Konsequenzen psychosozialer Belastungen im postnatalen Zeitraum auf die Mutter-Kind-Beziehung und die Entwicklung neuroendokriner und immunologischer Anpassungsmechanismen der Nachkommen beim Schwein

Dissertation

Zur Erlangung des akademischen Grades

Doctor rerum naturalium (Dr. rer. nat.)

der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der Universität Rostock

vorgelegt von

M. Sc. Roberto Brückmann

Geb. am 15.08.1989 in Meißen

https://doi.org/10.18453/rosdok_id00004177

Gutachter*innen

Prof. Dr. rer. nat. Ulrike Gimsa, FBN Dummerstorf, Professur für Immunologie der Universität Rostock

Prof. Dr. rer. nat. Volker Stefanski, Universität Hohenheim, Fachgebiet für Verhaltensphysiologie von Nutztieren

Eingereicht: 2022

Verteidigt: 2023

„Wo immer ein Tier in den Dienst des Menschen gezwungen wird, gehen die Leiden, die es erduldet, uns alle an.“

(Albert Schweitzer)

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis iv
Abbildungsverzeichnis vi
Tabellenverzeichnis ix
Zusammenfassung x
Abstract xii
1 Einleitung 1
1.1 Stress 2
1.1.1 Physiologische Stressantwort 3
1.1.2 Regulation durch die HPA-Achse 4
1.2 Stress und Immunsystem 7
1.2.1 Interaktion von HPA-Achse und Immunsystem 7
1.2.2 Auswirkungen von chronischem Stress auf das Immunsystem 9
1.3 Laktation— mehr als Ernährung 11
1.3.1 Die Rolle der Laktation für die Gesundheit der Nachkommen und die Mutter-Kind-Beziehung 12
1.3.2 Auswirkungen von frühpostnatalem Stress beim Schwein 14
2 Zielstellung und Hypothesen 17
3 Material und Methoden 19
3.1 Versuchstiere und Haltungsbedingungen 19
3.2 Experimentelles Design 19
3.2.1 Versuchsaufbau 19
3.2.2 Verhaltensbeobachtungen bei Sau und Ferkel 22
3.2.3 „Open-Field"/„Novel-Object"-Test 23
3.2.4 LPS-Challenge 24
3.3 Probenentnahme 25
3.3.1 Speichel- und Milchproben von der Sau 25
3.3.2 Blutentnahme bei den Ferkeln 26
3.3.3 Gewebeproben von Ferkeln 26
3.4 Laboranalytische Methoden 26
3.4.1 Cortisol-Konzentrationen in Milch, Speichel und Plasma 26
3.4.2 IgA-Konzentrationen im Speichel und Blutplasma 27
3.4.3 Oxytocin-Konzentrationen in der Milch 27

3.4.4 Cytokine im Plasma ... 27
3.4.5 Bestimmung des Neutrophilen/Lymphozyten-Verhältnisses ... 28
3.4.6 Isolation und Charakterisierung von Milz-Lymphozyten ... 28
3.4.6.1 Aufarbeitung der Milzproben ... 28
3.4.6.2 Durchflusszytometrische Zelltypcharakterisierung von mononukleären Zellen der Milz ... 29
3.4.6.3 Proliferationsvermögen von Milz-Lymphozyten mittels MTT-Test ... 31
3.4.7 Genexpressionsanalyse ... 31
3.4.7.1 RNA-Isolation und cDNA Synthese ... 31
3.4.7.2 Real-time quantitative PCR (qPCR) ... 32
3.4.8 Statistik ... 34
4 Ergebnisse ... 35
4.1 Effekte der Deprivationsprozedur auf die Mutter-Kind-Interaktion sowie endokrinologische und immunologische Parameter bei der Sau ... 35
4.1.1 Mutter-Kind-Interaktion ... 35
4.1.2 Saugordnung ... 35
4.1.3 Cortisol und IgA im Speichel ... 38
4.1.4 Cortisol und Oxytocin in der Milch ... 38
4.2 Effekte der Deprivationsprozedur auf Verhalten sowie neuroendokrine und immunologische Parameter der Ferkel ... 39
4.2.1 Cortisol-Konzentrationen und immunologische Parameter im Plasma ... 39
4.2.2 „Open Field“/„Novel Object“-Test ... 41
4.2.2.1 „Open Field“/„Novel Object“-Test unmittelbar nach Beendigung der Deprivationsphase (16. LT) ... 44
4.2.2.2 „Open Field“/„Novel Object“-Test 24 Tage nach Beendigung der Deprivationsphase ... 48
4.2.2.3 Unterschiede in den Verhaltensweisen zwischen erstem und zweitem „Open Field“/„Novel Object“-Test ... 49
4.2.3 Genexpression ... 51
4.2.3.1 Hypothalamus ... 51
4.2.3.2 Amygdala ... 53
4.2.3.3 Präfrontaler Cortex ... 54
4.2.3.4 Hippocampus ... 57
4.2.4 Milz-Leukozyten ... 59
4.2.4.1 Zellzusammensetzung in der Milz ... 59

4.2.4.2 Proliferationsvermögen der Milzzellen 59
4.3 LPS-induzierte Immunstimulation zur Untersuchung langfristiger Effekte der frühpostnatalen Deprivation auf die Immunkompetenz 60
4.3.1 Krankheitssymptome 60
4.3.2 Cortisol und Cytokine im Plasma 61
4.3.3 Genexpression 64
4.3.3.1 Hypothalamus 64
4.3.3.2 Amygdala 65
4.3.3.3 Präfrontaler Cortex 67
4.3.3.4 Hippocampus 68
5 Diskussion 70
5.1 Auswirkungen einer wiederholten maternalen Deprivation der Ferkel auf die Mutter-Kind-Beziehung und die ethologischen und physiologischen Stressreaktionen der Nachkommen 70
5.1.1 Verhalten und periphere Stressreaktionen 70
5.1.2 Neuroendokrine Stressregulation 79
5.2 Auswirkungen der frühpostnatalen Stressbelastung auf das Immunsystem der Ferkel und die neuroendokrin-immunologischen Adaptationsmechanismen 84
6 Fazit 92
7 Literaturverzeichnis 95
Anhang 122
A Mütterlichkeit und Saugordnung 122
B Endokrinologische und immunologische Parameter bei der Sau 124
C Endokrinologische und immunologische Parameter bei den Ferkeln 125
D „Open field“/„Novel object“-Test: Einfluss des Lebenstages 126
E Proliferationsvermögen der Milzzellen 129
F Effekte der LPS-induzierten Immunstimulation in vivo 131
Publikationen 136
Danksagung 137
Selbstständigkeitserklärung 139

