflammatorischen Zytokinen im Gehirn und der Peripherie verändern können. Bei Ratten führten unvorhersehbare Elektroschocks zu einer niedrigeren TNF- α mRNA in Hypothalamus und Hypophyse verglichen mit den ungestressten Kontrolltieren (O'Connor et al., 2003). Jedoch veränderte sich die IL-6 mRNA in den untersuchten Hirngebieten infolge dieses Stressors nicht. Die mRNA Expression des Zytokins IL-1 β hingegen erhöhte sich durch die Elektroschocks in Hypothalamus, Hippocampus und Hypophyse. In der vorliegenden Arbeit hatte eine einmalige soziale Isolation von Ferkeln keine Auswirkungen auf die Expression von IL-6 und TNF- α in den Hirngebieten PFC, Amygdala, Hypothalamus und Hypophyse. Möglicherweise ist die soziale Isolation bei Schweinen keine adäquate Stressform um die mRNA Expression der Zytokine IL-6 und TNF- α im Gehirn zu verändern. Eventuell hängt das erhaltene Ergebnis auch vom gewählten Analysezeitpunkt ab, da eine potentiell veränderbare mRNA Expression nach

der vierstündigen Isolation schon wieder innerhalb des Ausgangsniveaus liegen könnte. Nach Morsink et al. (2006) führten erhöhte Glucocorticoidkonzentrationen, wie sie nach Stressoreinwirkung auftreten können, zu zeitlich dynamischen Modulationen in der Expression von Glucocorticoid-abhängigen Genen. Nach einer Stunde reagierten die Hippocampuszellen von Ratten auf eine Glucocorticoidapplikation mit der Herunterregulation von 81 Genen, drei Stunden danach waren 161 Gene hoch bzw. herunter reguliert und fünf Stunden nach der Applikation wurde mit 15 hoch regulierten Genen annähernd das Ausgangsniveau erreicht. Allerdings können Unterschiede im zeitlichen Verlauf der Expression auftreten, die sowohl von der untersuchten Spezies als auch vom analysierten Gen abhängen. Mit den Untersuchungen der vorliegenden Studie kann zudem die Möglichkeit einer veränderten Proteinexpression von IL-6 und TNF- α nicht ausgeschlossen werden. So stellten Jankord et al. (2007) bei Schweinen fest, dass der Proteingehalt an IL-6 im Hypothalamus der Tiere durch akuten Stress infolge körperlicher Belastung erniedrigt wurde. Bei Mäusen führte ein sozialer Stresstest zu erhöhten Proteinkonzentrationen von IL-6 im Gehirn und im Blut der Tiere (Meagher et al., 2007). Elektroschocks bei Ratten bewirkten Erhöhungen des IL-1 β Proteins in Hypothalamus und Hypophyse (O'Connor et al., 2003).

4.2 EFFEKTE DER SOZIALEN UNTERSTÜTZUNG

Beruhend auf Studien bei Menschen, wird der positive Effekt der sozialen Unterstützung auf Wohlbefinden und Gesundheit durch zwei verschiedene Theorien erklärt (Cohen und Wills, 1985). Einerseits kann die soziale Unterstützung unabhängig von einwirkenden Stressoren generell vorteilhaft auf den Rezipienten wirken („main- or direct-effect model“), indem beispielsweise ein gesundheitsbewusstes Verhalten und das Selbstwertgefühl bei der unterstützten Person gefördert werden. Andererseits kann die Anwesenheit eines Sozialpartners in Belastungssituationen die physiologischen Stressreaktionen mit erhöhten Cortisolkonzentrationen bei den Rezipienten abmildern („stress buffering model“).

Das experimentelle Design der vorliegenden Arbeit beim Schwein orientierte sich an der Theorie des „stress buffering models“, um den Einfluss der sozialen Unterstützung in Belastungssituationen im Kontext der konventionellen Nutztierhaltung zu untersuchen. Als Stressor wurde eine vierstündige soziale Isolation der Ferkel gewählt. Wie bereits diskutiert wurde, löst eine soziale Isolation bei Säugetieren eine kurzfristige Zunahme von aktiven Verhaltensmustern aus. Diese Verhaltensreaktion auf die Isolationsprozedur wird primär durch eine soziale Motivation der Tiere bedingt (Jones und Merry, 1988). Das Ziel des veränderten

Verhaltens ist dabei die Rückkehr zum Sozialpartner (Newberry und Swanson, 2008). Die Ergebnisse dieser Arbeit verdeutlichen, dass das Verhalten der isolierten Versuchsferkel maßgeblich davon beeinflusst wurde, ob die Tiere die Isolation allein oder mit einem sozialen Gefährten erlebten. Tiere mit sozialer Unterstützung wiesen während der Isolationsphase ein weniger erregtes Verhalten als Ferkel ohne Isolationspartner auf. Dies spiegelte sich in einer geringeren Aktivitätsdauer und einem längeren Liegeverhalten der Tiere wider. Des Weiteren war auch das Fluchtverhalten während der Isolation bei Ferkeln mit Partner geringer ausgeprägt. Versuchsbedingt konnte keine Vokalisationsanalyse während der Isolationsprozedur vorgenommen werden. Allerdings zeigte sich bei den „open-field“/ „novel-object“-Tests vor und nach der Isolation, dass die Vokalisationsabnahme bei Ferkeln mit sozialem Gefährten größer war als bei den allein isolierten Tieren. Diese Ergebnisse unterstützen die Befunde von Herskin und Jensen (2000), welche die Stressantwort von vollständig und teilweise isolierten Ferkeln miteinander verglichen. Nach zweiwöchiger Isolation wiesen Tiere mit eingeschränktem Kontakt zu Artgenossen verringerte stressbedingte Verhaltensreaktionen (z.B. weniger Scharren, häufigeres Spielverhalten) als die vollständig isolierten Probanden auf. Interessanterweise verminderte schon das Vorspielen von mütterlichen Lautäußerungen die lokomotorische Aktivität von isolierten Ferkeln in einer fremden Umgebung (Puppe et al., 2003). Auch bei anderen Nutztierarten wie Schaf, Ziege und Rind wurden isolationsbedingte Erhöhungen der Vokalisationsrate durch die Anwesenheit eines Artgenossen reduziert (Lyons et al., 1993; Boissy und Le Neindre, 1997; Færevik et al., 2006). Untersuchungen an Labortieren veranschaulichen, dass beispielsweise Nager während einer Isolationsprozedur weniger vokalisiert, wenn in der Testsituation ein sozialer Gefährte anwesend war (Hennessy und Ritchey, 1987; Hennessy et al., 2002). Bei höheren Säugetierarten wie Primaten bewirkte eine soziale Unterstützung durch gleichaltrige Partner eine geringere Anzahl repetitiver abnormaler Verhaltensweisen (z.B. Umherwerfen des Kopfes) in haltungsbedingten Stresssituationen (Gilbert und Baker, 2011).

Die in der vorliegenden Arbeit gezeigten Verhaltensreaktionen der Ferkel auf die Isolation wurden durch die hormonellen Ergebnisse bestätigt. Ferkel aller Isolationsarten hatten eine deutliche Zunahme der Cortisolkonzentration und eine ausgeprägte Abnahme der CBG-Werte im Vergleich zu den Kontrolltieren. Die soziale Unterstützung bewirkte allerdings, dass die Cortisolzunahme bei Ferkeln mit Sozialpartner weniger ausgeprägt war als bei den allein isolierten Probanden. Es ist bekannt, dass bei Schweinen die adrenocorticale Stressreaktivität und aktives Verhalten in einem „open-field“-Test gut miteinander korrelieren (von Borell und Ladewig, 1992). Auch in dieser Arbeit wiesen allein isolierte Ferkel eine positive Korrelation zwischen der stressinduzierten Cortisolkonzentration und dem gezeigten Fluchtverhalten während der Isolationsprozedur auf. Bei Ferkeln, die während der Isolation sozial unterstützt

wurden, korrelierten die Cortisolwerte und das Fluchtverhalten jedoch nicht. Ein Grund dafür könnten die signifikant geringeren Cortisolkonzentrationen und das reduzierte Fluchtverhalten bei den sozial unterstützten Tieren sein. Diese Ergebnisse verdeutlichen eine verminderte Stressantwort aufgrund der sozialen Unterstützung, wodurch im Gegensatz zu einer ausgeprägten Stressreaktion die Korrelation möglicherweise nicht mehr nachzuweisen ist.

Weitere Untersuchungen bestätigen, dass auch bei Schafen eine soziale Unterstützung durch Artgenossen zu signifikant geringeren Cortisolwerten nach einem „novel-human“-Test im Vergleich zu den allein getesteten Tieren führte (Lyons et al., 1993). Selbst die vorgespielte „playback“-Stimme des Muttertieres reduzierte die Cortisolkonzentrationen von sozial isolierten Kälbern (Steinhardt und Thielscher, 1999). Des Weiteren verringerte sich bei Nagern die stressbedingte Cortisolkonzentration in einer unbekanntem Umgebung durch die Präsenz der maternalen Sozialpartnerin (Hennessy et al., 2002).

Aus der Literatur ist bekannt, dass verschiedene Faktoren für die Funktion der sozialen Unterstützung ausschlaggebend sein können. Dazu gehört die Spezies, das Geschlecht, der Ontogenesezustand und die Beziehung zum sozialen Gefährten (Hennessy et al., 2009). Des Weiteren kann auch eine Kombination aus den angeführten Effekten die soziale Unterstützung beeinflussen. Nach Rault (2012) können die Bindungen zwischen einem Individuum und seinen verschiedenen Sozialpartnern einer unterschiedlichen Bewertung unterliegen. Die „primären“ Bindungen sind beispielsweise zwischen dem Muttertier und seinem juvenilen Nachwuchs möglich, wohingegen „sekundäre“ Bindungen zwischen den Geschwistertieren auftreten können. Abhängig vom Ontogenesezustand des Tieres kann der Bindungsgrad zum sozialen Partner jedoch wechseln und damit auch die Möglichkeit von diesem Partner soziale Unterstützung zu empfangen. Die Studie von Hennessy et al. (2006) an männlichen Meerschweinchen verschiedener Altersstufen verdeutlichte, dass eine Stressreaktion infolge einer neuen Haltungsumwelt bei juvenilen Tieren während der Säugezeit durch die Mutter abgemildert wurde, wohingegen die adulten Tiere durch ihre Gefährtin soziale Unterstützung erhielten. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde ebenfalls nachgewiesen, dass der Bekanntheitsgrad zwischen dem Versuchstier und seinem jeweiligen Sozialpartner einen Einfluss auf die stressmildernden Effekte der sozialen Unterstützung hatte. So lagen Ferkel mit bekanntem Isolationspartner während der Isolation signifikant länger und waren dementsprechend weniger aktiv als die allein und mit unbekanntem Partner isolierten Tiere. Die Kontaktdauer zum Isolationspartner erwies sich als unabhängig vom Bekanntheitsgrad des sozialen Gefährten. Jedoch war die Häufigkeit des Sozialkontaktes bei Ferkeln mit unbekanntem Partner signifikant größer als bei Tieren mit bekanntem Isolationspartner. Da die Ferkel mit unbekanntem Partner während der Isolation ein aktiveres Verhalten zeigten, bedingte dies einen öfter auftretenden Kontaktabbruch mit nachfolgender Kontaktwiederaufnahme mit

dem Sozialpartner. In den wiederholten „open-field“/„novel-object“-Tests war die Abnahme von aktiven Verhaltensweisen wie Lokomotion und Vokalisation bei Ferkeln mit bekanntem Isolationspartner ausgeprägter als bei den allein isolierten Tieren. Dieses ausgeglichene, weniger erregte Verhalten der familiär unterstützten Tiere entsprach damit dem Verhalten der Kontrolltiere und verweist auf die unverminderte Fähigkeit zur Habituation an den Verhaltenstest. Demgegenüber wurden bei Ferkeln, die mit einem unbekanntem Artgenossen isoliert waren, ähnliche Verhaltensänderungen wie bei den allein isolierten Tieren festgestellt. Sowohl die Zunahme des passiven Verhaltens (Stehen/Sitzen) als auch die Abnahme des aktiven Verhaltens (Fluchtverhalten, Vokalisation) war bei ihnen deutlich geringer im Vergleich zu den Kontrollferkeln. Auch gegenüber den Ferkeln mit bekanntem Isolationspartner vokalisiert die Tiere mit unbekanntem Gefährten deutlich mehr. Die aufgeführten Ergebnisse verdeutlichen, dass der Effekt der sozialen Unterstützung auf das Verhalten der Tiere ausgeprägter war, wenn die Ferkel mit einem bekannten Sozialpartner isoliert waren. Möglicherweise bestand zwischen dem Versuchstier und dem bekannten Sozialpartner eine „primäre“ oder „sekundäre“ Bindung, wogegen zu den unbekanntem Artgenossen eine schwächere oder gar keine Bindung vorlag. Interessanterweise unterschieden sich die sozial unterstützten Tiere abhängig vom gewählten Sozialpartner auch in ihrem Exkretionsverhalten (Miktion, Defäkation). Ferkel, die mit einem bekannten Partner isoliert waren, wiesen eine geringere Abnahme der Häufigkeit und Latenz des Ausscheidungsverhaltens in den wiederholten „open-field“/„novel-object“-Tests im Vergleich zu allein und mit unbekanntem Partner isolierten Tieren auf. Bei der Bewertung von Verhaltensweisen im „open-field“-Test wird die Ausscheidung von Harn und Kot oftmals mit emotionaler Erregung in Verbindung gebracht (Hall, 1934; Forkman et al., 2007). Davon ausgehend, könnten die Ergebnisse so interpretiert werden, dass die Ferkel mit bekanntem Isolationspartner im Verhaltenstest nach der Behandlung erregter waren als die isolierten Tiere ohne bzw. mit unbekanntem Artgenossen. Allerdings steht die Auswertung des Exkretionsverhaltens somit im Gegensatz zum untersuchten Vokalisationsverhalten, welches laut Forkman et al. (2007) einen relevanten Indikator für die Erregung von Versuchstieren in neuen Situationen darstellt. Nach Beendigung der Isolation konnte zudem beobachtet werden, dass allein und mit unbekanntem Artgenossen isolierte Tiere eine höhere Ausscheidungsrate aufwiesen als Ferkel mit bekanntem Isolationspartner. Dieser Befund ist eine potentielle Ursache für das insgesamt geringere Exkretionsverhalten der allein und mit unbekanntem Partner isolierten Ferkel in den wiederholten „open-field“/„novel-object“-Tests.

Die Untersuchung der Stresshormone bestätigte die Ergebnisse der Verhaltensreaktionen. Ferkel mit unbekanntem Isolationspartner wiesen, genau wie allein isolierte Tiere, eine geringere Abnahme der ACTH-Konzentration im Vergleich zu den

Kontrolltieren auf. Studien an Rindern erbrachten ähnliche Ergebnisse. Separierte Kälber bevorzugten die Nähe von familiären Tieren anstelle der fremder Artgenossen. Zudem verringerte die Anwesenheit eines bekannten Isolationspartners am deutlichsten die Vokalisationsraten der untersuchten Tiere (Færevik et al., 2006). Nach Boissy und Le Neindre (1997) reduzierte die Anwesenheit eines Artgenossen unabhängig von dessen Bekanntheitsgrad die Vokalisationsrate und die allgemeine Aktivität von isolierten Rindern. Jedoch verminderte sich die Herzschlagrate der isolierten Probanden nur durch die Präsenz eines bekannten Sozialpartners. Bei juvenilen Meerschweinchen konnte die Cortisolreaktion auf eine fremde Umgebung sowohl durch das Muttertier und die Geschwister aber auch durch familiäre und unbekannte Weibchen abgemildert werden (Hennessy et al., 2002). Dagegen wurde bei den adulten weiblichen Tieren einer physiologischen Stressreaktion nur durch familiäre Artgenossen entgegen gewirkt, fremde Artgenossen lösten keine soziale Unterstützung aus (Hennessy et al., 2008). Bei adulten männlichen Meerschweinchen milderte zudem nur die soziale Gefährtin zuverlässig einen Cortisolanstieg aufgrund einer neuen Haltungsumwelt ab (Sachser et al., 1998). Die aufgeführten Studien belegen, dass der Bekanntheitsgrad zwischen dem Versuchstier und seinem Sozialpartner sowohl die Verhaltensantwort als auch die Stresshormonkonzentration nach Stressoreinwirkung beeinflusst. Deshalb wurde in dieser Arbeit auch untersucht, ob Korrelationen zwischen der Änderung von Verhaltensweisen in den „open-field“/„novel-object“-Tests und der Cortisoländerung (Ergebnisse nach der Behandlung minus vor der Behandlung) durch die Art des sozialen Partners (IB oder IU) verändert wurden. Es kann festgestellt werden, dass Ferkel mit unbekanntem Isolationspartner positive Korrelationen zwischen der Cortisoländerung und der Änderung der Lokomotionsdauer und Vokalisationsdauer aufwiesen. Dagegen war bei Ferkeln, die mit einem bekannten Partner isoliert waren, die Cortisoländerung negativ mit der Änderung der Lokomotionsdauer korreliert. Der Stress-abmildernde Effekt der sozialen Unterstützung beruht vermutlich auf einer Suppression der HPA-Achse, wobei die physiologischen Grundlagen am Ende dieses Kapitels genauer diskutiert werden. Die vorgestellten Ergebnisse verdeutlichen jedoch, dass die soziale Unterstützung mit bekannten Artgenossen das Verhalten der Versuchstiere über andere Regulationsmechanismen als die HPA-Achse beeinflussen könnte. Endogene Opiode beispielsweise sind an der Ausprägung sozialer Beziehungen beteiligt und können durch soziale Stimuli freigesetzt werden (Machin und Dunbar, 2011). Die Rolle des endogenen Opioid-Systems wurde an Knockout-Mäusen untersucht, bei denen die Expression einzelner oder mehrerer Opiode und Opioidrezeptoren unterdrückt war (Kieffer und Gavériaux-Ruff, 2002). Es konnte gezeigt werden, dass die lokomotorische Aktivität der Tiere durch Enkephaline moduliert wurde. Doch auch das Vokalisationsverhalten während einer Isolation konnte durch Opioid-Agonisten wie Morphin vermindert werden (Nelson und Panksepp, 1998).

Neben dem Einfluss auf Verhalten und Stresshormone wurde in der vorliegenden Arbeit erstmals beim Nutztier nachgewiesen, dass die mRNA Expressionen stressregulierender Signalmoleküle im Gehirn durch die soziale Unterstützung beeinflusst werden können. In den untersuchten Hirngebieten PFC, Amygdala, Hypothalamus und Hypophyse hatten Ferkeln mit unbekanntem Isolationspartner ein signifikant größeres Verhältnis von MR/GR mRNA im Vergleich zu den allein isolierten Ferkeln. Zudem wiesen Probanden, die mit einem unbekanntem Artgenossen isoliert wurden, in PFC und Amygdala tendenziell niedrigere mRNA Expressionen der Zytokine IL-6 und TNF- α als die Tiere aus alleiniger Isolation auf. Unabhängig vom Bekanntheitsgrad des Artgenossen hatten Ferkel mit Isolationspartner in PFC und Amygdala eine geringere 11 β -HSD2 mRNA Expression als die allein isolierten Tiere. Die physiologische Antwort der mit einem sozialen Gefährten isolierten Ferkel entsprach damit dem neuroendokrinen Basalzustand der untersuchten Kontrolltiere und verdeutlicht den abmildernden Effekt der sozialen Unterstützung auf stressinduzierte Veränderungen im Gehirn. Bei den allein isolierten Ferkeln konnte in PFC und Amygdala zudem eine negative Korrelation zwischen der 11 β -HSD1 mRNA und den Stresshormonen ACTH und Cortisol gefunden werden. Nach Holmes und Seckl (2006) ist dieses Enzym in den negativen Rückkopplungsmechanismus der HPA-Achse involviert und eine verringerte Enzymexpression bedingt eine langsamere Rückkehr zum basalen Glucocorticoidniveau. Dies deutet eine verminderte Adaptationsleistung der allein isolierten Ferkel an. Bei Ferkeln mit Isolationspartner waren die Stresshormone nicht negativ mit der 11 β -HSD1 mRNA korreliert, wodurch wiederum ein positiver Einfluss der sozialen Unterstützung auf die Reaktivität der HPA-Achse bestätigt wird. Weiterhin zeigten Ferkel aller Isolationsarten einen signifikanten Anstieg der c-fos mRNA im Hypothalamus. Allerdings konnte bei Tieren mit unbekanntem Isolationspartner in der Amygdala eine geringere c-fos Expression als bei allein isolierten Ferkeln festgestellt werden. Diese Ergebnisse unterstützen die Befunde von da Costa et al. (2004), welche Schafe für 30 Minuten sozial isolierten. Betrachteten die Schafe während dieser Zeit Bilder von Artgenossen, so reduzierte sich durch diese Form der sozialen Unterstützung die c-fos mRNA Expression in Angst- und Stress-assoziierten Hirnregionen (zentrale Kerngebiete der Amygdala, PVN des Hypothalamus). Auch Kiyokawa et al. (2009) fanden bei Ratten einen positiven Effekt der sozialen Unterstützung auf den Marker neuronaler Aktivität. Demnach verminderte die Anwesenheit eines Artgenossen den Proteingehalt an c-Fos im Hypothalamus der separierten Tiere. Zusammenfassend implizieren die Ergebnisse, dass eine soziale Unterstützung durch Artgenossen die isolationsbedingten neuroendokrinen und neuroimmunologischen Veränderungen auf molekularer Ebene abmildern kann.

Generell wird beim Schwein die Funktion der sozialen Unterstützung vermutlich vorrangig über olfaktorische Signale gewährleistet, da die Tiere zu den Makrosmaten zählen

und hauptsächlich ihren Riechsinn nutzen (Mayer et al., 2006). Dagegen spielt der Sichtkontakt bei der Etablierung und Aufrechterhaltung von tierindividuellen Beziehungen nur eine untergeordnete Rolle (Ewbank et al., 1974). Zahlreiche Untersuchungen bestätigen, dass Schweine ihre Artgenossen gut über Geruchsstoffe diskriminieren können und so zielgerichtet zwischen familiären und unbekanntem Schweinen unterscheiden können (Kristensen et al., 2001; Mendl et al., 2002; McLeman et al., 2008). Vermutlich werden die gruppenspezifischen Schlüsselreize von den Schweinen erlernt, da die Erkennung auf familiären Geruchsmerkmalen basiert, die unabhängig von der genetischen Verwandtschaft sein können (Stookey und Gonyou, 1998).

Die physiologischen Mechanismen, welche den Funktionen der sozialen Unterstützung zugrunde liegen, sind bisher kaum untersucht worden. Allerdings gibt es Hinweise, dass die Vorteile positiver sozialer Interaktionen auf einer Suppression der HPA-Achse beruhen (Kirschbaum et al., 1995; Thorsteinsson und James, 1999; Detillion et al., 2004). Diese Hemmung könnte zum einen aus der verminderten Freisetzung proinflammatorischer Zytokine resultieren. Geringere Zytokinkonzentrationen wirkten weniger hemmend auf die Hirngebiete PFC und Hippocampus, welche dadurch einen größeren inhibitorischen Einfluss auf die HPA-Achse hatten (Crane et al., 2003; Koo und Duman, 2008). Wie durch die vorliegende Studie festgestellt wurde, entsprach auch das Verhältnis von MR/GR bei sozial unterstützten Ferkeln dem Niveau der nicht isolierten Kontrolltiere. Dadurch war eine ausbalancierte Aktivierung der beiden Rezeptoren gewährleistet, welche die Grundlage für das homeostatische Gleichgewicht eines Organismus darstellt. Weiterhin bestehen Hinweise, dass auch das hypothalamische Neuropeptid Oxytocin an der Suppression der HPA-Achse beteiligt sein kann. Generell wird dem Oxytocin eine entscheidende Rolle bei der Ausprägung sozialer Beziehungen und der sozialen Artgenosserkennung zugesprochen (Lim und Young, 2006; Young et al., 2011). Die experimentelle Verabreichung von Oxytocin führte zu einer verringerten HPA-Aktivität in Form erniedrigter ACTH- und Cortisolkonzentrationen (Windle et al., 1997; Heinrichs et al., 2003). Ebenso konnten Oxytocin-Gaben das Verhalten der Versuchstiere verändern, beispielsweise durch eine reduzierte Ängstlichkeit im erhöhten Kreuzlabyrinth oder in der Hell-Dunkel-Box (van den Burg und Neumann, 2011). Die aufgeführten Studien belegen, dass die Wirkung der sozialen Unterstützung auf einer reduzierten Aktivität der HPA-Achse beruht, wobei verschiedene Regulationsmechanismen beteiligt sein können. Letztendlich verdeutlichen die verminderten ethologischen und physiologischen Stressreaktionen jedoch die positiven Auswirkungen der sozialen Unterstützung auf das Wohlbefinden und die Gesundheit der Tiere.

4.3 EINFLUSS DES LEBENSALTERS

Mit der vorliegenden Studie konnte gezeigt werden, dass bei Schweinen ein Einfluss des Lebensalters auf ethologische Reaktionen in Stresssituationen besteht. So wiesen 7 Tage alte Ferkel im „open-field“/„novel-object“-Test vor der Behandlung mehr aktive (Lokomotion, Fluchtverhalten, Vokalisation) und weniger passive Verhaltensweisen (Stehen/Sitzen) als die 21 Tage und 35 Tage alten Probanden auf. Zudem waren das Ruheverhalten und der Sozialkontakt während der Isolationsprozedur bei den Ferkeln vom 7. Lebenstag signifikant geringer als bei den älteren Versuchstieren. Auch Kanitz et al. (2009) stellten altersabhängige Reaktionen von Ferkeln im „open-field“-Test fest. Im Vergleich zu 35 Tage alten Tieren, trat bei Ferkeln vom 7. und 21. Lebenstag mehr aktives und weniger passives Verhalten während der Testsituation auf. Die erhöhte Präsenz der aktiven Verhaltensweisen Lokomotion, Vokalisation und Fluchtversuch veranschaulicht eine gesteigerte Aktivität und Erregung der 7 Tages alten Ferkel im Vergleich zu den älteren Tieren (Forkman et al., 2007). Dieses aktivere Verhalten während des Verhaltenstests und der Isolationsphase resultierte aus dem Verlust von sozialen Bindungen und der darauffolgenden Motivation zur Rückkehr zum maternalen Sozialpartner (Newberry und Swanson, 2008). Die Verhaltensantwort der ältesten Versuchsgruppe (35. Tag) war in den Testsituationen dagegen geringer ausgeprägt. Dieser niedrigere Erregungsgrad der älteren Tiere kann als Konsequenz einer wachsenden Unabhängigkeit von der mütterlichen Fürsorge gewertet werden (Puppe et al., 2003).

Zusätzlich konnte durch die Auswertung der wiederholten „open-field“/„novel-object“-Tests festgestellt werden, dass Ferkel vom 7. Tag eine geringere Abnahme aktiven Verhaltens (Fluchtverhalten, Vokalisation) und eine geringere Zunahme passiven Verhaltens (Stehen/Sitzen) im Vergleich zu den älteren Tieren aufwiesen. Die Ergebnisse legen dar, dass die Habituation an die Testsituation bei den Ferkeln der jüngsten Altersgruppe eingeschränkt war, was als eine verminderte Adaptationsfähigkeit der jungen Tiere gewertet wird. Generell konnte gezeigt werden, dass bei Ferkeln bis zur dritten Lebenswoche mehr Adaptationsprobleme in Stresssituationen (z.B. soziale Isolation, Absetzen vom Muttertier) auftraten als bei den älteren Artgenossen (Kanitz et al., 2009; Hameister et al., 2010). Sowohl in der Haltung von landwirtschaftlichen Nutztieren als auch von Zoo- und Labortieren führte die Reduktion des Absetzalters zu weitreichenden Verhaltensänderungen wie dem vermehrten Auftreten von abnormalen Verhaltensweisen (Latham und Mason, 2008). Dabei wirkten sich die unterschiedlichen Absetzzeitpunkte nicht nur auf kurzfristige Verhaltensänderungen aus,

sondern konnten auch langfristige Änderungen des Verhaltens bis in die adulte Lebensphase beeinflussen. Ein vermindertes Absetzalter bei juvenilen Nagern bedingte beispielsweise ein erhöhtes Aggressivitäts- und Ängstlichkeitsverhalten im adulten Stadium der Tiere (Nakamura et al., 2003; Kikusui et al., 2004).

Die in der vorliegenden Arbeit durchgeführten Untersuchungen bestätigten, dass das Alter der Ferkel keinen Einfluss auf die Basalwerte der physiologischen Parameter ACTH und Cortisol hatte. Gleichfalls fanden Kanitz et al. (2011) keine Unterschiede in den ACTH-Konzentrationen von 7, 21 und 35 Tage alten Ferkeln. Im Gegensatz dazu stellten Klemcke et al. (1995) höhere basale ACTH-Konzentrationen bei Ferkeln vom 12. Lebenstag im Vergleich zu den 19 Tage und 26 Tage alten Tieren fest. Auch in den Studien von Kanitz et al. (2009) und Tuchscherer et al. (2009) zeigten 7 Tage alte Ferkel höhere ACTH-Werte als Tiere vom 21. Tag auf. Zusätzlich führte ein ACTH-Challenge bei 7 Tage alten Ferkeln zu höheren Cortisolreaktionen verglichen mit den 21 Tage und 35 Tage alten Tieren (Kanitz et al., 1999). Dennoch konnten bei zahlreichen weiteren Studien an Ferkeln im Alter zwischen 3 Tagen und 35 Tagen keine altersabhängigen Veränderungen in der Cortisolkonzentration nachgewiesen werden (Klemcke und Pond, 1991; Klemcke et al., 1995; Kanitz et al., 2009; Tuchscherer et al., 2009). Allerdings konnte die in der vorliegenden Arbeit untersuchte basale CBG-Konzentration im Plasma positiv mit dem Lebensalter der Tiere in Verbindung gebracht werden. Dieser Befund unterstützt somit vorangegangene Studien, in denen altersabhängige Erhöhungen von CBG bei Ferkeln zwischen dem ersten und achtzigsten Lebenstag gefunden wurden (Heo et al., 2003; Roberts et al., 2003; Kanitz et al., 2009, 2011). Es ist bekannt, dass einige Komponenten der HPA-Achse auch auf der Transkriptionsebene einem ontogenetischen Einfluss unterliegen. Beispielsweise hatten Ferkel vom 7. Lebenstag, verglichen mit 21 Tage und 35 Tage alten Tieren, niedrigere Expressionen von GR, MR und 11 β -HSD1 mRNA in PFC und Hypophyse (Kanitz et al., 2011). Zusammenfassend verdeutlichen die Ergebnisse, dass sich die Funktion der HPA-Achse altersabhängig entwickelt und jüngere Ferkel möglicherweise sensitiver auf bestimmte Stressoren reagieren können. Abweichungen zwischen den durchgeführten Studien beruhen vermutlich auf Unterschieden im Versuchsdesign. So war beispielsweise die Zahl an Versuchstieren in einigen Studien relativ gering und zudem können verschiedene Schweinerassen bezüglich ihrer basalen Stresshormonkonzentrationen divergieren (Désautés et al., 1997; Foury et al., 2007).