Abkürzungsverzeichnis

ACTB	Actin β
ACTH	Adrenocorticotropin
AVP	Arginin-vasopressin
AVPR1A	Arginin-vasopressin receptor 1A
BDNF	Brain-derived neurotrophic factor
bp	Basenpaare
BSA	Bovines Serumalbumin
cDNA	komplementäre Desoxyribonukleinsäure
CRH	Corticotropin-releasing hormone
CRHR1	Corticotropin-releasing hormone receptor 1
CRHR2	Corticotropin-releasing hormone receptor 2
Δ	Differenz
DA	Deprivation allein
DG	Deprivation in einer Gruppe von Wurfgeschwistern
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
FKS	Fetales Kälberserum
GC	Glucocorticoide
GR	Glucocorticoidrezeptor
HPA-Achse	Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrindenachse
i.p.	intraperitoneal
IFN-γ	Interferon gamma
IgA	Immunglobulin A
IL-1	Interleukin 1
IL-10	Interleukin 10
IL-1β	Interleukin 1 β
IL-2	Interleukin 2
IL-4	Interleukin 4
IL-6	Interleukin 6

ilPFC	Infralimbischer präfrontaler Cortex
K	Kontrolle
LkT	Laktationstag
LPS	Lipopolysaccharid
LSM	Last Squares Means
LT	Lebenstag
MR	Mineralocorticoidrezeptor
mRNA	Messenger Ribonukleinsäure
MTT	3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid
Nacc	Nucleus accumbens
NK-Zellen	Natürliche Killerzellen
OF/NO	Open-Field/Novel-Object
OXTR	Oxytocin-Rezeptor
PBS	Phosphate-buffered saline
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
PFC	Präfrontaler Cortex
PI	Proliferationsindex
plPFC	Posterior lateraler präfrontaler Cortex
PNV	Nucleus paraventricularis
qPCR	Quantitative Echtzeit-PCR
RNA	Ribonukleinsäure
RT	Reverse Transkription
SE	Standard error
TBP	TATA-box binding protein
TLR4	Toll-like-Rezeptor 4
TNFα	Tumornekrosefaktor α
WHK	Wechselhäufigkeitskoeffizient
ZNS	Zentralnervensystem

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Schematische Darstellung der beteiligten regulatorischen Elemente der HPA-Achse 5
Abbildung 2: Verteilung und Anzahl der Ferkel in den Gruppen eines jeden Durchgangs 20
Abbildung 3: Zeitpunkte der Probenentnahme und Verhaltensbeobachtungen während der Deprivationsperiode; M = Milchproben von den Sauen; S = Speichelproben von den Sauen; V = Verhaltensbeobachtungen (Mütterlichkeit und Saugordnung); B = Blutproben von Ferkeln. 21
Abbildung 4: Zeitpunkte der Versuche, Proben und Gewebeentnahmen im Überblick. LT = Lebenstag 21
*Abbildung 5: Wechselhäufigkeitskoeffizient (WHK) von männlichen (n = 528) und weiblichen (n = 427) Ferkeln aller Behandlungsgruppen für die Einzelzitze (A) und das Zitzenpaar (B). Die Ergebnisse sind dargestellt als LSM ± SE. Signifikante Unterschiede sind mit Asterisken gekennzeichnet (*p < 0,05; Tukey-Kramer-Test) 36*
*Abbildung 6: Durchschnittliche Intervalldauer zwischen den Saugakten der Deprivations- und Kontrollwürfe. Die Ergebnisse sind dargestellt als LSM ± SE. Signifikante Unterschiede sind mit Asterisken gekennzeichnet (*p < 0,05; Tukey-Kramer-Test; n = 10 Würfe / Behandlungsgruppe). 1.Intervall = Intervalldauer zwischen 1. und 2. Saugakt; 2. Intervall = Intervalldauer zwischen 2. und 3. Saugakt 37*
*Abbildung 7: Differenz des Milch-Cortisols (nach-vor) von Sauen der Deprivations- und Kontrollwürfe. Die Ergebnisse sind dargestellt als LSM ± SE. Signifikante Unterschiede sind mit Asterisken gekennzeichnet (*p < 0,05; Tukey-Kramer-Test; n = 7 Proben je Behandlung). 38*
*Abbildung 8: Plasma-Cortisol Konzentrationen von männlichen und weiblichen Ferkeln der drei Behandlungsgruppen DA (Deprivation allein), DG (Deprivation in einer Gruppe mit Wurfgeschwistern) und K (Kontrolle, keine Deprivation) nach dem „Open Field"/„Novel Object"- Test. Die Ergebnisse sind dargestellt als LSM ± SE. Signifikante Unterschiede sind mit Asterisken gekennzeichnet (*p < 0,05; Tukey-Kramer-Test; n = 25-30 je Behandlungsgruppe und Geschlecht). 41*
*Abbildung 9: Latenz (A), Häufigkeit (B) und Dauer (C) des Parameters „Lokomotion" von männlichen und weiblichen Tieren der drei Behandlungsgruppen DA (Deprivation allein), DG (Deprivation in einer Gruppe mit Wurfgeschwistern) und K (Kontrolle, keine Deprivation). Die Ergebnisse sind dargestellt als LSM ± SE. Signifikante Unterschiede (Tukey-Kramer-Test) sind mit Asterisken gekennzeichnet (*p < 0,05; n = 24-30 je Behandlungsgruppe und Geschlecht). 45*
*Abbildung 10: Häufigkeit des Parameters „Stehen" von männlichen und weiblichen Tieren der drei Behandlungsgruppen DA (Deprivation allein), DG (Deprivation in einer Gruppe mit Wurfgeschwistern) und K (Kontrolle, keine Deprivation). Die Ergebnisse sind dargestellt als LSM ± SE. Signifikante Unterschiede sind mit Asterisken gekennzeichnet (*p < 0,05; Tukey-Kramer-Test; n = 24-30 je Behandlungsgruppe und Geschlecht). . 46*
*Abbildung 11: Latenz (A) und Häufigkeit (B) des Parameters „Vokalisation" von männlichen und weiblichen Tieren der drei Behandlungsgruppen DA (Deprivation allein), DG (Deprivation in einer Gruppe mit Wurfgeschwistern) und K (Kontrolle, keine Deprivation). Die Ergebnisse sind dargestellt als LSM ± SE. Signifikante Unterschiede sind mit Asterisken gekennzeichnet (*p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001; Tukey-Kramer-Test; n = 24-30 je Behandlungsgruppe und Geschlecht). 46*
*Abbildung 12: Latenz (A), Anzahl (B) und Dauer (C) der „Objektkontakte" von männlichen und weiblichen Tieren der drei Behandlungsgruppen DA (Deprivation allein), DG (Deprivation in einer Gruppe mit Wurfgeschwistern) und K (Kontrolle, keine Deprivation). Die Ergebnisse sind dargestellt als LSM ± SE. Signifikante Unterschiede sind mit Asterisken gekennzeichnet (*p < 0,05; Tukey-Kramer-Test; n = 24-30 je Behandlungsgruppe und Geschlecht). 47*
*Abbildung 13: (A) Dauer der „Lokomotion", (B) Dauer „Stehen", (C) Häufigkeit „Vokalisation" und (D) Latenz „Objektkontakt" von männlichen und weiblichen Tieren der drei Behandlungsgruppen DA (Deprivation allein), DG (Deprivation in einer Gruppe mit Wurfgeschwistern) und K (Kontrolle, keine Deprivation). Die Ergebnisse sind dargestellt als LSM ± SE. Signifikante Unterschiede sind mit Asterisken gekennzeichnet (*p < 0,05; Tukey-Kramer-Test; n = 11-18 je Behandlungsgruppe und Geschlecht). 49*
*Abbildung 14: Relative mRNA-Expression des CRHR1-Gens (corticotropin-releasing hormone receptor 1) im Hypothalamus von männlichen und weiblichen Tieren der drei Behandlungsgruppen DA (Deprivation allein), DG (Deprivation in einer Gruppe mit Wurfgeschwistern) und K (Kontrolle, keine Deprivation). Die Ergebnisse sind dargestellt als LSM ± SE. Signifikante Unterschiede sind mit Asterisken gekennzeichnet (*p < 0,05; **p < 0,01; Tukey-Kramer-Test; n = 10 je Geschlecht und Gruppe) 52*