Die hier untersuchten Änderungen der Hormonkonzentrationen (Werte nach der Behandlung minus Werte vor der Behandlung) waren unabhängig vom Alter der Ferkel. Dies unterstützt Befunde von Klemcke und Pond (1991), die nach einer kurzzeitigen maternalen Deprivation von Saugferkeln keine unterschiedlichen Cortisolkonzentrationen zwischen den verschieden alten Tieren (3.-31. Lebenstag) nachweisen konnten. Die Mehrheit der in der

Übersichtsarbeit von Hameister et al. (2010) angeführten Studien fand beim Absetzen ebenfalls keinen Effekt des Alters auf die Änderung von Stresshormonkonzentrationen. Dagegen bewirkte ein 1-minütiger Immobilitätsstress bei 12 Tage alten Ferkeln, im Vergleich zu 19 Tage und 26 Tage alten Tieren, höhere ACTH- und Cortisolantworten (Klemcke et al., 1995). Zusätzlich wiesen die zeitiger gestressten Versuchstiere eine schlechtere Wachstumsrate als die zu einem späteren Zeitpunkt immobilisierten Tiere auf. Untersuchungen an Nagern verdeutlichen, dass sich ein frühes Absetzalter negativ auf die neuroendokrine Stressantwort auswirken kann. Eine frühzeitige Separation vom Muttertier führte zu einer lang anhaltenden Hyperreaktivität der HPA-Achse, die durch stetig erhöhte Cortisolkonzentrationen gekennzeichnet war (Kikusui und Mori, 2009). Die aufgeführten Studien veranschaulichen, dass ein Einfluss des Lebensalters auf behandlungsabhängige Änderungen von Stresshormonen besteht, dieser jedoch deutlich von der Art des verwendeten Stressors und der gewählten Tierspezies abhängt.

Wie die Ergebnisse der vorliegenden Studie belegen, beeinflusste das Alter der Ferkel die Expression Stress-assoziiierter Gene in PFC, Amygdala und Hypothalamus. Nach der Behandlung war das Verhältnis von MR/GR in Amygdala und Hypothalamus von 7 Tage alten Ferkeln signifikant geringer als bei Tieren vom 35. Lebenstag. Zudem hatten die jüngeren Ferkel im PFC eine höhere Expression von GR und MR mRNA im Vergleich zu den 21 Tage alten Tieren. Auch Poletto et al. (2006) konnten im PFC von 12 Tage alten Ferkeln höhere MR mRNA Expressionen als bei den 23 Tage alten Tieren feststellen. Bei den hier untersuchten 7 Tage alten Ferkeln war zudem das Zytokin IL-6 in PFC und Hypothalamus höher exprimiert als bei den älteren Probanden. In der Amygdala war die mRNA Expression von IL-6 und TNF- α bei den jungen Tieren geringer als bei Ferkeln vom 21. Tag. Auf die mRNA Expression der Enzyme 11 β -HSD1/2 sowie des neuronalen Markers c-fos konnte nur ein ungerichteter Alterseffekt nachgewiesen werden. Auch Kanitz et al. (2009) konnten nach einer vierstündigen sozialen Isolation nur geringfügige Einflüsse des Alters auf die Expression Glucocorticoid-abhängiger Gene in Amygdala, Hypothalamus und Hippocampus finden. Die komplexen Ergebnisse aus den Untersuchungen der mRNA Expression und der Stresshormonkonzentration verdeutlichen ontogenetisch bedingte Unterschiede in der Regulation der HPA-Achse. Bei den 7 Tage alten Ferkeln waren deutlichere Veränderungen feststellbar, die möglicherweise zu einer inadäquaten Adaptation an soziale Stressoren führen. Aus dieser verminderten Anpassungsleistung können ein verschlechtertes Wohlbefinden und eine verringerte Wachstumsleistung der Tiere resultieren.

4.4 SCHLUSSFOLGERUNGEN

Zur experimentellen Simulation der psychosozialen Stresskomponente beim Absetzen von Ferkeln wurden eine maternale Deprivation und soziale Isolation genutzt. Mit Hilfe multidisziplinärer Untersuchungen konnte festgestellt werden, dass die Isolation zu Veränderungen im neuroendokrinen System und im Verhalten der Ferkel führte. Die Isolation bewirkte Erhöhungen von Stresshormonen und Modifikationen in der Expression von Genen, welche die Glucocorticoidantwort im Gehirn regulieren. Insbesondere bei isolierten Ferkeln ohne soziale Unterstützung veränderten sich die mRNA Expressionen von Cortisol-regulierenden Rezeptoren und Enzymen in stress- und verhaltensrelevanten Hirnarealen. Darüberhinaus erhöhte sich durch die soziale Isolation die mRNA Expression von c-fos, einem Marker neuronaler Aktivität. In den wiederholten „open-field“/„novel-object“-Tests wiesen allein isolierte Ferkel eine gesteigerte Verhaltensaktivität und Erregbarkeit auf, was als Ausdruck einer verminderten Habituation an den Verhaltenstest anzusehen ist. Aus diesen Ergebnissen kann geschlussfolgert werden, dass psychosozialer Stress durch maternale Deprivation und soziale Isolation bei den Saugferkeln zuverlässig eine Aktivierung der HPA-Achse auslöst und zu Modifizierungen in der HPA-Regulation sowie zu einer gesteigerten neuronalen Aktivität führt. Neben physiologischen Stressantworten traten ethologische Stressreaktionen wie eine verringerte Fähigkeit zur Adaptation auf. Daraus kann abgeleitet werden, dass die maternale Deprivation und soziale Isolation ein geeignetes Modell zur Untersuchung der psychosozialen Stresskomponente beim Absetzen darstellt.

Bei Ferkeln, die während der vierstündigen Isolationsphase soziale Unterstützung durch gleichaltrige Artgenossen erhielten, wurde eine verringerte Freisetzung des Stresshormons Cortisol festgestellt. Im Vergleich zu allein isolierten Ferkeln wiesen Tiere, die sozial unterstützt wurden, zudem geringere Veränderungen von stressregulierenden Genen auf und tendierten somit in Richtung des neuroendokrinen Basalniveaus der Kontrolltiere. Während der Isolationsprozedur war das Verhalten von sozial unterstützten Ferkeln deutlich ruhiger und ausgeglichener. Physiologische und ethologische Stressreaktionen sowie veränderte Genexpressionen von Signalmolekülen in stress- und verhaltensassoziierten Hirnarealen infolge der maternalen Deprivation können bei Saugferkeln demnach mittels einer geeigneten sozialen Unterstützung durch gleichaltrige Artgenossen abgemildert werden.

In dieser Arbeit wurde erstmalig nachgewiesen, dass auch der Bekanntheitsgrad der Tiere den Effekt der sozialen Unterstützung auf das stressinduzierte Verhalten und die neuroendokrine Stressregulation entscheidend beeinflusst. Ferkel, die mit einem bekannten Artgenossen isoliert waren, zeigten ein ruhigeres, weniger erregtes Verhalten und eine deutliche Reduktion der physiologischen Stressantwort. Die physiologischen und ethologischen Stress-

reaktionen dieser sozial unterstützten Tiere entsprachen damit eher dem neuroendokrinen Basalzustand und den Adaptationsmechanismen von nicht isolierten Kontrollferkeln. Da der positive Effekt der sozialen Unterstützung bei Ferkeln mit bekanntem Artgenossen ausgeprägter war, weist dies auf interindividuelle Erkennungsmechanismen beim Schwein hin.

Unabhängig von der Behandlung der Ferkel wurde ein ontogenetischer Einfluss auf die basale HPA-Aktivität und das Verhalten nachgewiesen. Jüngere Ferkel wiesen Modifikationen von Cortisol-regulierenden Genen im Gehirn sowie ein aktiveres und erregteres Verhalten im „open-field“/„novel-object“-Test vor der Behandlung und während der Isolationsphase auf. Außerdem war die Habituation an den wiederholten „open-field“/„novel-object“-Test bei den jüngeren Ferkeln vermindert, was durch eine höhere Dauer an Fluchtversuchen und Vokalisation belegt werden konnte. Die Ergebnisse lassen die Schlussfolgerung zu, dass die Stressregulationssysteme in der neonatalen Phase noch nicht vollständig ausgereift sind und die Tiere dadurch möglicherweise sensitiver auf Stressoren reagieren. Daraus ergeben sich größere Adaptationsprobleme in Belastungssituationen, die in verringertem Wohlbefinden und verminderter Leistungsbereitschaft resultieren können.

Abschließend kann festgestellt werden, dass durch die Charakterisierung der komplexen Interaktion von Verhalten und Neuroendokrinum grundlegende Erkenntnisse in der Regulation von psychosozialen Stress beim Schwein und deren Beeinflussung durch sozialkommunikative Prozesse gewonnen wurden. Im Kontext der Verbesserung von Wohlbefinden und tiergerechter Haltung kann abgeleitet werden, dass Tierhaltungs- bzw. Managementsysteme bevorzugt werden sollten, die Ferkeln eine Sozialisationsphase vor dem Absetzen oder ein gemeinsames Absetzen ermöglichen. Darüberhinaus sollte von einer Reduktion des in der EU-Richtlinie 91/630 gesetzlich vorgeschriebenen Mindestabsetzalters von 21 Tagen abgesehen werden.

5 ZUSAMMENFASSUNG

Das in der konventionellen Schweinehaltung durchgeführte frühe und abrupte Absetzen von Ferkeln ist ein multipler Stressor für die Tiere, welcher neben veränderter Haltungsumwelt und Futterumstellung auch zum Verlust von sozialen Bindungen führt. Aufgrund des Bindungsverlustes kommt es bei den Ferkeln zu psychosozialen Stress, der negative Auswirkungen auf Wohlbefinden, Gesundheit und Leistung haben kann. Allerdings wurden solche psychosozialen Belastungssituationen in der wissenschaftlichen Bewertung potentieller Stressoren bisher kaum berücksichtigt. Das Ziel der vorliegenden Arbeit bestand daher in Untersuchungen zu neuroendokrinen und ethologischen Interaktionen nach experimenteller Simulation der psychosozialen Stresskomponente beim Absetzen von Ferkeln sowie in Untersuchungen zur Beeinflussung dieser Regelkreise über sozialkommunikative Prozesse. Als Stressmodell diente eine vierstündige maternale Deprivation und soziale Isolation von Saugferkeln im Alter von 7, 21 oder 35 Lebenstagen. Ferkel mit sozialer Unterstützung bekamen während der Isolation entweder einen bekannten oder unbekanntem Artgenossen gleichen Alters zugesetzt. Erstmals wurde dabei untersucht, ob sich der Bekanntheitsgrad der Ferkel auf den Stress-abmildernden Effekt der sozialen Unterstützung auswirkt. Außerdem wurde der Einfluss des Ontogenesezustand auf stressinduzierte Reaktionen analysiert.

Bereits eine einmalige maternale Deprivation und soziale Isolation löste bei den Probanden physiologische Stressreaktionen mit höheren ACTH- und Cortisolkonzentrationen, niedrigeren CBG-Werten und modifizierten Expressionen relevanter Signalmoleküle in stress- und verhaltensassoziierten Hirnarealen aus. Durch die Isolation erhöhten sich zudem die Verhaltensaktivität und die Erregbarkeit der Tiere, gleichzeitig war die Habituation an einen wiederholten „open-field“/„novel-object“-Test vermindert. Diese Ergebnisse lassen den Schluss zu, dass psychosozialer Stress durch maternale Deprivation und soziale Isolation sowohl zu einer Aktivierung des HPA-Systems als auch zu verringerten ethologischen Adaptationsleistungen führt. In den multidisziplinären Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass die negativen Folgen der maternalen Deprivation und Isolation durch geeignete Formen sozialer Unterstützung abgemildert werden können. Die sozial unterstützten Tiere wiesen eine geringere Freisetzung von Stresshormonen und geringere Veränderungen von stressregulierenden Genen auf und entsprachen damit eher dem neuroendokrinen Basalniveau der Kontrolltiere. Auch die ethologische Stressreaktion der Ferkel mit Sozialpartner war deutlich reduziert. Erstmals wurde

beim Schwein nachgewiesen, dass der Bekanntheitsgrad der Tiere den positiven Effekt der sozialen Unterstützung auf das stressinduzierte Verhalten und die neuroendokrine Stressregulation beeinflusst. Ferkel mit bekanntem Isolationspartner reagierten mit ruhigerem Verhalten auf die Isolationsprozedur und habituierten besser an den wiederholten Verhaltenstest. Auch die Reduktion der physiologischen Stressantwort war bei ihnen ausgeprägter. Diese Ergebnisse verdeutlichen, dass Ferkel mit sozialer Unterstützung durch bekannte Artgenossen besser an Belastungssituationen adaptieren können. Die Untersuchungen zum Alterseinfluss ergaben, dass 7 Tage alte Ferkel eine höhere Verhaltensaktivität und Erregung während der Isolation und den Verhaltenstests aufwiesen als die älteren Tiere. Dies deutet an, dass jüngere Ferkel empfindlicher auf diesen Stress reagieren und mehr Adaptationsprobleme aufweisen.

Diese Arbeit liefert grundlegende Erkenntnisse in der Regulation von psychosozialen Stress und deren Beeinflussung durch sozialkommunikative Prozesse. Deshalb stellt sie einen wissenschaftlichen Beitrag zur Verbesserung von Wohlbefinden und Tiergerechtigkeit beim Schwein dar. Als praktische Konsequenz aus diesen Ergebnissen sollten soziale und altersabhängige Bewältigungskompetenzen von Individuen verstärkt berücksichtigt und Tierhaltungssysteme bevorzugt werden, die eine Sozialisationsphase vor dem Absetzen oder ein gemeinsames Absetzen ermöglichen.

6 SUMMARY

In intensive housing systems of pigs, early and abrupt weaning not only involves nutritional and environmental changes, but also causes to the loss of social interactions, which results in psychosocial stress. However, the impact of psychosocial stress on animal welfare, health, and performance is rarely considered in the assessment of potential stressors in animal husbandry. Therefore, the aim of the present study was to simulate the psychosocial stress component of weaning by a 4-h maternal deprivation and social isolation of suckling piglets at 7, 21 or 35 days of age. The consequences of psychosocial stress on the interaction of neuroendocrine and behavioural stress reactions and the effect of social support on these processes were examined. During isolation piglets received social support from either a familiar or an unfamiliar piglet of the same age. Hence, the influence of inter-individual relationships between piglets on the effect of social support was determined for the first time. In addition, the effect of age on stress-induced neuroendocrine and behavioural reactions was analysed.

Even a single maternal deprivation and social isolation caused physiological reactions, consisting of higher ACTH and cortisol concentrations, lower CBG values, and a modified mRNA expression of stress-related molecules in various brain regions. After isolation, piglets displayed increased behavioural activity and arousal, and the habituation to repeated open-field/novel object tests decreased. In conclusion, psychosocial stress by maternal deprivation and social isolation leads to an activation of the HPA system and to a decreased behavioural adaptation to stressful events. The multidisciplinary approach showed that negative effects of maternal deprivation and isolation can be attenuated by social support. Release of stress hormones and changes in the expression of stress-regulating genes were lower in piglets isolated with social partners, indicating neuroendocrine levels similar to non-isolated control piglets. Additionally, the behavioural stress reaction was considerably lower in piglets with social support. For the first time, it could be demonstrated that inter-individual relationships between piglets influence the positive effect of social support on stress-induced behaviour and neuroendocrine stress regulation. Piglets with familiar isolation partners showed quieter behaviour during the isolation procedure, and they habituated better to a repeated behavioural test. Moreover, the reduction of physiological stress reactions was more pronounced. It seems that piglets with familiar partners adapt much better to stressful events than piglets with unfamiliar partners. Further, the 7-day-old piglets had a higher behavioural

activity and arousal during the isolation procedure and the behavioural tests compared to the older piglets. This suggests that younger piglets react more sensitive to this stressor and exhibited more adaptational problems.

The present study provides basic findings on the regulation of psychosocial stress in pigs and the interference by social support processes, which can be regarded a scientific contribution to improve animal welfare. As a practical consequence, social and age-dependent coping competence of individuals should be considered in the assessment of animal housing systems. Consequently, alternative housing systems where piglets are allowed to mix during lactation or where all piglets of one litter can be weaned together should be preferred.

7 LITERATURVERZEICHNIS

- Ábrahám I, Kovács K (2000): Postnatal handling alters the activation of stress-related neuronal circuitries. *European Journal of Neuroscience* 12 (8): 3003-3014.
- Adolphs R (2006): Physiologie und Anatomie der Emotionen. In: Karnath H-O, Thier P (Hrsg.) *Neuropsychologie*, 2. Auflage. Springer Medizin Verlag, Heidelberg, 535-544.
- Akbari E, Budin R, Parada M, Fleming A (2008): The Effects of Early Isolation on Sexual Behavior and c-fos Expression in Naïve Male Long-Evans Rats. *Developmental Psychobiology* 50 (3): 298-306.
- Arabadzisz D, Diaz-Heijtjz R, Knuesel I, Weber E, Pilloud S, Dettling A, Feldon J, Law A, Harrison P, Pryce C (2010): Primate Early Life Stress Leads to Long-Term Mild Hippocampal Decreases in Corticosteroid Receptor Expression. *Biological Psychiatry* 67 (11): 1106-1109.
- Avishai-Eliner S, Hatalski C, Tabachnik E, Eghbal-Ahmadi M, Baram T (1999): Differential regulation of glucocorticoid receptor messenger RNA (GR-mRNA) by maternal deprivation in immature rat hypothalamus and limbic regions. *Developmental Brain Research* 114 (2): 265-268.
- Beaulieu S, DiPaolo T, Barden N (1986): Control of ACTH secretion by the central nucleus of the amygdala: implication of the serotonergic system and its relevance to the glucocorticoid delayed negative feedback mechanism. *Neuroendocrinology* 44 (2): 247-254.
- Berkenbosch F, van Oers J, del Rey A, Tilders F, Besedovsky H (1987): Corticotropin-Releasing Factor-Producing Neurons in the Rat Activated by Interleukin-1. *Science* 238 (4826): 524-526.
- Besedovsky H, del Rey A (2002): Introduction: Immune-Neuroendocrine Network. In: Gaillard R, Grossman A (Hrsg.) *Frontiers of Hormone Research Vol. 29: Neuroendocrine-Immune Interactions*. Karger, Basel, 1-14.
- Beurle W (1975): Freilanduntersuchungen zum Kampf- und Sexualverhalten des europäischen Wildschweines (*Sus scrofa L.*). *Zeitschrift für Tierpsychologie*, 39 (1-5): 211-258.
- Boccia M, Scanlan J, Laudenslager M, Berger C, Hijazi A, Reite M (1997): Juvenile Friends, Behavior, and Immune Responses to Separation in Bonnet Macaque Infants. *Physiology & Behavior* 61 (2): 191-198.
- Boissy A, Le Neindre P (1997): Behavioral, Cardiac and Cortisol Responses to Brief Peer Separation and Reunion in Cattle. *Physiology & Behavior* 61 (5): 693-699.
- Breuner C, Orchinik M (2002): Plasma binding proteins as mediators of corticosteroid action in vertebrates. *Journal of Endocrinology* 175 (1): 99-112.
- Broad K, Curley J, Keverne E (2006): Mother-infant bonding and the evolution of mammalian social relationships. *Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences* 361 (1476): 2199-2214.

- Broom D (1996): Animal welfare defined in terms of attempts to cope with the environment. *Acta Agriculturae Scandinavica* 27: 22-28.
- Campbell J, Polo J, Russell L, Crenshaw J (2010): Review of spray-dried plasma's impact on intestinal barrier function. *Livestock Science* 133 (1-3): 239-241.
- Cherng C, Lin P-S, Chuang J-Y, Chang W-T, Lee Y-S, Kao G-S, Lai Y-T, Yu L (2010): Presence of conspecifics and their odor-impregnated objects reverse stress-decreased neurogenesis in mouse dentate gyrus. *Journal of Neurochemistry* 112 (5): 1138-1146.
- Chourbaji S, Urani A, Inta I, Sanchis-Segura C, Brandwein C, Zink M, Schwaninger M, Gass P (2006): IL-6 knockout mice exhibit resistance to stress-induced development of depression-like behaviors. *Neurobiology of Disease* 23 (3): 587-594.
- Chrousos G, Laue L, Nieman L, Kawai S, Udelsman R, Brandon D, Loriaux D (1988): Glucocorticoids and glucocorticoid antagonists - Lessons from RU 486. *Kidney International* 34: S18-S23.
- Cirulli F, Santucci D, Laviola G, Alleva E, Levine S (1994): Behavioral and Hormonal Responses to Stress in the Newborn Mouse: Effects of Maternal Deprivation and Chlordiazepoxide. *Developmental Psychobiology* 27 (5): 301-316.
- Cobb S (1976): Social Support as a Moderator of Life Stress. *Psychosomatic Medicine* 38 (5): 300-314.
- Cohen S, Wills T (1985): Stress, Social Support, and the Buffering Hypothesis. *Psychological Bulletin* 98 (2): 310-357.
- Crane J, Ebner K, Day T (2003): Medial prefrontal cortex suppression of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis response to a physical stressor, systemic delivery of interleukin-1 β . *European Journal of Neuroscience* 17 (7): 1473-1481.
- Da Costa A, Leigh A, Man M-S, Kendrick K (2004): Face pictures reduce behavioural, autonomic, endocrine and neural indices of stress and fear in sheep. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences* 271 (1552): 2077-2084.
- Dean A, Lin N (1977): The stress-buffering role of social support. *The Journal of Nervous and Mental Disease* 165 (6): 403-417.
- De Kloet E, Oitzl M, Schöbitz B (1994): Cytokines and the brain corticosteroid receptor balance: Relevance to pathophysiology of neuroendocrine-immune communication. *Psychoneuroendocrinology* 19 (2): 121-134.
- De Kloet E, Derijk R (2004): Signaling Pathways in Brain Involved in Predisposition and Pathogenesis of Stress-Related Disease – Genetic and Kinetic Factors Affecting the MR/GR Balance. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1032: 14-34.
- De Kloet E, Vreugdenhil E, Oitzl M, Joëls M (1998): Brain Corticosteroid Receptor Balance in Health and Disease. *Endocrine Reviews* 19 (3): 269-301.
- Désautés C, Bidanel J-P, Mormède P (1997): Genetic Study of Behavioral and Pituitary-Adrenocortical Reactivity in Response to an Environmental Challenge in Pigs. *Physiology & Behavior* 62 (2): 337-345.
- Detillion C, Craft T, Glasper E, Prendergast B, DeVries C (2004): Social facilitation of wound healing. *Psychoneuroendocrinology* 29 (8): 1004-1011.

- Diorio D, Viau V, Meaney M (1993): The Role of the Medial Prefrontal Cortex (Cingulate Gyrus) in the Regulation of Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Responses to Stress. *The Journal of Neuroscience* 13 (9): 3839-3847.
- Dudink S, Simonse H, Marks I, de Jonge F, Spruijt B (2006): Announcing the arrival of enrichment increases play behaviour and reduces weaning-stress-induced behaviours of piglets directly after weaning. *Applied Animal Behaviour Science* 101 (1-2): 86-101.
- Dunn J, Orr S (1984): Differential Plasma Corticosterone Responses to Hippocampal Stimulation. *Experimental Brain Research* 54 (1): 1-6.
- Dybkjær L (1992): The identification of behavioural indicators of “stress” in early weaned piglets. *Applied Animal Behaviour Science* 35 (2): 135-147.
- Emmert M, Herman J (1999): Differential forebrain c-fos mRNA induction by ether inhalation and novelty: evidence for distinctive stress pathways. *Brain Research* 845 (1): 60-67.
- Ewbank R, Meese G, Cox J (1974): Individual recognition and the dominance hierarchy in the domesticated pig. The role of sight. *Animal Behaviour* 22: 473-480.
- Færevik G, Jensen M, Bøe K (2006): Dairy calves social preferences and the significance of a companion animal during separation from the group. *Applied Animal Behaviour Science* 99 (3-4): 205-221.
- Faturi C, Tiba P, Kawakami S, Catallani B, Kerstens M, Suchecki D (2010): Disruptions of the mother-infant relationship and stress-related behaviours: Altered corticosterone secretion does not explain everything. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 34 (6): 821-834.
- Feldman S, Conforti N, Itzik A, Weidenfeld J (1994): Differential effect of amygdaloid lesions on CRF-41, ACTH and corticosterone responses following neural stimuli. *Brain Research* 658 (1-2): 21-26.
- Félix B, Léger M-E, Albe-Fessard D (1999): Stereotaxis atlas of the pig brain. *Brain Research. Bulletin* 49 (1-2): 1-+
- Forkman B, Boissy A, Meunier-Salaün M-C, Canali E, Jones R (2007): A critical review of fear tests used on cattle, pigs, sheep, poultry and horses. *Physiology & Behavior* 92 (3): 340-374.
- Foury A, Geverink N, Gil M, Gispert M, Hortós M, Font i Furnols M, Carrion D, Blott S, Plastow G, Mormède P (2007): Stress neuroendocrine profiles in five breeding lines and the relationship with carcass composition. *Animal* 1 (7): 973-982.
- Fraser D, Kramer D, Pajor E, Weary D (1995): Conflict and cooperation - sociobiological principles and the behaviour of pigs. *Applied Animal Behaviour Science* 44 (2-4): 139-157.
- Gattermann R (2006) *Wörterbuch zur Verhaltensbiologie der Tiere und des Menschen*. 2. Auflage. Spektrum Akademischer Verlag, München.
- Geverink N, Foury A, Plastow G, Gil M, Gispert M, Hortós M, Font i Furnols M, Gort G, Moisan M, Mormède P (2006): Cortisol-binding globulin and meat quality in five European lines of pigs. *Journal of Animal Science* 84 (1): 204-211.
- Gilbert M, Baker K (2011): Social buffering in adult male rhesus macaques (*Macaca mulatta*) – Effects of stressful events in single vs. pair housing. *Journal of Medical Primatology* 40 (2): 71-78.

- Gonyou H, Beltranena E, Whittington D, Patience J (1998): The behaviour of pigs weaned at 12 and 21 days of age from weaning to market. *Canadian Journal of Animal Science* 78 (4): 517-523.
- Gonzalez C, Coe C, Levine S (1982): Cortisol responses under different housing conditions in female squirrel monkeys. *Psychoneuroendocrinology* 7 (2-3): 209-216.
- Goshen I, Yirmiya R (2010): Brain Interleukin-1 (IL-1) Mediates Stress-Induced Alterations in HPA Activation, Memory Functioning and Neural Plasticity. In: Soreq H, Friedman A, Kaufer D (Hrsg.) *Stress – From Molecules to Behavior. A Comprehensive Analysis of the Neurobiology of Stress responses*. WILEY-VCH Verlag, Weinheim, 243-260.
- Greenwood-Van Meerveld B, Gibson M, Gunter W, Shepard J, Foreman R, Myers D (2001): Stereotaxic delivery of corticosterone to the amygdale modulates colonic sensitivity in rats. *Brain Research* 893 (1-2): 135-142.
- Gunnar M, Donzella B (2002): Social regulation of the Cortisol levels of early human development. *Psychoneuroendocrinology* 27 (1-2): 199-220.
- Hall C (1934): Emotional behavior in the rat. I. Defecation and urination as measures of individual differences in emotionality. *Journal of Comparative Psychology* 18 (3), 385-403.
- Hameister T, Puppe B, Tuchscherer M, Kanitz E (2010): Einfluss des Absetzalters von Ferkeln auf verhaltensbiologische und physiologische Reaktionen – eine Literaturübersicht. *Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift* 123 (1-2): 11-19.
- Harris J (1943): Habitatory response decrement in the intact organism. *Psychological Bulletin* 40 (6): 385-422.
- Hart B (1988): Biological Basis of the Behavior of Sick Animals. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 12 (2): 123-137.
- Hayne S, Gonyou H (2003): Effects of regrouping on the individual behavioural characteristics of pigs. *Applied Animal Behaviour Science* 82 (4): 267-278.
- Heinrichs M, Baumgartner T, Kirschbaum C, Ehlert U (2003): Social Support and Oxytocin Interact to Suppress Cortisol and Subjective Responses to Psychosocial Stress. *Biological Psychiatry* 54 (12): 1389-1398.
- Hennessy M, Hornschuh G, Kaiser S, Sachser N (2006): Cortisol responses and social buffering – A study throughout the lifespan. *Hormones and Behavior* 49 (3): 383-390.
- Hennessy M, Kaiser S, Sachser N (2009): Social buffering of the stress response: Diversity, mechanisms, and functions. *Frontiers in Neuroendocrinology* 30 (4): 470-482.
- Hennessy M, Long S, Nigh C, Williams M, Nolan D (1995): Effects of peripherally administered corticotrophin-releasing factor (CRF) and a CRF antagonist: Does peripheral CRF activity mediate behaviour of guinea pig pups during isolation. *Behavioral Neuroscience* 109 (6): 1137-1145.
- Hennessy M, O'Leary S, Hawke J, Wilson S (2002): Social influences on cortisol and behavioural responses of preweaning, periadolescent, and adult guinea pigs. *Physiology & Behavior* 76 (2): 305-314.
- Hennessy M, Ritchey R (1987): Hormonal and Behavioral Attachment Responses in Infant Guinea Pigs. *Developmental Psychobiology* 20 (6): 613-625.

- Hennessy M, Zate R, Maken D (2008): social buffering of the cortisol response of adult female guinea pigs. *Physiology and Behavior* 93 (4-5): 883-888.
- Heo J, Kattesh H, Roberts M, Schneider J (2003): Plasma levels of cortisol and corticosteroid-binding globulin (CBG) and hepatic CBG mRNA expression in pre- and postnatal pigs. *Domestic Animal Endocrinology* 25 (3): 263-273.
- Herdegen T, Leah J (1998): Inducible and constitutive transcription factors in the mammalian nervous system: control of gene expression by Jun, Fos and Krox, and CREB/ATF proteins. *Brain Research Reviews* 28 (3): 370-490.
- Herman J, Cullinan W, Morano M, Akil H, Watson S (1995): Contribution of the Ventral Subiculum to Inhibitory Regulation of the Hypothalamo-Pituitary-Adrenocortical Axis. *Journal of Neuroendocrinology* 7 (6): 475-482.
- Herman J, Ostrander M, Mueller N, Figueiredo H (2005): Limbic system mechanisms of stress regulation: Hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* 29 (8): 1201-1213.
- Herskin M, Jensen K (2000): Effects of different degrees of social isolation on the behaviour of weaned piglets kept for experimental purposes. *Animal Welfare* 9 (3): 237-249.
- Hötzel M, Machado L, Wolf F, Dalla Costa O (2004): Behaviour of sows and piglets reared in intensive outdoor or indoor systems. *Applied Animal Behaviour Science* 86 (1-2): 27-39.
- Hoff M, Nadler R, Hoff K, Maple T (1994): Separation and Depression in Infant Gorillas. *Developmental Psychobiology* 27 (7): 439-452.
- Hohenshell L, Cunnick J, Ford S, Kattesh H, Zimmermann D, Wilson M, Matteri R, Carroll J, Lay D (2000): Few differences found between early- and late-weaned pigs raised in the same environment. *Journal of Animal Science* 78 (1): 38-49.
- Holmes M, Seckl J (2006): The role of 11 β -hydroxysteroid dehydrogenases in the brain. *Molecular and Cellular Endocrinology* 248 (1-2): 9-14.
- Jafarian-Tehrani M, Sternberg E (2002): Neuroendocrine-Immune Modulation of Autoimmune/Inflammatory Diseases. In: Gaillard R, Grossman A (Hrsg.) *Frontiers of Hormone Research Vol. 29: Neuroendocrine-Immune Interactions*. Karger, Basel, 69-82.
- Jankord R, Turk J, Schadt J, Casati J, Ganjam V, Price E, Keisler D, Laughlin M (2007): Sex Difference in Link between Interleukin-6 and Stress. *Endocrinology* 148 (8): 3758-3764.
- Jensen P, Recén B (1989): When to wean – Observations from Free-Ranging Domestic Pigs. *Applied Animal Behaviour Science* 23 (1-2): 49-60.
- Jones R, Merry B (1988): Individual or paired exposure of domestic chicks to an open-field - Some behavioral and adrenocortical consequences. *Behavioural Processes* 16 (1-2): 75-86.
- Kaiser S, Kirtzeck M, Hornschuh G, Sachser N (2003): Sex-specific difference in social support – a study in female guinea pigs. *Physiology & Behavior* 79 (2): 297-303.
- Kalinichev M, Easterling K, Plotsky P, Holtzman S (2002): Long-lasting changes in stress-induced corticosterone response and anxiety-like behaviors as a consequence of neonatal maternal separation in Long-Evans rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 73 (1): 131-140.