*Abbildung 15: Relative MR (mineralocorticoid receptor; NR3C2) mRNA-Expression in der Amygdala von männlichen und weiblichen Tieren der drei Behandlungsgruppen DA (Deprivation allein), DG (Deprivation in einer Gruppe mit Wurfgeschwistern) und K (Kontrolle, keine Deprivation) Die Ergebnisse sind dargestellt als LSM ± SE. Signifikante Unterschiede sind mit Asterisken gekennzeichnet (*p < 0,05; Tukey-Kramer-Test; n = 10 je Geschlecht und Gruppe). 54*
*Abbildung 16: Relative TNF-α (tumor necrosis factor-alpha; TNFA) mRNA-Expression in der Amygdala von männlichen und weiblichen Tieren der drei Behandlungsgruppen DA (Deprivation allein), DG (Deprivation in einer Gruppe mit Wurfgeschwistern) und K (Kontrolle, keine Deprivation) Die Ergebnisse sind dargestellt als LSM ± SE. Signifikante Unterschiede sind mit Asterisken gekennzeichnet (*p < 0,05; Tukey-Kramer-Test; n = 10 je Geschlecht und Gruppe). 54*
*Abbildung 17: Relative mRNA-Expressionen im PFC von männlichen und weiblichen Tieren der drei Behandlungsgruppen DA (Deprivation allein), DG (Deprivation in einer Gruppe mit Wurfgeschwistern) und K (Kontrolle, keine Deprivation) mit: A) MR (mineralocorticoid receptor; NR3C2); B) GR (glucocorticoid receptor; NR3C1); C CRHR1 (corticotropin-releasing hormone receptor 1); D) CRHR2 (corticotropin-releasing hormone receptor 2). Die Ergebnisse sind dargestellt als LSM ± SE. Signifikante Unterschiede sind mit Asterisken gekennzeichnet (*p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001; Tukey-Kramer-Test; n = 10 je Geschlecht und Gruppe).... 56*
*Abbildung 18: Relative OXTR (Oxytocin receptor) mRNA-Expression im PFC von männlichen und weiblichen Tieren der drei Behandlungsgruppen DA (Deprivation allein), DG (Deprivation in einer Gruppe mit Wurfgeschwistern) und K (Kontrolle, keine Deprivation) Die Ergebnisse sind dargestellt als LSM ± SE. Signifikante Unterschiede sind mit Asterisken gekennzeichnet (**p < 0,01; Tukey-Kramer-Test; n = 10 je Geschlecht und Gruppe). 57*
*Abbildung 19: Relative mRNA-Expressionen im Hippocampus von männlichen und weiblichen Tieren der drei Behandlungsgruppen DA (Deprivation allein), DG (Deprivation in einer Gruppe mit Wurfgeschwistern) und K (Kontrolle, keine Deprivation) mit: A) MR (mineralocorticoid receptor; NR3C2); B) GR/MR Quotienten. Die Ergebnisse sind dargestellt als LSM ± SE. Signifikante Unterschiede sind mit Asterisken gekennzeichnet (*p < 0,05; Tukey-Kramer-Test; n = 10 je Geschlecht und Gruppe). 58*
*Abbildung 20: Häufigkeit (%) des Auftretens von Dyspnoe (A) und Somnolenz (B) in den drei Behandlungsgruppen DA (Deprivation allein), DG (Deprivation in einer Gruppe mit Wurfgeschwistern) und K (Kontrolle, keine Deprivation) zu verschiedenen Zeitpunkten nach der LPS-Applikation. Die Ergebnisse sind dargestellt als LSM ± SE. Signifikante Unterschiede sind mit Asterisken gekennzeichnet (*p < 0,05; **p < 0,01; Tukey-Kramer-Test; n = 20 Tiere je Behandlungsgruppe). 61*
*Abbildung 21: Cytokin-Konzentrationen im Plasma von männlichen und weiblichen Tieren der drei Behandlungsgruppen DA (Deprivation allein), DG (Deprivation in einer Gruppe mit Wurfgeschwistern) und K (Kontrolle, keine Deprivation) nach der LPS-Applikation zum Zeitpunkt der maximalen Freisetzung mit: TNF-α (A), IL-10 (B), TNF-α/IL-10-Quotient (C) und IL-6 (D). Die Ergebnisse sind dargestellt als LSM ± SE. Signifikante Unterschiede sind mit Asterisken gekennzeichnet (*p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001; Tukey-Kramer-Test; n = 7-8 Tiere je Behandlungsgruppe und Geschlecht). 63*
*Abbildung 22: Relative TNF-α mRNA Expression im Hypothalamus von männlichen und weiblichen Tieren der drei Behandlungsgruppen DA (Deprivation allein), DG (Deprivation in einer Gruppe mit Wurfgeschwistern) und K (Kontrolle, keine Deprivation) 24 h nach der LPS-Applikation. Die Ergebnisse sind dargestellt als LSM ± SE. Signifikante Unterschiede sind mit Asterisken gekennzeichnet (*p < 0,05; Tukey-Kramer-Test; n = 7 Tiere je Behandlungsgruppe und Geschlecht). 65*
*Abbildung 23: Relative mRNA Expressionen in der Amygdala von männlichen und weiblichen Tieren der drei Behandlungsgruppen DA (Deprivation allein), DG (Deprivation in einer Gruppe mit Wurfgeschwistern) und K (Kontrolle, keine Deprivation) 24 h nach der LPS-Applikation mit: A) MR (mineralocorticoid receptor; NR3C2), B) IL-10 (interleukin-10; IL10). Die Ergebnisse sind dargestellt als LSM ± SE. Signifikante Unterschiede sind mit Asterisken gekennzeichnet (*p < 0,05; **p < 0,01; Tukey-Kramer-Test; n = 7 Tiere je Behandlungsgruppe und Geschlecht). 66*
Abbildung 24: Relative mRNA Expressionen im präfrontalen Cortex von männlichen und weiblichen Tieren der drei Behandlungsgruppen DA (Deprivation allein), DG (Deprivation in einer Gruppe mit Wurfgeschwistern) und K (Kontrolle, keine Deprivation) 24 h nach der LPS-Applikation mit: A) MR (mineralocorticoid receptor; NR3C2), B) GR (glucocorticoid receptor; NR3C1), C) CRHR1 (corticotropin releasing hormone receptor 1) und D) CRHR2 (corticotropin releasing hormone receptor 2). Die Ergebnisse sind dargestellt als LSM ± SE. Signifikante

*Unterschiede sind mit Asterisken gekennzeichnet (**p < 0,01; ***p < 0,001; Tukey-Kramer-Test; n = 8-12 je Behandlungsgruppe und Geschlecht)..... 68*
*Abbildung 25: Relative mRNA Expressionen im Hippocampus von männlichen und weiblichen Tieren der drei Behandlungsgruppen DA (Deprivation allein), DG (Deprivation in einer Gruppe mit Wurfgeschwistern) und K (Kontrolle, keine Deprivation) 24 h nach der LPS-Applikation mit: A) GR (glucocorticoid receptor; NR3C1) und B) AVPR1A (arginine vasopressin receptor 1A). Die Ergebnisse sind dargestellt als LSM ± SE. Signifikante Unterschiede sind mit Asterisken gekennzeichnet (**p < 0,01; ***p < 0,001; Tukey-Kramer-Test; n = 8-10 je Behandlungsgruppe und Geschlecht)..... 69*