- Kanitz E, Otten W, Hameister T, Tuchscherer M, Puppe B, Tuchscherer A (2011): Age-Related Changes in Corticosteroid Receptor Expression and Monoamine Neurotransmitter Concentrations in Various Brain Regions of Postnatal Pigs. *Journal of Neuroscience Research* 89 (7): 1134-1141.
- Kanitz E, Puppe B, Tuchscherer M, Heberer M, Viergutz T, Tuchscherer A (2009): A single exposure to social isolation in domestic piglets activates behavioural arousal, neuroendocrine stress hormones, and stress-related gene expression in the brain. *Physiology & Behavior* 98 (1-2): 176-185.
- Kanitz E, Tuchscherer M, Puppe B, Tuchscherer A, Stabenow B (2004): Consequences of repeated early isolation in domestic piglets (*Sus scrofa*) on their behavioural, neuroendocrine, and immunological responses. *Brain, Behavior, and Immunity* 18 (1): 35-45.
- Kanitz E, Tuchscherer M, Tuchscherer A, Stabenow B, Manteuffel G (2002): Neuroendocrine and immune responses to acute endotoxemia in suckling and weaned piglets. *Biology of the Neonate* 81 (3): 203-209.
- Kappeler P (2012): *Verhaltensbiologie*. 3. Auflage. Springer Verlag, Heidelberg.
- Kent S, Bluthé R-M, Kelley K, Dantzer R (1992): Sicknes behaviour as a new target for drug development. *Trends in Pharmacological Sciences* 13 (1): 24-28.
- Kieffer B, Gavériaux-Ruff C (2002): Exploring the opioid system by gene knockout. *Progress in Neurobiology* 66 (5): 285-306.
- Kikusui T, Mori Y (2009): Behavioural and Neurochemical Consequences of Early Weaning in Rodents. *Journal of Neuroendocrinology* 21 (4): 427-431.
- Kikusui T, Takeuchi Y, Mori Y (2004): Early weaning induces anxiety and aggression in adult mice. *Physiology & Behavior* 81 (1): 37-42.
- Kikusui T, Winslow J, Mori Y (2006): Social buffering: relief from stress and anxiety. *Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences* 361 (1476): 2215-2228.
- Kirschbaum C, Klauer T, Filipp S-H, Hellhammer D (1995): Sex-Specific Effects of Social Support on Cortisol and Subjective Responses to Acute Psychological Stress. *Psychosomatic Medicine* 57 (1): 23-31.
- Kiyokawa Y, Takeuchi Y, Nishihara M, Mori Y (2009): Main olfactory system mediates social buffering of conditioned fear responses in male rats. *European Journal of Neuroscience* 29 (4): 777-785.
- Klemcke H, Brownborg H, Borg K (1995): Functioning of the porcine pituitary-adrenocortical axis during neonatal development. *Biology of the Neonate* 67 (4): 274-286.
- Klemcke H, Pond W (1991): Porcine adrenal adrenocorticotrophic hormone receptors – Characterization, changes during neonatal development, and responses to a stressor. *Endocrinology* 128 (5): 2476-2488.
- Koo J, Duman R (2008): IL-1 β is an essential mediator of the antineurogenic and anhedonic effects of stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105 (2): 751-756.
- Korte S (2001): Corticosteroids in relation to fear, anxiety and psychopathology. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 25 (2): 117-142.

- Korte S, Olivier B, Koolhaas J (2007): A new animal welfare concept based on allostasis. *Physiology & Behavior* 92 (3): 422-428.
- Kristensen H, Jones R, Schofield C, White R, Wathes C (2001): The use of olfactory and other cues for social recognition by juvenile pigs. *Applied Animal Behaviour Science* 72 (4): 321-333.
- Kuhn C, Schanberg S (1998): Responses to maternal separation: Mechanisms and mediators. *International Journal of Developmental Neuroscience* 16 (3-4): 261-270.
- Ladewig J (1994): Streß. In: Döcke F (Hrsg.) *Veterinärmedizinische Endokrinologie*, 3. Auflage. Gustav Fischer Verlag, Jena, 379-398.
- Lakshmi V, Monder C (1985): Evidence for independent 11-oxidase and 11-reductase activities of 11-beta-hydroxysteroid dehydrogenase – Enzyme latency, phase-transitions, and lipid requirements. *Endocrinology* 116 (2): 552-560.
- Lallès J, Bosi P, Janczyk P, Koopmans S, Torrallardona D (2009): Impact of bioactive substances on the gastrointestinal tract and performance of weaned piglets: a review. *Animal* 3 (12): 1625-1643.
- Langbein J, Puppe B (2004): Analysing dominance relationships by sociometric methods – a plea for a more standardised and precise approach in farm animals. *Applied Animal Behaviour Science* 87 (3-4): 293-315.
- Latham N, Mason G (2008): Maternal deprivation and the development of stereotypic behaviour. *Applied Animal Behaviour Science* 110 (1-2): 84-108.
- Le Roux C, Sivakumaran S, Alagband-Zadeh J, Dhillo W, Kong W, Wheeler M (2002): Free cortisol index as a surrogate marker for serum free cortisol. *Annals of Clinical Biochemistry* 39 (4): 406-408.
- Lewis J, Bagley C, Elder P, Bachmann A, Torpy D (2005): Plasma free cortisol fraction reflects levels of functioning corticosteroid-binding globulin. *Clinica Chimica Acta* 359 (1-2): 189-194.
- Liberzon I, López J, Flagel S, Vázquez D, Young E (1999): Differential Regulation of Hippocampal Glucocorticoid Receptors mRNA and Fast Feedback: Relevance to Post-Traumatic Stress Disorder. *Journal of Neuroendocrinology* 11 (1): 11-17.
- Lim M, Young L (2006): Neuropeptidergic regulation of affiliative behavior and social bonding in animals. *Hormones and Behavior* 50: 506-517.
- Lyons D, Price E, Moberg G (1993): Social Grouping Tendencies and Separation-Induced Distress in Juvenile Sheep and Goats. *Developmental Psychobiology* 26 (5): 251-259.
- Machin A, Dunbar R (2011): The brain opioid theory of social attachment – a review of the evidence. *Behaviour* 148 (9-10): 985-1025.
- Main R, Dritz S, Tokach M, Goodband R, Nelssen J (2004): Increasing weaning age improves pig performance in a multisite production system. *Journal of Animal Science* 82 (5): 1499-1507.
- Marple D, Cassens R, Topel D, Christian L (1974): Porcine corticosteroid-binding globulin – Binding properties and levels in stress-susceptible swine. *Journal of Animal Science* 38 (6): 1224-1228.
- Maxwell C, Sohn S (1999): The pros and cons of of SEW system – review. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 12 (2): 226-232.

- Mayer C, Hillmann E, Schrader L (2006): Verhalten, Haltung, Bewertung von Haltungssystemen. In: Brade W, Flachowsky G (Hrsg.): *Schweinezucht und Schweinefleischerzeugung – Empfehlungen für die Praxis*. Sonderheft 296, Landbauforschung Völkenrode - Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft, Braunschweig, 94-122.
- McEwen B (2007): Physiology and Neurobiology of Stress and Adaptation: Central Role of the Brain. *Physiological Reviews* 87 (3): 873-904.
- McEwen B, Sapolsky R (1995): Stress and cognitive function. *Current Opinion in Neurobiology* 5 (2): 205-216.
- MacLean P (1986): Culminating Developments in the Evolution of the Limbic System: The Thalamocingulate Division. In: Doane B, Livingston K (Hrsg.) *The Limbic System – Functional Organization and Clinical Disorders*. Raven Press, New York, 1-28.
- McLeman M, Mendl M, Jones R, Wathes C (2008): Social discrimination of familiar conspecifics by juvenile pigs, *Sus scrofa*: Development of a non-invasive method to study the transmission of unimodal and bimodal cues between live stimuli. *Applied Animal Behaviour Science* 115 (3-4): 123-137.
- Meagher M, Johnson R, Young E, Vichaya E, Lunt S, Hardin E, Connor M, Welsh J (2007): Interleukin-6 as a mechanism for the adverse effects of social stress on acute Theiler's virus infection. *Brain, Behavior, and Immunity* 21 (8): 1083-1095.
- Mendel C (1989): The free hormone hypothesis: a physiological based mathematical model. *Endocrine Reviews* 10 (3): 232-274.
- Mendl M, Randle K, Pope S (2002): Young female pigs can discriminate individual differences in odours from conspecific urine. *Animal Behaviour* 64: 97-101.
- Meynhardt H (1978) *Schwarzwild-Report. Vier Jahre unter Wildschweinen*, 1. Auflage. Neumann Verlag, Leipzig.
- Mogil J (2009): Animal models of pain: progress and challenges. *Nature Reviews Neuroscience*, 10 (4): 283-294.
- Morgan K, Tromborg C (2007): Sources of stress in captivity. *Applied Animal Behaviour Science*, 102 (3-4): 262-302.
- Morsink M, Steenbergen P, Vos J, Karst H, Joëls M, de Kloet E, Datson N (2006): Acute Activation of Hippocampal Glucocorticoid Receptors Results in Different Waves of Gene Expression Throughout Time. *Journal of Neuroendocrinology* 18 (4): 239-252.
- Mullis K, Faloona F (1987): Specific synthesis of DNA invitro via a polymerase-catalyzed chain-reaction. *Methods in Enzymology* 155: 335-350.
- Munck A, Guyre P, Holbrook N (1984): Physiological functions of glucocorticoids in stress and their relation to pharmacological actions. *Endocrine Reviews* 5 (1): 25-44.
- Myers B, Greenwood-Van Meerveld B (2007): Corticosteroid receptor-mediated mechanisms in the amygdala regulate anxiety and colonic sensitivity. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* 292 (6): G1622-G1629.
- Nakamura K, Kikusui T, Takeuchi Y, Mori Y (2003): The Influence of Early Weaning on Aggressive Behavior in Mice. *Journal of Veterinary Medical Sciences* 65 (12): 1347-1349.

- Napolitano F, Girolami A, Braghieri A (2010): Consumer liking and willingness to pay for high welfare animal-based products. *Trends in Food Science & Technology*, 21 (11): 537-543.
- Nelson E, Panksepp J (1998): Brain Substrates of Infant-Mother Attachment – Contributions of Opioids, Oxytocin, and Norepinephrine. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 22 (3): 437-452.
- Newberry R, Swanson J (2008): Implications of breaking mother-young social bonds. *Applied Animal Behaviour Science* 110 (1-2): 3-23.
- Nguyen K, Deak T, Owens S, Kohno T, Fleshner M, Watkins L, Maier S (1998): Exposure to Acute Stress Induces Brain Interleukin-1 β Protein in the Rat. *The Journal of Neuroscience* 18(6): 2239-2246.
- O'Connor K, Johnson J, Hansen M, Frank J, Maksimova E, Watkins L, Maier S (2003): Peripheral and central proinflammatory cytokine response to a severe acute stressor. *Brain Research* 991 (1-2): 123-132.
- Oitzl M, van Haarst A, de Kloet E (1997): Behavioral and neuroendocrine responses controlled by the concerted action of central mineralocorticoid (MRs) and glucocorticoid receptors (GRs). *Psychoneuroendocrinology* 22 (1): 87-93.
- Ons S, Rotllant D, Marin-Blasco I, Armario A (2010): Immediate-early gene response to repeated immobilization: Fos protein and arc mRNA levels appear to be less sensitive than c-fos mRNA to adaptation. *European Journal of Neuroscience* 31 (11): 2043-2052.
- Oostindjer M, Bolhuis J, Mendl M, Held S, Gerrits W, van den Brand H, Kemp B (2010): Effects of environmental enrichment and loose housing of lactating sows on piglet performance before and after weaning. *Journal of Animal Science* 88 (11): 3554-3562.
- Patel P, Lopez J, Lyons D, Burke S, Wallace M, Schatzberg A (2000): Glucocorticoid and mineralocorticoid receptor mRNA expression in squirrel monkey brain. *Journal of Psychiatric Research* 34 (6): 383-392.
- Perreau V, Sarrieau A, Mormède P (1999): Characterization of mineralocorticoid and glucocorticoid receptors in pigs – Comparison of Meishan and Large White breeds. *Life Sciences* 64 (17): 1501-1515.
- Pesonen A-K, Räikkönen K, Feldt K, Heinonen K, Osmond C, Phillips D, Barker D, Eriksson J, Kajantie E (2010): Childhood separation experience predicts HPA axis hormonal responses in late adulthood: A natural experiment of World War II. *Psychoneuroendocrinology* 35 (5): 758-767.
- Pohlann R, Völker H, Schneider R (1975): Blutentnahme beim neugeborenen Ferkel. *Monatshefte für Veterinärmedizin* 30 (8): 305-307.
- Poletto R, Steibel J, Siegford J, Zanella A (2006): Effects of early weaning and social isolation on the expression of glucocorticoid and mineralocorticoid receptor and 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase 1 and 2 mRNAs in the frontal cortex and hippocampus of piglets. *Brain Research* 1067 (1): 36-42.
- Puppe B (2002): Die Entwicklung der Beziehung zwischen Sau und Ferkel beim Hausschwein – Eine soziobiologische Betrachtung. *Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift* 115 (11-12): 445-452.

- Puppe B (2003): Stressbewältigung und Wohlbefinden – verhaltensphysiologische Ansatzpunkte einer Gesundheitssicherung bei Tieren. *Archiv für Tierzucht* 46: 52-56.
- Puppe B, Ernst K, Schön P-C, Manteuffel G (2007): Cognitive enrichment affects behavioural reactivity in domestic pigs. *Applied Animal Behaviour Science* 105 (1-3): 75-86.
- Puppe B, Meunier-Salaün M-C, Otten W, Orgeur P (2008): The welfare of piglets. In: Faucitano L, Schaefer A (Hrsg.) *Welfare of pigs from birth to slaughter*. Wageningen Academic Publishers, Wageningen, 97-131.
- Puppe B, Schön P-C, Tuchscherer A, Manteuffel G (2003): The influence of domestic piglets (*Sus scrofa*) age and test experience on the preference for the replayed maternal nursing vocalisation in a modified open-field test. *Acta Ethologica* 5: 123-129.
- Puppe B, Tuchscherer A (1999): Developmental and territorial aspects of suckling behaviour in the domestic pig (*Sus scrofa f. domestica*). *Journal of Zoology* 249: 307-313.
- Puppe B, Tuchscherer A (2000): The development of suckling frequency in pigs from birth to weaning of their piglets – a sociobiological approach. *Animal Science* 71: 273-279.
- Rault J-L (2012): Friends with benefits – Social support and its relevance for farm animal welfare. *Applied Animal Behaviour Science* 136: 1-14.
- Rentesi G, Antoniou K, Marselos M, Fotopoulos A, Alboycharali J, Konstandi M (2010): Long-term consequences of early maternal deprivation in serotonergic activity and HPA function in adult rat. *Neuroscience Letters* 480 (1): 7-11.
- Reul J, de Kloet E (1985): Two receptor systems for corticosterone in rat brain: microdistribution and differential occupation. *Endocrinology* 117 (6): 2505-2512.
- Rivarola M, Suárez M (2009): Early maternal separation and chronic variable stress in adulthood changes the neural activity and the expression of glucocorticoid receptor in limbic structures. *International Journal of Developmental Neuroscience* 27 (6): 567-574.
- Robert S, Weary D, Gonyou H (1999): Segregated Early Weaning and Welfare of Piglets. *Journal of Applied Animal Welfare Science* 2 (1): 31-40.
- Roberts M, Kattesh H, Baumbach G, Gillespie B, Godkin J, Schneider J, Saxton A (2003): Age-related changes in porcine corticosteroid-binding globulin (pCBG) as determined by an enzyme linked immunosorbent assay. *Domestic Animal Endocrinology* 24 (4): 323-339.
- Robinson W (1997): Some nonhuman animals can have pains in a morally relevant sense. *Biology and Philosophy*, 12 (1): 51-71.
- Rosenfeld P, Gutierrez Y, Martin A, Mallett H, Alleva E, Levine S (1991): Maternal Regulation of the Adrenocortical Response in Prewaning Rats. *Physiology & Behavior* 50 (4): 661-671.
- Rozen S, Skaletsky H (1998): Primer3
http://biotools.umassmed.edu/bioapps/primer3_www.cgi
- Rukstalis M, French J (2005): Vocal buffering of the stress response: exposure to conspecific vocalizations moderates urinary cortisol excretion in isolated marmosets. *Hormones and Behavior* 47 (1): 1-7.

- Ruis M, de Groot J, te Brake J, Ekkel E, van de Burgwal J, Erkens J, Engel B, Buist W, Blokhuis H, Koolhaas J (2001): Behavioural and physiological consequences of acute social defeat in growing gilts: effects of the social environment. *Applied Animal Behaviour Science* 70 (3): 201-225.
- Sachser N (1993): Verhalten als Anpassungsleistung aus Sicht der ethologischen Grundlagenforschung. In: Aktuelle Arbeiten zur artgemäßen Tierhaltung 1992. *KTBL-Schrift* 356. Darmstadt: 21-31.
- Sachser N, Dürschlag M, Hirzel D (1998): Social relationships and the management of stress. *Psychoneuroendocrinology* 23 (8): 891-904.
- Saiki R, Scharf S, Faloona F, Mullis K, Horn G, Erlich H, Arnheim N (1985): Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle-cell anemia. *Science* 230: 1350-1354.
- Sanchez M (2006): The impact of early adverse care on HPA axis development: Nonhuman primate models. *Hormones and Behavior* 50: 623-631.
- Sanders B, Anticevic A (2007): Maternal separation enhances neuronal activation and cardiovascular responses to acute stress in borderline hypertensive rats. *Behavioural Brain Research* 183 (1): 25-30.
- Sapolsky R (2004): Social status and health in humans and other animals. *Annual Review of Anthropology* 33 (1): 393-418.
- Sapolsky R, Krey L, McEwen B (1984): Glucocorticoid-sensitive hippocampal neurons are involved in terminating the adrenocortical stress response. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America-Biological Sciences* 81 (19): 6174-6177.
- Sapolsky R, Krey L, McEwen B (1986): The Neuroendocrinology of Stress and Aging: The Glucocorticoid Cascade Hypothesis. *Endocrine Reviews* 7 (3): 284-301.
- SAS Institute Inc. (2009a): Base SAS® 9.2 Procedures Guide. Cary, NC: SAS Institute Inc.
- SAS Institute Inc. (2009b): SAS/STAT® 9.2 User's Guide, Second Edition. Cary, NC: SAS Institute Inc.
- Schmidt M, Enthoven L, van Woezik J, Levine S, de Kloet E, Oitzl M (2004): The Dynamics of the Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis during Maternal Deprivation. *Journal of Neuroendocrinology* 16 (1): 52-57.
- Schmidt M, Oitzl M, Levine S, de Kloet E (2002): The HPA system during the postnatal development of CD1 mice and the effects of maternal deprivation. *Developmental Brain Research* 139 (1): 39-49.
- Smith M, Kim S-Y, van Oers H, Levine S (1997): Maternal Deprivation and Stress Induce Immediate Early Genes in the Infant Rat Brain. *Endocrinology* 138 (11): 4622-4628.
- Souza A, Zanella A (2008): Social isolation elicits deficits in the ability of newly weaned female piglets to recognise conspecifics. *Applied Animal Behaviour Science* 110 (1-2): 182-188.

- Steinhardt M, Thielscher H (1999): Reaction patterns of animals to events they are not familiarized with. Transport and temporary separation of suckler calves from the mother cow herd at different age periods of their life age and effects of dams voices presentation by play back on hormonal variables, heart rate, and acoustic signalling from the animals. *Landbauforschung Völkenrode* 49 (3): 153-166.
- Stolba A, Wood-Gush D (1989): The behaviour of pigs in a semi-natural environment. *Animal Production*, 48: 419-425.
- Stookey J, Gonyou H (1998): Recognition in swine: recognition through familiarity or genetic relatedness? *Applied Animal Behaviour Science* 55 (3-4): 291-305.
- Suchecki D, Mozaffarian D, Gross G, Rosenfeld P, Levine S (1993): Effects of Maternal-Deprivation on the ACTH Stress Response in the Infant Rat. *Neuroendocrinology* 57 (2): 204-212.
- Sullivan R, Gratton A (1999): Lateralized Effects of Medial Prefrontal Cortex Lesions on Neuroendocrine and Autonomic Stress Responses in Rats. *The Journal of Neuroscience* 19 (7): 2834-2840.
- Sumner B, D'Eath R, Farnworth M, Robson S, Russell J, Lawrence A, Jarvis S (2008): Early weaning results in less active behaviour, accompanied by lower 5-HT1A and higher 5-HT2A receptor mRNA expression in specific brain regions of female pigs. *Psychoneuroendocrinology* 33 (8): 1077-1092.
- Tarou L, Bashaw M (2007): Maximizing the effectiveness of environmental enrichment – Suggestions from the experimental analysis of behaviour. *Applied Animal Behaviour Science* 102 (3-4): 189-204.
- Thier P (2006): Die funktionelle Architektur des präfrontalen Kortex. In: Karnath H-O, Thier P (Hrsg.) *Neuropsychologie*, 2. Auflage. Springer Medizin Verlag, Heidelberg, 471-478.
- Thorsteinsson E, James J (1999): A meta-analysis of the effects of experimental manipulations of social support during laboratory stress. *Psychology and Health* 14: 869-886.
- Tuchscherer M, Kanitz E, Puppe B, Tuchscherer A (2006): Early social isolation alters behavioral and physiological responses to an endotoxin challenge in piglets. *Hormones and Behavior* 50 (5): 753-761.
- Tuchscherer M, Kanitz E, Puppe B, Tuchscherer A (2010): Altered Immunomodulation by Glucocorticoids in Neonatal Pigs Exposed to a Psychosocial Stressor. *Pediatric Research* 68 (6): 473-478.
- Tuchscherer M, Kanitz E, Puppe B, Tuchscherer A, Stabenow B (2004): Effects of postnatal social isolation on hormonal and immune responses of pigs to an acute endotoxin challenge. *Physiology & Behavior* 82 (2-3): 503-511.
- Tuchscherer M, Kanitz E, Puppe B, Tuchscherer A, Viergutz T (2009): Changes in endocrine and immune responses of neonatal pigs exposed to a psychosocial stressor. *Research in Veterinary Science* 87 (3): 380-388.
- Vallès A, Marti O, Armario A (2006): Long-Term Effects of a single Exposure to Immobilization: A C-Fos mRNA Study of the Response to the Homotypic Stressor in the Rat Brain. *Journal of Neurobiology* 66 (6): 591-602.

- Van den Burg E, Neumann I (2011): Bridging the Gap between GPCR Activation and Behaviour: Oxytocin and Prolactin Signalling in the Hypothalamus. *Journal of Molecular Neuroscience* 43 (2): 200-208.
- Vázquez D, van Oers H, Levine S, Akil H (1996): Regulation of glucocorticoid and mineralocorticoid receptor mRNAs in the hippocampus of the maternally deprived infant rat. *Brain Research* 731 (1-2): 79-90.
- Von Borell E (2000): Tierschützerische Beurteilung des isolierten Frühabsetzens (Segregated Early Weaning, SEW) beim Schwein – eine Übersicht. *Archiv für Tierzucht* 43 (4): 337-345.
- Von Borell E, Ladewig J (1992): Relationship between behaviour and adrenocortical response pattern in domestic pig. *Applied Animal Behaviour Science* 34 (3): 195-206.
- Von Holst D (1998): The concept of stress and its relevance for animal behavior. In: Møller A, Milinski M, Slater P (Hrsg.) *Advances in the Study of Behavior Vol. 27: Stress and Behavior*. Academic Press, San Diego, 1-131.
- Weary D, Jasper J, Hötzel M (2008): Understanding weaning distress. *Applied Animal Behaviour Science* 110 (1-2): 24-41.
- Wei S, Xia D, Li L, Xiao J, Bao J, Parvizi N, Zhao R (2010): Breed-specific expression of hippocampal 11 β -hydroxysteroid dehydrogenases and glucocorticoid receptors in Erhualian and Pietrain pigs exhibiting distinct stress coping characteristics. *Livestock Science* 131 (2-3): 240-244.
- White P, Mune T, Agarwal A (1997): 11 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase and the Syndrome of Apparent Mineralocorticoid Excess. *Endocrine Reviews* 18 (1): 135-156.
- Whitnall M (1993): Regulation of the hypothalamic corticotropin-releasing hormone neurosecretory system. *Progress in Neurobiology* 40 (5): 573-629.
- Wigger A, Neumann I (1999): Periodic Maternal Deprivation Induces Gender-Dependent Alterations in Behavioral and Neuroendocrine Responses to Emotional Stress in Adult Rats. *Physiology & Behavior* 66 (2): 293-302.
- Windle R, Shanks N, Lightman S, Ingram C (1997): Central Oxytocin Administration Reduces Stress-Induced Corticosterone Release and Anxiety Behavior in Rats. *Endocrinology* 138 (7): 2829-2834.
- Wu T-H, Lin C-H (2008): IL-6 mediated alterations on immobile behaviour of rats in the forced swim test via ERK1/2 activation in specific brain regions. *Behavioural Brain Research* 193 (2): 183-191.
- Young K, Gobrogge K, Liu Y, Wang Z (2011): The neurobiology of pair bonding: Insights from a socially monogamous rodent. *Frontiers in Neuroendocrinology* 32 (1): 53-69.
- Ziabreva I, Poeggel G, Schnabel R, Braun K (2003): Separation-Induced Receptor Changes in the Hippocampus and Amygdala of *Octodon degus*: Influence of Maternal Vocalizations. *The Journal of Neuroscience* 23 (12): 5329-5336.

ANHANG

PUFFER ZUR ANALYSE

MOPS-Puffer (200 ml, pH 7,0)

- 16,74 g MOPS (Roth, Deutschland)
- 2,72 g Natriumacetat (Roth, Deutschland)
- 0,74 g Ethylendiamintetraessigsäure (Roth, Deutschland)
- 0,10 % Diethylpyrocarbonat (Roth, Deutschland)

Die Gebrauchslösung wird aus einer 10fachen Verdünnung der Stammlösung mit bidestilliertem Wasser hergestellt.

Na-Phosphatpuffer (1000 ml, pH 7,4)

- 1,38 g Natriumdihydrogenphosphat (Roth, Deutschland)
- 8,77 g Natriumchlorid (Roth, Deutschland)
- 1,00 g Natriumazid (Roth, Deutschland)
- 1,00 g Gelatine (Roth, Deutschland)

TBE-Puffer (Stammlösung, 1000 ml, pH 8,0)

- 54,00 g Tris(hydroxymethyl)-aminomethan (Roth, Deutschland)
- 27,50 g Borsäure (Roth, Deutschland)
- 1,46 g Ethylendiamintetraessigsäure (Roth, Deutschland)

Die Gebrauchslösung wird aus einer 10fachen Verdünnung der Stammlösung mit bidestilliertem Wasser hergestellt.

ERGEBNISSE

VERHALTEN WÄHREND DER ISOLATION

Tabelle A.1: Einfluss des Lebensalters auf die Dauer, Häufigkeit und Latenz von Verhaltensparametern während der Isolation (n = 72 pro Altersgruppe). Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Effekte zwischen den Gruppen (a,b,c P < 0,05; Tukey-Kramer-Test)

Verhalten	Alter		
	7. Tag	21. Tag	35. Tag
Liegen			
Dauer (min)	155,8 ± 6,5	174,9 ± 6,4	174,0 ± 6,9
Latenz (s)	1197,0 ± 125,7 ^a	764,3 ± 123,9 ^b	858,6 ± 131,8
Aktivität			
Dauer (min)	41,6 ± 3,0	33,0 ± 3,0	33,1 ± 3,1
Fluchtversuch			
Dauer (min)	1,2 ± 0,3	1,3 ± 0,3	1,4 ± 0,3
Häufigkeit (Anzahl)	23,9 ± 4,4	20,5 ± 4,3	20,1 ± 4,6
Latenz (s)	5,9 ± 0,4 ^a	4,1 ± 0,4 ^b	3,9 ± 0,4 ^b
Rückzug			
Dauer (min)	31,6 ± 4,4	21,9 ± 4,3	31,1 ± 4,7
Häufigkeit (Anzahl)	55,4 ± 6,4	38,1 ± 6,3	51,0 ± 6,8
Latenz (s)	4,1 ± 0,2 ^a	4,3 ± 0,2 ^a	3,0 ± 0,2 ^b
Sozialkontakt			
Dauer (min)	86,1 ± 8,2 ^a	117,4 ± 8,0 ^b	108,8 ± 8,5
Häufigkeit (Anzahl)	80,6 ± 8,2	90,9 ± 8,1	96,1 ± 8,5
Latenz (s)	2,9 ± 0,2	2,5 ± 0,2	2,9 ± 0,2

VERHALTEN IM „OPEN-FIELD“/„NOVEL-OBJECT“-TEST

Tabelle A.2: Einfluss der Behandlungsvariante auf die Dauer, Häufigkeit und Latenz von Verhaltensparametern im „open-field“/„novel-object“-Test vor der Behandlung (n = 54 pro Behandlungsvariante). K: Kontrolle, IB: Isolation mit bekanntem Partner, IU: Isolation mit unbekanntem Partner, IS: Isolation allein

Verhalten	Behandlungsvariante			
	K	IB	IU	IS
Lokomotion				
Dauer (s)	233,2 ± 10,6	248,8 ± 10,6	236,9 ± 10,6	237,0 ± 10,6
Häufigkeit (Anzahl)	55,6 ± 2,1	52,7 ± 2,1	50,0 ± 2,1	50,5 ± 2,1
Latenz (s)	10,2 ± 1,6	9,7 ± 1,6	9,7 ± 1,6	10,3 ± 1,6
Stehen/Sitzen				
Dauer (s)	224,6 ± 10,8	200,1 ± 10,8	217,4 ± 10,8	221,1 ± 10,8
Häufigkeit (Anzahl)	70,3 ± 3,2	63,6 ± 3,2	64,9 ± 3,2	67,1 ± 3,2
Exkretion				
Dauer (s)	22,0 ± 3,6	25,8 ± 3,7	26,4 ± 3,7	25,1 ± 3,7
Häufigkeit (Anzahl)	3,0 ± 0,5	3,1 ± 0,5	3,2 ± 0,5	3,4 ± 0,5
Latenz (s)	302,4 ± 32,2	225,3 ± 32,0	242,9 ± 32,1	268,1 ± 32,0
Flucht				
Dauer (s)	30,5 ± 3,1	24,6 ± 3,1	27,1 ± 3,1	23,4 ± 3,1
Häufigkeit (Anzahl)	12,8 ± 1,0	11,2 ± 1,0	11,8 ± 1,0	11,0 ± 1,0
Latenz (s)	90,7 ± 12,6	103,0 ± 12,6	96,5 ± 12,6	100,5 ± 12,6
Vokalisation				
Dauer (s)	394,4 ± 11,7	413,0 ± 11,7	395,7 ± 11,7	393,7 ± 11,7
Häufigkeit (Anzahl)	112,5 ± 3,5	109,2 ± 3,5	104,8 ± 3,5	107,2 ± 3,5
Latenz (s)	7,3 ± 1,4	7,4 ± 1,4	6,9 ± 1,4	8,5 ± 1,4
Objektkontakt				
Dauer (s)	27,6 ± 3,2	32,2 ± 3,2	32,7 ± 3,2	27,4 ± 3,2
Häufigkeit (Anzahl)	8,3 ± 0,5	9,3 ± 0,5	8,3 ± 0,5	8,4 ± 0,5
Latenz (s)	436,8 ± 2,7	430,0 ± 2,6	432,2 ± 2,7	431,0 ± 2,7

Tabelle A.3: Einfluss des Lebensalters auf die Verhaltensänderungen in den „open-field“/„novel-object“-Tests (n = 72 pro Altersgruppe). Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Effekte zwischen den Gruppen (^{a,b,c} P < 0,05; Tukey-Kramer-Test).