Anhang 1: Stabilität der Saugordnung der drei Behandlungsgruppen 122
Anhang 2: Säuge-Intervall der Sauen des Deprivations- und Kontrollwurfes von drei aufeinanderfolgenden Saugakten nach Beendigung der Deprivationsprozedur 123
Anhang 3: Cortisol- und IgA-Konzentrationen im Speichel von Sauen der Deprivations- und Kontrollwürfe nach Beendigung der Deprivationsprozedur..... 124
Anhang 4: Cortisol- und Oxytocin-Konzentrationen in der Milch von Sauen der Deprivations- und Kontrollwürfe nach Beendigung der Deprivationsprozedur 124
Anhang 5: Cortisol-Konzentrationen und immunologische Parameter im Blut der Ferkel..... 125
*Anhang 6: Dargestellt ist der Vergleich des im OF/NO-Test untersuchten Parameters „Lokomotion“ der drei Behandlungsgruppen DA (Deprivation allein; schwarze Balken), DG (Deprivation in einer Gruppe mit Wurfgeschwistern; gestreifter Balken) und K (Kontrolle, keine Deprivation; weißer Balken) an den Lebenstagen 16 und 40 mit: A) Latenz der „Lokomotion“ der drei Behandlungsgruppen; B) Latenz der „Lokomotion“ bezogen auf die Geschlechter der drei Behandlungsgruppen; C) Häufigkeit der „Lokomotion“ der drei Behandlungsgruppen; D) Häufigkeit der „Lokomotion“ bezogen auf die Geschlechter der drei Behandlungsgruppen; E) Dauer der „Lokomotion“ der drei Behandlungsgruppen; F) Dauer der „Lokomotion“ bezogen auf die Geschlechter der drei Behandlungsgruppen. Die Ergebnisse sind dargestellt als LSM ± SE. Signifikante Unterschiede (Tukey-Kramer-Test) sind mit Asterisken gekennzeichnet (*p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001). n = 87 für DA (45 männlich, 42 weiblich), n = 79 für DG (41 männlich, 38 weiblich), n = 79 für K (43 männlich, 36 weiblich). 126*
*Anhang 7: Dargestellt ist der Vergleich des im OF/NO-Test untersuchten Parameters „Stehen“ der drei Behandlungsgruppen DA (Deprivation allein; schwarze Balken), DG (Deprivation in einer Gruppe mit Wurfgeschwistern; gestreifter Balken) und K (Kontrolle, keine Deprivation; weißer Balken) an den Lebenstagen 16 und 40 mit: A) Häufigkeit des „Stehens“ der drei Behandlungsgruppen; B) Häufigkeit des „Stehens“ bezogen auf die Geschlechter der drei Behandlungsgruppen; C) Dauer des „Stehens“ der drei Behandlungsgruppen; D) Dauer des „Stehens“ bezogen auf die Geschlechter der drei Behandlungsgruppen. Die Ergebnisse sind dargestellt als LSM ± SE. Signifikante Unterschiede (Tukey-Kramer-Test) sind mit Asterisken gekennzeichnet (**p < 0,01; ***p < 0,001). n = 87 für DA (45 männlich, 42 weiblich), n = 79 für DG (41 männlich, 38 weiblich), n = 79 für K (43 männlich, 36 weiblich). 127*
*Anhang 8: Dargestellt ist der Vergleich des im OF/NO-Test untersuchten Parameters „Vokalisation“ der drei Behandlungsgruppen DA (Deprivation allein; schwarze Balken), DG (Deprivation in einer Gruppe mit Wurfgeschwistern; gestreifter Balken) und K (Kontrolle, keine Deprivation; weißer Balken) an den Lebenstagen 16 und 40 mit: A) Häufigkeit der „Vokalisation“ der drei Behandlungsgruppen; B) Häufigkeit der „Vokalisation“ bezogen auf die Geschlechter der drei Behandlungsgruppen; C) Latenz der „Vokalisation“ bezogen auf die Geschlechter der drei Behandlungsgruppen. Die Ergebnisse sind dargestellt als LSM ± SE. Signifikante Unterschiede (Tukey-Kramer-Test) sind mit Asterisken gekennzeichnet (*p < 0,05; ***p < 0,001). n = 87 für DA (45 männlich, 42 weiblich), n = 79 für DG (41 männlich, 38 weiblich), n = 79 für K (43 männlich, 36 weiblich). 128*
*Anhang 9: Dargestellt ist der Vergleich des im OF/NO-Test untersuchten Parameters „Objektkontakt“ der drei Behandlungsgruppen DA (Deprivation allein; schwarze Balken), DG (Deprivation in einer Gruppe mit Wurfgeschwistern; gestreifter Balken) und K (Kontrolle, keine Deprivation; weißer Balken) an den Lebenstagen 16 und 40 mit: A) Latenz der „Objektkontakte“ der drei Behandlungsgruppen; B) Häufigkeit der „Objektkontakte“ bezogen auf die Geschlechter der drei Behandlungsgruppen. Die Ergebnisse sind dargestellt als LSM ± SE. Signifikante Unterschiede (Tukey-Kramer-Test) sind mit Asterisken gekennzeichnet (*p < 0,05;*

***p < 0,01). n = 87 für DA (45 männlich, 42 weiblich), n = 79 für DG (41 männlich, 38 weiblich), n = 79 für K (43 männlich, 36 weiblich). 129*
Anhang 10: Einfluss der drei Behandlungsvarianten auf das Proliferationsvermögen von ConA-stimulierten Milzzellen (Anteil der Zellen in der jeweiligen Generation in %) am 20.LT. 129
Anhang 11: Einfluss der drei Behandlungsvarianten auf das Proliferationsvermögen von LPS-stimulierten Milzzellen (Anteil der Zellen in der jeweiligen Generation in %) am. 20. LT. 130
Anhang 12: Häufigkeit (%) des Auftretens von Krankheitsanzeichen bei den Ferkeln der drei Behandlungsgruppen nach LPS-Applikation 131
Anhang 13: Konzentrationen von Cortisol und immunologischen Parametern im Blutplasma der Ferkel der drei Behandlungsgruppen vor und zu verschiedenen Zeitpunkten nach der LPS-Applikation 134

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Aufgenommene Parameter zur Untersuchung der Mütterlichkeit und deren Definition 23
Tabelle 2: Erfasste Verhaltensweisen im Open-Field/Novel-Object-Test und deren Definition 24
Tabelle 3: Beobachtete Krankheitssymptome und deren Definition 25
Tabelle 4: Puffer und Kulturmedien 29
Tabelle 5: Verwendete Antikörper und Isotypkontrollen zur Typencharakterisierung von Milzzellen 30
Tabelle 6: Verwendete Antikörper-Cocktails 30
Tabelle 7: Primersequenzen, Amplikongrößen und Referenznummern der Genbanken 33
Tabelle 8: Relative Häufigkeiten (%) des Auftretens von Verhaltensweisen während der ersten drei Saugakte nach Beendigung der Deprivationsprozedur 35
Tabelle 9: Differenz der Cortisol- und IgA-Konzentrationen im Blutplasma der Ferkel vor und nach einem OF/NO-Test 40
Tabelle 10: Latenz, Häufigkeit und Dauer von beobachteten Verhaltensparametern im „Open Field"/„Novel Object"-Test 43
Tabelle 11: Relative mRNA-Expression von HPA-Achsen-assoziierten Parametern und Cytokinen im Hypothalamus der Ferkel der verschiedenen Behandlungsgruppen 52
Tabelle 12: Relative mRNA-Expression von HPA-Achsen-assoziierten Parametern und Cytokinen in der Amygdala der Ferkel der verschiedenen Behandlungsgruppen 53
Tabelle 13: Relative mRNA-Expression von HPA-Achsen-assoziierten Parametern im präfrontalen Cortex der Ferkel der verschiedenen Behandlungsgruppen 55
Tabelle 14: Relative mRNA-Expression von HPA-Achsen-assoziierten Parametern und Cytokinen im Hippocampus der Ferkel der verschiedenen Behandlungsgruppen 58
Tabelle 15: Einfluss der drei Behandlungsvarianten auf die Zellzusammensetzung in der Milz 59
Tabelle 16: Relative mRNA-Expression von HPA-Achsen-assoziierten Parametern und Cytokinen im Hypothalamus der Ferkel der verschiedenen Behandlungsgruppen 24 h nach LPS-Applikation 64
Tabelle 17: Relative mRNA-Expression von HPA-Achsen-assoziierten Parametern und Cytokinen in der Amygdala der Ferkel der verschiedenen Behandlungsgruppen 24 h nach LPS-Applikation 65
Tabelle 18: Relative mRNA-Expression von HPA-Achsen-assoziierten Parametern und Cytokinen im präfrontalen Cortex der Ferkel der verschiedenen Behandlungsgruppen 24 h nach LPS-Applikation 67
Tabelle 19: Relative mRNA-Expression von HPA-Achsen assoziierten Parametern und Cytokinen im Hippocampus der Ferkel der verschiedenen Behandlungsgruppen 24 h nach LPS-Applikation 69