Verhalten	Alter		
	7. Tag	21. Tag	35. Tag
Lokomotion			
Dauer (s)	-100,5 ± 11,2	-102,3 ± 11,0	-97,3 ± 11,4
Stehen/Sitzen			
Dauer (s)	96,7 ± 12,2 ^a	135,4 ± 12,1 ^b	120,0 ± 12,5
Exkretion			
Häufigkeit (Anzahl)	-2,0 ± 0,4	-2,0 ± 0,4	-1,3 ± 0,4
Latenz (s)	166,1 ± 35,0 ^a	72,5 ± 34,5 ^b	32,5 ± 35,7 ^b
Flucht			
Dauer (s)	2,4 ± 3,4 ^a	-17,3 ± 3,3 ^b	-10,4 ± 3,5 ^b
Häufigkeit (Anzahl)	-1,7 ± 1,0 ^a	-7,8 ± 1,0 ^b	-5,1 ± 1,0 ^b
Latenz (s)	110,7 ± 26,1 ^a	189,7 ± 25,9 ^b	135,3 ± 26,7
Vokalisation			
Dauer (s)	-108,0 ± 14,0 ^a	-156,0 ± 14,3 ^b	-140,1 ± 14,3
Häufigkeit (Anzahl)	-15,7 ± 4,0 ^a	-31,2 ± 3,9 ^b	-19,9 ± 4,1
Objektkontakt			
Dauer (s)	10,2 ± 3,6 ^a	-9,6 ± 3,6 ^b	1,5 ± 3,7
Häufigkeit (Anzahl)	-0,5 ± 0,6 ^a	-3,9 ± 0,6 ^b	-1,3 ± 0,6 ^a
Latenz (s)	14,9 ± 7,2	28,2 ± 7,1	20,7 ± 7,4

HORMONKONZENTRATIONEN

Tabelle A.4: Einfluss der Behandlungsvariante auf die ACTH-, Cortisol- und CBG-Konzentrationen sowie den FCI vor der Behandlung (n = 54 pro Behandlungsvariante). K: Kontrolle, IB: Isolation mit bekanntem Partner, IU: Isolation mit unbekanntem Partner, IS: Isolation allein

Stresshormon	Behandlungsvariante			
	K	IB	IU	IS
ACTH (pg/ml)	31,4 ± 3,3	36,8 ± 3,6	39,7 ± 3,3	35,4 ± 3,4
Cortisol (nmol/l)	58,0 ± 5,1	76,1 ± 5,4	65,5 ± 4,9	64,3 ± 4,8
CBG (fmol/ml)	36,3 ± 3,3	35,8 ± 3,3	34,8 ± 3,3	32,7 ± 3,3
FCI	1,7 ± 0,7	2,1 ± 0,7	3,5 ± 0,7	2,8 ± 0,7

Tabelle A.5: Einfluss des Lebensalters auf die Änderung der ACTH-, Cortisol- und CBG-Konzentrationen sowie des FCI (n = 72 pro Altersgruppe).

Stresshormon	Alter		
	7. Tag	21. Tag	35. Tag
ACTH (pg/ml)	2,0 ± 6,6	16,4 ± 5,9	7,6 ± 7,1
Cortisol (nmol/l)	31,8 ± 9,6	34,7 ± 8,1	47,0 ± 9,7
CBG (fmol/ml)	-0,9 ± 2,7	-1,7 ± 2,7	-2,9 ± 2,8
FCI	5,9 ± 3,5	4,1 ± 3,1	6,5 ± 3,5

GENEXPRESSIONSSTUDIEN

Tabelle A.6: Einfluss des Lebensalters auf die Expression stressrelevanter Gene im PFC (n = 36 pro Altersgruppe). Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Effekte zwischen den Gruppen (a,b,c P < 0,05; Tukey-Kramer-Test)

mRNA (pg/μg total RNA)	Alter		
	7. Tag	21. Tag	35. Tag
GR	58,63 ± 4,27 ^a	34,88 ± 4,27 ^b	45,63 ± 4,55
MR	0,56 ± 0,07 ^a	0,34 ± 0,07 ^b	0,42 ± 0,08
MR/GR	0,88 ± 0,11	0,99 ± 0,11	0,91 ± 0,12
11β-HSD1	5,55 ± 1,39	7,33 ± 1,39	2,68 ± 1,46
11β-HSD2	1,72 ± 0,21 ^a	0,77 ± 0,21 ^b	1,34 ± 0,24
CRH	38,60 ± 2,11 ^a	12,37 ± 2,11 ^b	18,89 ± 2,14 ^b
c-fos	7,79 ± 0,89 ^a	2,25 ± 0,89 ^b	5,21 ± 0,89
IL-6	0,14 ± 0,02 ^a	0,04 ± 0,02 ^b	0,07 ± 0,02 ^b
TNF-α	0,19 ± 0,06	0,15 ± 0,06	0,28 ± 0,06

Tabelle A.7: Einfluss des Lebensalters auf die Expression stressrelevanter Gene in der Amygdala (n = 36 pro Altersgruppe). Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Effekte zwischen den Gruppen (a,b,c P < 0,05; Tukey-Kramer-Test)

mRNA (pg/μg total RNA)	Alter		
	7. Tag	21. Tag	35. Tag
GR	66,77 ± 4,37	66,98 ± 4,37	61,05 ± 4,42
MR	0,36 ± 0,05	0,40 ± 0,05	0,46 ± 0,05
MR/GR	0,53 ± 0,06 ^a	0,59 ± 0,06	0,79 ± 0,07 ^b
11β-HSD1	10,46 ± 0,72	8,76 ± 0,72	7,97 ± 0,72
11β-HSD2	0,97 ± 0,15	1,19 ± 0,15	1,50 ± 0,16
CRH	9,67 ± 2,34	9,37 ± 2,34	9,66 ± 2,67
c-fos	1,31 ± 0,33 ^a	2,32 ± 0,33	3,21 ± 0,33 ^b
IL-6	0,38 ± 0,08 ^a	0,66 ± 0,08 ^b	0,55 ± 0,09
TNF-α	0,12 ± 0,04 ^a	0,29 ± 0,04 ^b	0,36 ± 0,04 ^b

Tabelle A.8: Einfluss des Lebensalters auf die Expression stressrelevanter Gene im Hypothalamus (n = 36 pro Altersgruppe). Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Effekte zwischen den Gruppen (a,b,c P < 0,05; Tukey-Kramer-Test)

mRNA (pg/ μ g total RNA)	Alter		
	7. Tag	21. Tag	35. Tag
GR	89,30 \pm 8,54	103,46 \pm 8,53	118,02 \pm 8,77
MR	0,33 \pm 0,04 ^a	0,32 \pm 0,04 ^a	0,55 \pm 0,04 ^b
MR/GR	0,37 \pm 0,03	0,32 \pm 0,03 ^a	0,48 \pm 0,04 ^b
11 β -HSD1	6,17 \pm 0,75	4,29 \pm 0,75 ^a	7,26 \pm 0,79 ^b
11 β -HSD2	1,25 \pm 0,12	0,97 \pm 0,12	1,32 \pm 0,12
CRH	3,51 \pm 0,45	3,07 \pm 0,45	3,38 \pm 0,45
c-fos	2,39 \pm 0,25	2,17 \pm 0,25	1,97 \pm 0,25
IL-6	0,49 \pm 0,07 ^a	0,14 \pm 0,07 ^b	0,36 \pm 0,07
TNF- α	0,19 \pm 0,05	0,30 \pm 0,05	0,31 \pm 0,05

Tabelle A.9: Einfluss des Lebensalters auf die Expression stressrelevanter Gene in der Hypophyse (n = 36 pro Altersgruppe). Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Effekte zwischen den Gruppen (a,b,c P < 0,05; Tukey-Kramer-Test)

mRNA (pg/ μ g total RNA)	Alter		
	7. Tag	21. Tag	35. Tag
GR	46,58 \pm 10,07	74,80 \pm 10,06	52,61 \pm 11,33
MR	0,43 \pm 0,12	0,70 \pm 0,12	0,47 \pm 0,14
MR/GR	0,77 \pm 0,12	0,93 \pm 0,12	0,92 \pm 0,12
11 β -HSD1	13,18 \pm 2,51 ^a	23,85 \pm 2,51 ^b	18,92 \pm 2,66
11 β -HSD2	6,36 \pm 1,98	7,55 \pm 1,98	4,58 \pm 2,20
POMC	96,46 \pm 38,37	174,17 \pm 38,37	81,37 \pm 41,69
c-fos	7,28 \pm 3,03	12,29 \pm 3,02	5,57 \pm 3,05
IL-6	0,12 \pm 0,06	0,16 \pm 0,06	0,04 \pm 0,06
TNF- α	0,17 \pm 0,10	0,42 \pm 0,10	0,42 \pm 0,11

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abb. 1.1: Schematische Darstellung der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse und deren regulierender Strukturen. Die stressinduzierte Achsenaktivierung löst gleichzeitig negative Rückkopplungswege aus.	- 6 -
Abb. 2.1: Schematische Eingruppierung der Versuchstiere in die drei Altersstufen und die vier Behandlungsgruppen (A). Darstellung eines Versuchferkels mit Isolationspartnerin der Isolationsbox (B).	- 15 -
Abb. 2.2: Schematische Darstellung des experimentellen Versuchsdesigns der Durchgänge 1-6.	- 16 -
Abb. 2.3: Schematische Darstellung des experimentellen Versuchsdesigns der Durchgänge 7-9.	- 17 -
Abb. 3.1: Einfluss der Isolationsvarianten in Abhängigkeit vom Alter auf die Liegedauer (A) und Liegelatenz (B) sowie auf die Aktivitätsdauer (C) während der Isolation (n = 18 pro Isolationsvariante und Altersgruppe).	- 27 -
Abb. 3.2: Einfluss der Isolationsvarianten in Abhängigkeit vom Alter auf Dauer (A), Häufigkeit (B) und Latenz (C) der Fluchtversuche während der Isolation (n = 18 pro Isolationsvariante und Altersgruppe).	- 29 -
Abb. 3.3: Einfluss der Isolationsvarianten in Abhängigkeit vom Alter auf die Rückzugsdauer (A), die Rückzugshäufigkeit (B) und die Rückzugslatenz (C) während der Isolation (n = 18 pro Isolationsvariante und Altersgruppe).	- 31 -
Abb. 3.4: Einfluss der Isolationsvarianten in Abhängigkeit vom Alter auf die Dauer (A), die Häufigkeit (B) und die Latenz (C) des Sozialkontaktes während der Isolation (n = 18 pro Isolationsvariante und Altersgruppe).	- 33 -
Abb. 3.5: Einfluss der Behandlungsvarianten in Abhängigkeit vom Alter auf die Änderung der Lokomotions- (A) und Steh-/Sitzdauer (B) in den „open-field“/„novel-object“-Tests (n = 18 pro Behandlungsvariante und Altersgruppe).	- 36 -
Abb. 3.6: Einfluss der Behandlungsvarianten in Abhängigkeit vom Alter auf die Änderung der Exkretionshäufigkeit (A) und Exkretionslatenz (B) in den „open-field“/„novel-object“-Tests (n = 18 pro Behandlungsvariante und Altersgruppe).	- 38 -
Abb. 3.7: Einfluss der Behandlungsvarianten in Abhängigkeit vom Alter auf die Änderung der Fluchtdauer (A), Fluchthäufigkeit (B) und Fluchtlatenz (C) in den „open-field“/„novel-object“-Tests (n = 18 pro Behandlungsvariante und Altersgruppe).	- 39 -
Abb. 3.8: Einfluss der Behandlungsvarianten in Abhängigkeit vom Alter auf die Änderung der Vokalisationsdauer (A) und Vokalisationshäufigkeit (B) in den „open-field“/„novel-object“-Tests (n = 18 pro Behandlungsvariante und Altersgruppe).	- 41 -
Abb. 3.9: Einfluss der Behandlungsvarianten in Abhängigkeit vom Alter auf die Änderung der Objektkontaktdauer (A), -häufigkeit (B) und -latenz (C) in den „open-field“/„novel-object“-Tests (n = 18 pro Behandlungsvariante und Altersgruppe).	- 42 -
Abb. 3.10: Einfluss der Behandlungsvarianten in Abhängigkeit vom Alter auf die Änderungen der Plasmakonzentrationen von ACTH (A), Cortisol (B) und CBG (C) sowie die Änderung des FCI (D) (n = 18 pro Behandlungsvariante und Altersgruppe).	- 45 -
Abb. 3.11: Einfluss der Behandlungsvarianten in Abhängigkeit vom Alter auf die mRNA Expression von GR (A) und MR (B) im PFC (n = 9 pro Behandlungsvariante und Altersgruppe).	- 47 -
Abb. 3.12: Einfluss der Behandlungsvarianten in Abhängigkeit vom Alter auf das Verhältnis MR/GR (n = 9 pro Behandlungsvariante und Altersgruppe).	- 47 -

Abb. 3.13: Einfluss der Behandlungsvarianten in Abhängigkeit vom Alter auf die mRNA Expression von 11 β -HSD1 (A) und 11 β -HSD2 (B) im PFC (n = 9 pro Behandlungsvariante und Altersgruppe).	- 48 -
Abb. 3.14: Einfluss der Behandlungsvarianten in Abhängigkeit vom Alter auf die mRNA Expression von CRH (A) und c-fos (B) im PFC (n = 9 pro Behandlungsvariante und Altersgruppe).	- 49 -
Abb. 3.15: Einfluss der Behandlungsvarianten in Abhängigkeit vom Alter auf die mRNA Expression von IL-6 (A) und TNF- α (B) im PFC (n = 9 pro Behandlungsvariante und Altersgruppe).	- 50 -
Abb. 3.16: Einfluss der Behandlungsvarianten in Abhängigkeit vom Alter auf die mRNA Expression von GR (A) und MR (B) in der Amygdala (n = 9 pro Behandlungsvariante und Altersgruppe).	- 52 -
Abb. 3.17: Einfluss der Behandlungsvarianten in Abhängigkeit vom Alter auf das Verhältnis MR/GR (n = 9 pro Behandlungsvariante und Altersgruppe).	- 52 -
Abb. 3.18: Einfluss der Behandlungsvarianten in Abhängigkeit vom Alter auf die mRNA Expression von 11 β -HSD1 (A) und 11 β -HSD2 (B) in der Amygdala (n = 9 pro Behandlungsvariante und Altersgruppe).	- 53 -
Abb. 3.19: Einfluss der Behandlungsvarianten in Abhängigkeit vom Alter auf die mRNA Expression von CRH (A) und c-fos (B) in der Amygdala (n = 9 pro Behandlungsvariante und Altersgruppe).	- 54 -
Abb. 3.20: Einfluss der Behandlungsvarianten in Abhängigkeit vom Alter auf die mRNA Expression von IL-6 (A) und TNF- α (B) in der Amygdala (n = 9 pro Behandlungsvariante und Altersgruppe).	- 55 -
Abb. 3.21: Einfluss der Behandlungsvarianten in Abhängigkeit vom Alter auf die mRNA Expression von GR (A) und MR (B) (n = 9 pro Behandlungsvariante und Altersgruppe) im Hypothalamus.	- 57 -
Abb. 3.22: Einfluss der Behandlungsvarianten in Abhängigkeit vom Alter auf das Verhältnis MR/GR im Hypothalamus (n = 9 pro Behandlungsvariante und Altersgruppe).	- 57 -
Abb. 3.23: Einfluss der Behandlungsvarianten in Abhängigkeit vom Alter auf die mRNA Expression von 11 β -HSD1 (A) und 11 β -HSD2 (B) im Hypothalamus (n = 9 pro Behandlungsvariante und Altersgruppe).	- 58 -
Abb. 3.24: Einfluss der Behandlungsvarianten in Abhängigkeit vom Alter auf die mRNA Expression von CRH (A) und c-fos (B) im Hypothalamus (n = 9 pro Behandlungsvariante und Altersgruppe).	- 59 -
Abb. 3.25: Einfluss der Behandlungsvarianten in Abhängigkeit vom Alter auf die mRNA Expression von IL-6 (A) und TNF- α (B) im Hypothalamus (n = 9 pro Behandlungsvariante und Altersgruppe).	- 60 -
Abb. 3.26: Einfluss der Behandlungsvarianten in Abhängigkeit vom Alter auf die mRNA Expression von GR (A) und MR (B) in der Hypophyse (n = 9 pro Behandlungsvariante und Altersgruppe).	- 62 -
Abb. 3.27: Einfluss der Behandlungsvarianten in Abhängigkeit vom Alter auf das Verhältnis MR/GR in der Hypophyse (n = 9 pro Behandlungsvariante und Altersgruppe).	- 62 -
Abb. 3.28: Einfluss der Behandlungsvarianten in Abhängigkeit vom Alter auf die mRNA Expression von 11 β -HSD1 (A) und 11 β -HSD2 (B) in der Hypophyse (n = 9 pro Behandlungsvariante und Altersgruppe).	- 63 -
Abb. 3.29: Einfluss der Behandlungsvarianten in Abhängigkeit vom Alter auf die mRNA Expression von POMC (A) und c-fos (B) in der Hypophyse (n = 9 pro Behandlungsvariante und Altersgruppe).	- 64 -
Abb. 3.30: Einfluss der Behandlungsvarianten in Abhängigkeit vom Alter auf die mRNA Expression von IL-6 (A) und TNF- α (B) in der Hypophyse (n = 9 pro Behandlungsvariante und Altersgruppe).	- 65 -

TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 2.1: Erfasste Verhaltensweisen während der Isolationszeit mit kurzer Definition	- 18 -
Tabelle 2.2: Erfasste Verhaltensweisen im „open-field“/„novel-object“-Test mit kurzer Definition	- 19 -
Tabelle 2.3: Charakterisierung der verwendeten Primer in der qPCR.	- 22 -
Tabelle 2.4: Protokoll des iCycler-Programmes während der qPCR.	- 23 -
Tabelle 3.1: Einfluss der Isolationsvarianten auf die Dauer und Latenz des Liegeverhaltens sowie auf die Aktivitätsdauer während der Isolation (n = 54 pro Isolationsvariante).	- 27 -
Tabelle 3.2: Einfluss der Isolationsvarianten auf die Dauer, Häufigkeit und Latenz der Fluchtversuche während der Isolation (n = 54 pro Isolationsvariante).	- 28 -
Tabelle 3.3: Einfluss der Isolationsvarianten auf die Rückzugsdauer, die Rückzugshäufigkeit und die Rückzugslatenz während der Isolation (n = 54 pro Isolationsvariante).	- 30 -
Tabelle 3.4: Einfluss der Isolationsvarianten auf die Dauer, Häufigkeit und Latenz des Sozialkontaktes während der Isolation (n = 54 pro Isolationsvariante).	- 32 -
Tabelle 3.5: Einfluss des Alters auf die Dauer, Häufigkeit und Latenz von Verhaltensparametern im „open-field“/„novel-object“-Test vor der Behandlung (n = 72 pro Altersgruppe).	- 35 -
Tabelle 3.6: Einfluss der Behandlung auf die Änderung der Lokomotions- und Steh-/Sitzdauer in den „open-field“/„novel-object“-Tests (n = 54 pro Behandlungsvariante).	- 36 -
Tabelle 3.7: Einfluss der Behandlung auf die Änderung der Exkretionshäufigkeit und Exkretionslatenz in den „open-field“/„novel-object“-Tests (n = 54 pro Behandlungsvariante).	- 37 -
Tabelle 3.8: Einfluss der Behandlung auf die Änderung der Fluchtdauer, -häufigkeit und -latenz in den „open-field“/„novel-object“-Tests (n = 54 pro Behandlungsvariante).	- 39 -
Tabelle 3.9: Einfluss der Behandlung auf die Änderung der Vokalisationsdauer und -häufigkeit in den „open-field“/„novel-object“-Tests (n = 54 pro Behandlungsvariante).	- 40 -
Tabelle 3.10: Einfluss der Behandlung auf die Änderung der Objektkontaktdauer, -häufigkeit und -latenz in den „open-field“/„novel-object“-Tests (n = 54 pro Behandlungsvariante).	- 41 -
Tabelle 3.11: Einfluss des Alters auf die ACTH-, Cortisol- und CBG-Konzentrationen sowie den FCI vor der Behandlung (n = 72 pro Altersgruppe).	- 43 -
Tabelle 3.12: Einfluss der Behandlung auf die Änderung der ACTH-, Cortisol- und CBG-Konzentrationen sowie des FCI (n = 54 pro Behandlungsvariante).	- 44 -
Tabelle 3.13: Einfluss der Behandlungsvarianten auf die mRNA Expression von GR und MR im PFC (n = 27 pro Behandlungsvariante).	- 46 -
Tabelle 3.14: Einfluss der Behandlungsvarianten auf die mRNA Expression von 11 β -HSD1 und 11 β -HSD2 im PFC (n = 27 pro Behandlungsvariante).	- 48 -
Tabelle 3.15: Einfluss der Behandlungsvarianten auf die mRNA Expression von CRH und c-fos im PFC (n = 27 pro Behandlungsvariante).	- 49 -
Tabelle 3.16: Einfluss der Behandlungsvarianten auf die mRNA Expression von IL-6 und TNF- α im PFC (n = 27 pro Behandlungsvariante).	- 50 -
Tabelle 3.17: Einfluss der Behandlungsvarianten auf die mRNA Expression von GR und MR in der Amygdala (n = 27 pro Behandlungsvariante).	- 51 -
Tabelle 3.18: Einfluss der Behandlungsvarianten auf die mRNA Expression von 11 β -HSD1 und 11 β -HSD2 in der Amygdala (n = 27 pro Behandlungsvariante).	- 53 -

Tabelle 3.19: Einfluss der Behandlungsvarianten auf die mRNA Expression von CRH und c-fos in der Amygdala (n = 27 pro Behandlungsvariante).	- 54 -
Tabelle 3.20: Einfluss der Behandlungsvarianten auf die Genexpression (n = 27 pro Behandlungsvariante).	- 55 -
Tabelle 3.21: Einfluss der Behandlungsvarianten auf die mRNA Expression von GR und MR im Hypothalamus (n = 27 pro Behandlungsvariante).	- 56 -
Tabelle 3.22: Einfluss der Behandlungsvarianten auf die mRNA Expression von 11 β -HSD1 und 11 β -HSD2 im Hypothalamus (n = 27 pro Behandlungsvariante).	- 58 -
Tabelle 3.23: Einfluss der Behandlungsvarianten auf die mRNA Expression von CRH und c-fos im Hypothalamus (n = 27 pro Behandlungsvariante).	- 59 -
Tabelle 3.24: Einfluss der Behandlungsvarianten auf die mRNA Expression von IL-6 und TNF- α im Hypothalamus (n = 27 pro Behandlungsvariante).	- 60 -
Tabelle 3.25: Einfluss der Behandlungsvarianten auf die mRNA Expression von GR und MR in der Hypophyse (n = 27 pro Behandlungsvariante).	- 61 -
Tabelle 3.26: Einfluss der Behandlungsvarianten auf die mRNA Expression von 11 β -HSD1 und 11 β -HSD2 in der Hypophyse (n = 27 pro Behandlungsvariante).	- 63 -
Tabelle 3.27: Einfluss der Behandlungsvarianten auf die mRNA Expression von POMC und c-fos in der Hypophyse (n = 27 pro Behandlungsvariante).	- 64 -
Tabelle 3.28: Einfluss der Behandlungsvarianten auf die mRNA Expression von IL-6 und TNF- α in der Hypophyse (n = 27 pro Behandlungsvariante).	- 65 -
Tabelle A.1: Einfluss des Lebensalters auf die Dauer, Häufigkeit und Latenz von Verhaltensparametern während der Isolation (n = 72 pro Altersgruppe).	- 104 -
Tabelle A.2: Einfluss der Behandlungsvariante auf die Dauer, Häufigkeit und Latenz von Verhaltensparametern im „open-field“/„novel-object“-Test vor der Behandlung (n = 54 pro Behandlungsvariante).	- 105 -
Tabelle A.3: Einfluss des Lebensalters auf die Verhaltensänderungen in den „open-field“/„novel-object“-Tests (n = 72 pro Altersgruppe).	- 106 -
Tabelle A.4: Einfluss der Behandlungsvariante auf die ACTH-, Cortisol- und CBG-Konzentrationen sowie den FCI vor der Behandlung (n = 54 pro Behandlungsvariante).	- 107 -
Tabelle A.5: Einfluss des Lebensalters auf die Änderung der ACTH-, Cortisol- und CBG-Konzentrationen sowie des FCI (n = 72 pro Altersgruppe).	- 107 -
Tabelle A.6: Einfluss des Lebensalters auf die Expression stressrelevanter Gene im PFC (n = 36 pro Altersgruppe).	- 108 -
Tabelle A.7: Einfluss des Lebensalters auf die Expression stressrelevanter Gene in der Amygdala (n = 36 pro Altersgruppe).	- 108 -
Tabelle A.8: Einfluss des Lebensalters auf die Expression stressrelevanter Gene im Hypothalamus (n = 36 pro Altersgruppe).	- 109 -
Tabelle A.9: Einfluss des Lebensalters auf die Expression stressrelevanter Gene in der Hypophyse (n = 36 pro Altersgruppe).	- 109 -

DANKSAGUNG

An erster Stelle möchte ich mich bei meinen Betreuern – Dr. Ellen Kanitz, Prof. Dr. Birger Puppe und Dr. Margret Tuchscherer – bedanken, da sie mir die Möglichkeit gegeben haben, dieses interessante Thema zu bearbeiten. Sie waren bei kleinen und größeren Problemen für mich da und hatten immer Zeit für anregende Diskussionen.

Bei Prof. Dr. Gerhard Manteuffel und Prof. Dr. Ulrike Gimsa bedanke ich mich für die herzliche Aufnahme in den Forschungsbereich Verhaltensphysiologie und die Arbeitsgruppe Neuroimmunologie.

Mein Dank für finanzielle Unterstützung geht vor allem an die Deutsche Forschungsgemeinschaft (KA 1266/4-1) sowie das Leibniz-Institut für Nutztierbiologie und das Bundesministerium für Bildung und Forschung (Kompetenznetz Phänomics, Fördernr.: 0315536G).

Ein besonderer Dank geht an die technischen Mitarbeiter des Forschungsbereiches Verhaltensphysiologie für ihre tatkräftige Unterstützung bei den Arbeiten rund um die tierexperimentellen Versuche (auch am späten Abend oder am Wochenende) und den laboranalytischen Auswertungen. Ich bedanke mich bei Heinz Deike, Silvia Langhoff, Dagmar Mähling, Petra Müntzel, Evelin Normann, Martina Pohlmann, Birgit Sobczak und Regina Wal. Gleichzeitig möchte ich auch den Mitarbeitern der Experimentalanlage Schwein – Dirk Ameling, Frank Hintze, Heidrun Schumann, Heidelore Sievert, Dr. Bernd Stabenow und Heidrun Wieck – für die Bereitstellung und Betreuung der Versuchstiere sowie ihrer Hilfe bei den Versuchen danken.

An Dr. Armin Tuchscherer geht ein großes Dankeschön für seine Exkursionen in die Welt der Statistik, seine Einführung in das Programm SAS und die schnelle Bereitschaft zur Beantwortung statistischer Fragestellungen.

Mit Dr. Claudia Kalbe und Dr. Torsten Viergutz hatte ich des Öfteren anregende Diskussionen rund um RNA-Präparation, PCR-Methoden und Primerdesign – einen herzlichen Dank dafür.

Trotzdem wir uns nicht kannten, stellte mir Julius Ecke spontan eine seiner Hirnschnittzeichnungen für meine Dissertation zur Verfügung – ich freue mich über diese menschliche Geste und empfinde großen Dank.

Für Hilfe bei allen bürokratischen Dingen und ein offenes Ohr für persönliche Probleme möchte ich Jutta Hoffmann Dank sagen.

Unvergessen bleibt Evelyne Hamel, die mit ihrer sonnigen und mütterlichen Art eine familiäre Arbeitsatmosphäre schuf.

Natürlich möchte ich mich auch bei meinen derzeitigen und früheren Mitdoktorandinnen bedanken, die genau wissen, welche Hochs und Tiefs einen während der Promotion überkommen. Für gemeinsame Diskussionsrunden rund um die Arbeit, aber auch für ablenkungsreiche Freizeitunternehmungen danke ich Dr. Christine Baes, Dr. Sandra Döpjan, Maria Gräbner, Katharina Graunke, Steffi Jaskulke, Annika Krause, Susann Meyer, Marika Nimz, Dr. Elisa Wirthgen, Dr. Manuela Zebunke und Dr. Daisy Zimmer. Aus dieser Zeit sind wunderbare Freundschaften entstanden.

Der größte Dank geht an meine Familie, die mit viel Geduld und Liebe meine wechselnden Stimmungen in dieser Zeit ertragen hat, mir den größten „social support“ gab und allzeit hinter mir stand.

SELBSTÄNDIGKEITSERKLÄRUNG

Ich versichere hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Titel „Psychosozialer Stress und soziale Unterstützung – Konsequenzen sozialer Isolation auf Verhalten und neuroendokrine Reaktionen beim juvenilen Hausschwein“ selbständig angefertigt und ohne fremde Hilfe verfasst habe, keine außer den von mir angegebenen Hilfsmitteln und Quellen dazu verwendet habe und die den benutzten Werken inhaltlich und wörtlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Dummerstorf, 28.02.2012