Zusammenfassung

In der konventionellen Schweinehaltung werden die Tiere häufig herausfordernden Situationen ausgesetzt. Prozesse wie die frühe Trennung von Sau und Ferkel, frühes Absetzen oder häufiges Gruppenmischen stellen dabei ernst zu nehmende psychosoziale Stressoren für die Tiere dar und können kumulativ zu einer chronischen Stressbelastung führen. Die negativen Effekte einer solchen wiederholten Stressbelastung während der frühpostnatalen Periode auf die Gesundheit und das Wohlergehen der Tiere sind bisher jedoch kaum erforscht. Das Ziel dieser Arbeit bestand daher in der Untersuchung der Auswirkungen einer wiederholten psychosozialen Stressbelastung auf die Mutter-Kind-Interaktion sowie kurz- und langfristiger Effekte auf das ethologische, neuroendokrine und immunologische Adaptationsvermögen der Nachkommen. Als Modell für psychosozialen Stress diente eine wiederholte maternale Deprivation, der die Saugferkel täglich 2 h über einen Zeitraum von 2 Wochen (postnataler Tag 2–15) entweder allein oder in einer Gruppe von Wurfgeschwistern ausgesetzt waren. Die Kontrolltiere verblieben währenddessen im Wurf.

Die ethologischen Untersuchungen umfassten die Mutter-Kind-Interaktionen sowie Verhaltensänderungen der Nachkommen im kombinierten „Open Field"/„Novel Object"-Test (OF/NO-Test). Die Untersuchung neuroendokriner und immunologischer Adaptationsmechanismen in Antwort auf die Stressbelastung beinhaltete sowohl die Analyse von Hormonen und immunologischen Parametern in Speichel, Milch und Blut von Sauen und Ferkeln als auch Expressionsanalysen von HPA-Achsen-assoziierten Genen in verschiedenen Hirnregionen der Ferkel. Darüber hinaus wurden die langfristigen Auswirkungen der psychosozialen Stressbelastung auf die Immunkompetenz der Ferkel mittels einer einmaligen Injektion von Lipopolysaccharid (LPS) als Modell einer bakteriellen Infektion überprüft.

Die wiederholte maternale Deprivation beeinflusste sowohl Verhalten als auch physiologische und immunologische Parameter bei den Tieren. Das zeigte sich in einer veränderten Mutter-Kind-Interaktion sowie in einer modifizierten Genexpression in stress- und verhaltensassoziierten Hirnarealen. Der OF/NO-Test unmittelbar nach der Deprivationsperiode bewirkte eine höhere Cortisolfreisetzung in den Kontrolltieren als in den deprivierten Tieren. Gleichzeitig zeigten die allein deprivierten Tiere eine weniger aktive Verhaltensreaktion als die Kontrolltiere und die in Gruppe maternal deprivierten Tiere. Bei

der Wiederholung des OF/NO-Tests 24 Tage später zeigte sich bei den in Gruppe deprivierten und den Kontrolltieren eine Habituation, anders als bei den allein deprivierten Tieren. Die Reaktion auf die LPS-Injektion legt nahe, dass die maternale Deprivation langfristig die Krankheitsanfälligkeit der Ferkel erhöhen kann.

In dieser Studie konnte darüber hinaus nachgewiesen werden, dass die negativen Folgen der maternalen Deprivation durch die Anwesenheit von Wurfgeschwistern abgemildert werden können. Als Gruppe deprivierte Ferkel ähnelten in vielen Parametern den Kontrolltieren. Ferner konnte mit dieser Arbeit gezeigt werden, dass bereits während der frühpostnatalen Phase eine geschlechtsspezifische Regulation der HPA-Achse vorliegt und diese eine entscheidende Rolle für die Adaptationsmechanismen der Jungtiere spielt.

Diese Arbeit liefert grundlegende Erkenntnisse über die komplexe Regulation von psychosozialem Stress und seine langfristigen Auswirkungen auf ethologischer, neuroendokriner und immunologischer Ebene. Als praktische Konsequenz dieser Arbeit sollten Haltungssysteme bevorzugt werden, die ein Verbleiben der Tiere in ihren familiären Gruppen ermöglicht, um somit auch langfristig die Gesundheit und das Wohlbefinden der Tiere zu gewährleisten.

Abstract

In conventional pig farming, animals are frequently exposed to challenging situations. Processes such as early separation of sow and piglet, early weaning or frequent group mixing represent serious psychosocial stressors for the animals and can cumulatively lead to a chronic stress load. However, the negative effects of such repeated stress exposure during the early postnatal period on animal health and welfare have been scarcely studied.

Therefore, the aim of this study was to investigate the effects of repeated psychosocial stress exposure on the mother-infant interaction and short- and long-term effects on the ethological, neuroendocrine, and immunological adaptive capacity of the offspring. Repeated maternal deprivation to which suckling piglets were exposed daily for 2 h over a 2-week period (postnatal day 2-15) either alone or in a group of littermates was used as a model for psychosocial stress. Control animals remained in the litter during this time. The ethological studies included mother-infant interactions and behavioral changes in the offspring in a combined open field/novel object test (OF/NO test). The investigation of neuroendocrine and immunological adaptive mechanisms in response to stress exposure included the analysis of hormones and immunological parameters in saliva, milk, and blood of sows and piglets as well as expression analyses of HPA axis-associated genes in different brain regions of the piglets. In addition, a single injection of lipopolysaccharide (LPS) was used as a model of bacterial infection to assess the long-term effects of psychosocial stress on the immune competence of the piglets.

Repeated maternal deprivation affected behavior as well as physiological and immunological parameters in the animals. This was evident in both altered mother-infant interactions and modified gene expressions in brain areas related to stress and behavior. The OF/NO test immediately after the deprivation period caused a higher cortisol release in the control animals than in the deprived animals. At the same time, the animals deprived alone showed a less active behavioral response than the control animals and the animals deprived in a group of littermates. Repeating the OF/NO test 24 days later, group-deprived and control animals showed habituation, contrary to the animals deprived alone. The response to LPS injection suggests that maternal deprivation may increase the susceptibility of piglets to disease in the long term. This study further demonstrated that the negative consequences of

maternal deprivation can be mitigated by the presence of littermates. Piglets deprived as a group resembled control animals in many parameters. Furthermore, this study demonstrated that sex-specific regulation of the HPA axis is already present during the early postnatal period and plays a crucial role in the adaptive mechanisms of the offspring.

This study provides fundamental insights into the complex regulation of psychosocial stress and its long-term effects on behavior, neuroendocrine and immune systems. As a practical consequence, preference should be given to husbandry systems that allow animals to remain in their family groups, thus ensuring the long-term health and well-being of the animals.

1 Einleitung

„Freiheit von Hunger und Durst; Freiheit von Unbehagen; Freiheit von Schmerz, Verletzung und Krankheit; Freiheit zum Ausleben normalen Verhaltens; Freiheit von Angst."

Diese 1993 von John Webster verfassten „Fünf Freiheiten" bilden die Grundlage zur Beurteilung von Tierwohl und Gesundheit und dienten unter anderem als Richtlinie für das deutsche Tierschutzgesetz (Webster 1993). Diesen Grundsätzen gegenüber stehen jedoch oftmals die Bedingungen der konventionellen Massentierhaltung, die unter anderem von hohen Besatzdichten, einer geringen Verfügbarkeit von Beschäftigungsmöglichkeiten oder dem direkten Eingriff am Tier (Kupieren, Enthornen etc.) gekennzeichnet ist und das Ausüben eines arttypischen Verhaltens einschränkt (Nordquist et al. 2017; Rushen und Passillé 1992). Diese Diskrepanz kann letztlich zu einer starken Stressbelastung bei den Tieren führen und sich negativ auf ihre Gesundheit und ihr Wohlbefinden auswirken (Nordquist et al. 2017; Rushen und Passillé 2015; Cronin et al. 2014; Faucitano und Schaefer 2008). Nicht immer sind die dabei auftretenden Stressoren physischer Natur. Die frühe Trennung von Mutter und Kind, soziale Isolation aber auch soziale Instabilität infolge von häufigem Neugruppieren sind ernst zu nehmende psychosoziale Stressoren, insbesondere für sozial lebende Tiere (Proudfoot und Habing 2015; Tuchscherer et al. 2004; Kanitz et al. 2004).

Das Hausschwein (*Sus scrofa domesticus*) ist mit nahezu 142.000 täglichen Schlachtungen im Jahr 2019 eines der wichtigsten Nutztiere in Deutschland (Bundesamt für Statistik). Gleichzeitig verfügen Schweine über ein ausgeprägtes Sozialgefüge. Unter natürlichen Bedingungen bilden Schweine eine stabile Dominanzhierarchie innerhalb einer sozialen Gruppe, welche meist aus 2-5 Sauen mit Jungtieren und Saugferkeln besteht (Stolba und Wood-Gush 1989). Insbesondere die Mutter-Kind-Beziehung spielt in den ersten Wochen nach der Geburt eine zentrale Rolle. Diese ist durch eine hohe maternale Fürsorge und eine bis zu 18 Monate andauernde, interindividuelle Bindung gekennzeichnet, wobei die Sau bereits während der ersten beiden Tage nach Geburt in der Lage ist, ihre eigenen Ferkel zu identifizieren (Stolba und Wood-Gush 1989; Price et al. 1994; Špinka et al. 2002).

In der kommerziellen Schweinehaltung entstehen dadurch häufig Probleme. So werden zur Homogenisierung von Gewicht und Größe Ferkel oftmals in einen anderen Wurf

gesetzt, was jedoch zu einer Diskriminierung seitens der Ziehmutter führen kann. In einigen Fällen identifiziert die Sau das entsprechende Ferkel als fremd und zeigt ihm gegenüber aggressives Verhalten oder bricht die Saugakte bei Annäherung des entsprechenden Ferkels ab (Price et al. 1994; Horrell und Bennett 1981).

Dieser Prozess aber auch andere Prozesse der kommerziellen Tierhaltung wie das abrupte Absetzen der Ferkel oder das Mischen der Gruppen können zu einer anhaltenden psychosozialen Stressbelastung bei den Tieren führen und infolgedessen deren Gesundheit und Wohlbefinden negativ beeinträchtigen (Nordquist et al. 2017; Proudfoot und Habing 2015; Hameister et al. 2010; Puppe et al. 2008).

In der vorliegenden Arbeit wurde die maternale Deprivation und soziale Isolation als Modell für psychosozialen Stress genutzt. In vorangehenden Studien konnte gezeigt werden, dass eine Isolation der Ferkel von der Muttersau und den Geschwistern zuverlässig eine Stressantwort auslöst (Kanitz et al. 2004; Kanitz et al. 2009). Zwar haben sich schon zahlreiche Studien mit der Untersuchung von psychosozialem Stress beschäftigt, dennoch ist die Frage nach den langfristigen Auswirkungen auf das Immunsystem und das Neuroendokrinum weitgehend unbeantwortet. Diese Arbeit soll bei der Beantwortung eben jener Fragen helfen und den Einfluss von psychosozialem Stress auf regulatorische Mechanismen der Stressantwort sowie das Immunsystem untersuchen.

1.1 Stress

Das Wort Stress entstammt dem lateinischen Wort *stringere* (anspannen) und wurde in die englische Sprache aufgenommen, wo es Druck, Beanspruchung oder Belastung bedeutet (Kluge und Seebold 2002). Später fand der Begriff Einzug als wissenschaftlicher Ausdruck zur Beurteilung einer Belastungssituation von Lebewesen. Als einer der ersten definierte Selye ihn 1936 als "*Stress is the non-specific response of the body to any demand*" (Selye 1936). Dabei berief sich Selye unter anderem auf den von Cannon geschaffenen Begriff der Homöostase, welcher die koordinierten Prozesse des Körpers umfasst, die zu einem stabilen physiologischen Zustand unter sich verändernden Bedingungen führen (Cannon 1932). Da diese Definition nicht alle Prozesse abdeckt, wurde sie im Laufe der Jahre durch das Konzept der Allostase – „Stabilität durch Veränderung" – erweitert (McEwen 1998; McEwen und Wingfield 2010).

Dieses beschreibt die aktive Anpassung des Organismus an vorhersehbare und unvorhersehbare Umweltveränderungen, wobei die kumulativen Kosten zur Anpassung potentiell ernsthafte pathophysiologische Folgen haben können (McEwen 1998; Kloet 2014). Aufbauend auf diesem Konzept definierte Levine (2005) Stress wie folgt: *„Stress ist ein zusammengesetztes, multidimensionales Konstrukt, bei dem drei Komponenten zusammenwirken: (i) der Input, wenn der Stressor wahrgenommen und bewertet wird, (ii) die Verarbeitung der Stress-Information und (iii) der Output oder die Stressreaktion. Die drei Komponenten interagieren über komplexe selbstregulierende Feedforward- und Feedback-Schleifen mit dem Ziel, die Homöostase durch Verhaltensanpassungen und physiologische Anpassungen wiederherzustellen.“*.

1.1.1 Physiologische Stressantwort

Die zwei Hauptkomponenten des Organismus zur Beantwortung von Stress sind die Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse (HPA-Achse) und die Sympathikus-Adrenomedulläre-Achse (SAM-Achse) (Spencer und Deak 2017; Kumar et al. 2012; Aulock et al. 2006). Dabei führt die Aktivierung der SAM-Achse zu einer Freisetzung von Katecholaminen aus dem Nebennierenmark sowie aus sympathischen Nervenendigungen (Euler 1946; Fink 2007). Dies hat eine Aktivierung des Herzkreislaufsystems zur Folge, wodurch Puls, Atmung und Blutdruck beschleunigt werden (Sapolsky 2004). Gleichzeitig wird vermehrt Glucose mobilisiert (Fink 2007). Zusammen ermöglicht dies die „Kampf- oder-Flucht-Reaktion“ des Organismus (Kudielka und Kirschbaum 2005; Cannon 1914). Diese erste Stressreaktion erfolgt binnen Sekunden. Gleichzeitig kommt es zu einer Aktivierung der HPA-Achse, die in einer zweiten, langsameren Reaktion die Ausschüttung von Corticosteroiden bewirkt (McEwen und Sapolsky 1995). Auch wenn beide Stresssysteme miteinander interagieren und teilweise von den gleichen übergeordneten Strukturen wie dem Hypothalamus angesteuert werden, unterscheiden sich ihre Antworten in Hinblick auf die verschiedenen Stressoren. Beispielsweise zeigte sich nach einer wiederholten psychosozialen Stressbelastung keine Veränderung in der Menge sezernierter Katecholamine, wohingegen die Menge von Corticosteroiden über die Dauer der Stressbehandlung abnahm (Schommer et al. 2003; Henry 1993). Insbesondere durch seine Interaktion mit anderen physiologischen Systemen wie dem Sympathikus oder dem Immunsystem spielt die HPA-Achse eine

entscheidende Rolle in der Regulation von chronischem Stress (Kudielka und Kirschbaum 2005; Charmandari et al. 2005; Herman et al. 2016).

1.1.2 Regulation durch die HPA-Achse

Die basale und stressinduzierte Aktivität der HPA-Achse unterliegt einer komplexen cerebralen Regulation. Zu den drei wichtigsten übergeordneten Kontrollstrukturen zählen der präfrontale Cortex (PFC) und die mit ihm verknüpften und zum limbischen System gehörenden Strukturen des Hippocampus und der Amygdala (Herman et al. 2005). Dabei spielt der Hippocampus insbesondere beim Lernen und der Generierung von Erinnerungen eine zentrale Rolle, wohingegen in der Amygdala die emotionale Bewertung von Erlebnissen und Erinnerungen erfolgt (Richter-Levin und Akirav 2000). Durch die neuronale Verknüpfung beider Hirnregionen mit dem PFC kann dieser eingehende Informationen und emotionale Reaktionen flexibel regulieren, wodurch ein zielgerichtetes Verhalten bewirkt werden kann (Dixon et al. 2017; Del Arco und Mora 2009; Price 1999). In der Regulation der HPA-Achse werden dem Hippocampus und der Amygdala generell gegensätzliche Funktionen zugeschrieben. So konnte in zahlreichen Studien eine vom Hippocampus vermittelte Inhibierung der HPA-Achse nachgewiesen werden, wohingegen die Stressor-spezifische Aktivierung der Amygdala, wie beispielsweise in Folge von psychosozialem Stress, die Freisetzung von ACTH und Cortisol via CRH bewirkt (Herman et al. 2005; Herman et al. 2003; Dedovic et al. 2009; Carrasco und van de Kar 2003; Jacobson und Sapolsky 1991; Gray und Bingaman 1996). Untersuchungen des PFC zur Regulation der HPA-Achse deuten auf eine differenzierte und vom jeweiligen Kerngebiet abhängige Organisation hin (Myers et al. 2012; Figueiredo et al. 2003). Beispielsweise spielt der mediale PFC (mPFC) eine wichtige Rolle in der Vermittlung von physiologisch adaptiven Veränderungen, die durch Stress ausgelöst werden. So zeigten Läsionsstudien, dass eine Schädigung des prälimbischen mPFC (plPFC) in einer erhöhten Expression von Stresshormonen in Antwort auf einen akuten Stressreiz resultierte, während diese bei einer vorliegenden Schädigung des infralimbischen mPFC (ilPFC) verringert waren (Radley et al. 2006; Diorio et al. 1993). Zudem gibt es Hinweise, dass die negative Rückkopplung unter chronischem Stress primär durch den ilPFC vermittelt wird, nicht aber über den plPFC (McKlveen et al. 2015).

Die stressbedingte Aktivierung der HPA-Achse löst die Freisetzung des Corticotropin-Releasing-Hormons (CRH) aus dem Hypothalamus aus. Dieses vermittelt seinerseits die Freisetzung des Adreno-Corticotropin-Releasing-Hormons (ACTH) aus der Hypophyse in den Blutkreislauf, wodurch die Synthese von Glucocorticoiden (Cortisol oder Corticosteron) in der Nebennierenrinde induziert wird (Spencer und Deak 2017). Einmal sezerniert, binden die Glucocorticoide (GC) vor allem an den Mineralocorticoidrezeptor (MR) und den Glucocorticoidrezeptor (GR). Während der hochaffine MR vorwiegend unter basalen GC-Konzentrationen gebunden wird, erfolgt die Bindung des niederaffinen GR-Rezeptors vor allem unter stressinduzierten, hohen GC-Konzentrationen (Herman et al. 2016; Joëls und Kloet 2017). Da die GR in fast jeder Zelle exprimiert werden, sind sie an zahlreichen und unterschiedlichen Funktionen im Organismus beteiligt, wie der Aufrechterhaltung der Homöostase, der Regulation der Gentranskription oder der Immunantwort (Ballard et al. 1974; O'Connor 2000; Sapolsky et al. 2000). Abbildung 1 zeigt schematisch die Stressantwort der HPA-Achse.

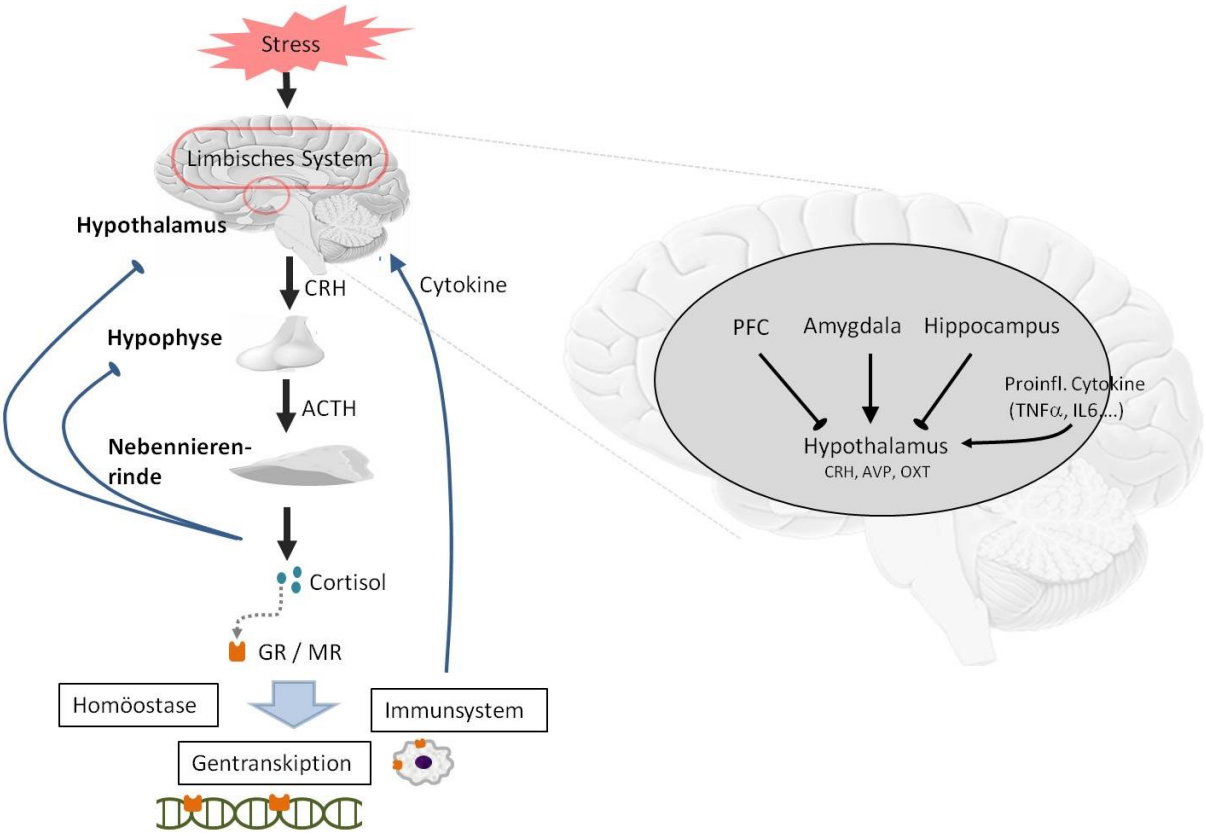


Abbildung 1: Schematische Darstellung der beteiligten regulatorischen Elemente der HPA-Achse

Das breite biologische Wirkungsspektrum der GC erfordert daher eine strikte Kontrolle, um langfristige Veränderungen des Stoffwechsels zu verhindern, die möglicherweise negative Auswirkungen auf den Organismus haben können. Dabei erfolgt die Regulierung der negativen Rückkopplungskontrolle der HPA-Achse vor allem durch die Bindung an MR und GR (Herman et al. 2012). Daneben existieren noch zahlreiche weitere Hormone, die mit der HPA-Achse interagieren. So verstärkt beispielsweise das vorwiegend für seine antidiuretische Wirkung bekannte Arginin-Vasopressin (AVP) in Verbindung mit CRH die Sezernierung von ACTH aus der Hypophyse und determiniert somit unmittelbar die Stressantwort der HPA-Achse (Aguilera 1994). Zudem zeigen Untersuchungen, dass die Sensibilität der Hypophyse gegenüber CRH maßgeblich von den AVP-Rezeptoren abhängt (Aguilera 1994). Ein weiteres HPA-Achsen-wirksames Hormon ist Oxytocin, welches sich nur in 2 der 9 Aminosäuren von AVP unterscheidet (Rehbein et al. 1986). Wie auch CRH und AVP wird es unter anderem im paraventriculären Nucleus (PVN) des Hypothalamus gebildet, einem der Kerngebiete für die Stressverarbeitung (Herman et al. 2016; Landgraf 1995). Oxytocin ist vor allem für seine Funktionen bei der Geburtseinleitung, Milchejektion und der Regulierung mütterlichen Verhaltens bekannt. Allerdings belegen zahlreiche Studien, dass es auch wirksam die Ausschüttung von ACTH und Cortisol reduzieren kann und somit stressdämpfend auf den Organismus wirkt (Slattery und Neumann 2008; Gouin et al. 2010; Carter 2003; Insel und Harbaugh 1989). Dem gegenüber stehen jedoch Ergebnisse aus Studien, die eine positive Korrelation zwischen erhöhten Oxytocinkonzentrationen, Aggression und einer erhöhten Ausschüttung von Stresshormonen zeigen (Gibbs 1986; Rault et al. 2013).

Insgesamt stellt die HPA-Achse mit ihrem breiten systemischen Wirkungsspektrum eines der wichtigsten Schaltzentren des Organismus dar, an dessen Regulation viele Hormone beteiligt sind. Darüber hinaus kann aber beispielweise auch das Immunsystem modulierend auf die HPA-Achse einwirken und umgekehrt (Buckingham et al. 1994; Marchetti et al. 2001; Dantzer et al. 2008; Szelényi 2001).

1.2 Stress und Immunsystem

Grundlegend kann das Immunsystem in zwei Kategorien unterteilt werden: (1) das angeborene Immunsystem und (2) das erworbene bzw. adaptive Immunsystem (Murphy und Weaver 2018). Die angeborene Immunantwort stellt die erste und unmittelbare Reaktion des Organismus auf fremde Stoffe dar und umfasst Granulozyten, natürliche Killerzellen (NK-Zellen), Mastzellen, dendritische Zellen und Makrophagen. Das adaptive Immunsystem umfasst vor allem T- und B-Lymphozyten, die in der Lage sind, spezifische Strukturen (Antigene) zu erkennen und über Antikörper oder spezialisierte Zellen gezielte Abwehrreaktionen einzuleiten (Murphy und Weaver 2018). Daneben spielen Cytokine eine entscheidende Rolle in der Immunantwort. Diese Klasse von Proteinen wird unter anderem von Makrophagen und T-Helferzellen aber auch von Zellen des zentralen Nervensystems wie Gliazellen sezerniert und kann über autokrine, parakrine und endokrine Signalwege die Immunantwort verstärken bzw. modulieren. Typische Symptome einer Infektion wie Fieber, Schläfrigkeit oder die verringerte Aktivität stehen in unmittelbarem Zusammenhang mit der Sezernierung von Cytokinen (Dantzer 2004; Kelley et al. 2003). Aber auch Reifung, Wachstum, Differenzierung und Reaktionsfähigkeit aller Immunzellen können von hochspezialisierten Cytokinen reguliert werden (Murphy und Weaver 2018; Oppong und Cato 2015). Darüber hinaus gibt es Hinweise, dass Cytokine auch als Neuromodulatoren fungieren und an der Regulation von normalen physiologischen Stoffwechselvorgängen im zentralen Nervensystem, wie beispielsweise der Schlafregulation, beteiligt sind (Vitkovic et al. 2000; Shi et al. 2010; Krueger 2008; Datta und Maclean 2007; Kapsimalis et al. 2005).

1.2.1 Interaktion von HPA-Achse und Immunsystem

Die Interaktion der HPA-Achse mit dem Immunsystem erfolgt durch ein komplexes Netzwerk von Signalen, das auf einer bidirektionalen Kommunikation zwischen dem endokrinen, dem Nerven- und dem Immunsystem basiert (Padgett und Glaser 2003). Einen zentralen Schlüssel dieser Kommunikation stellen die Glucocorticoidrezeptoren dar, die von nahezu allen Zellen des Immunsystems exprimiert werden (Miller et al. 1998). Durch Binden der Glucocorticoide an die entsprechenden Rezeptoren kann unmittelbar die Funktion von Immunzellen, wie

beispielsweise die Proliferation, die Cytokinsekretion, die Antikörperproduktion oder die zytolytische Aktivität moduliert werden (McEwen et al. 1997; Russo-Marie 1992; Elenkov und Chrousos 2002).

Generell wird Glucocorticoiden eine immunsuppressive Wirkung zugesprochen (Coutinho und Chapman 2011). Beispielsweise konnte in Mäusen, denen die Nebennieren entfernt wurden, eine deutlich höhere Cytokin-Konzentration in Antwort auf eine LPS-Injektion nachgewiesen werden als bei den Kontrolltieren (Goujon et al. 1996). Zudem wird die Reifung und Proliferation von Lymphozyten durch Glucocorticoide inhibiert (Gillis et al. 1979; Cupps et al. 1985; Laue et al. 1988).

Aktuelle Studien zeigen jedoch, dass die Wirkung der Glucocorticoide weniger rein immunsuppressiv ist, sondern vielmehr auf einer Modifikation des Verhältnisses der T-Helferzellsubtypen Th1 und Th2 beruht (Elenkov 2004). Das Th1/Th2-Verhältnis bestimmt den Schwerpunkt der Immunantwort— ob diese eher auf zellulärer oder aber auf humoraler Ebene stattfindet. Entscheidend hierfür ist die Sekretion von Cytokinen, die sich abhängig vom jeweiligen Zelltyp unterscheiden und gegenseitig beeinflussen (Elenkov 2004; Kidd 2003). Th1-Zellen produzieren vornehmlich pro-inflammatorische und für die zelluläre Immunantwort zuständige Cytokine wie IFN-γ, IL-2 und TNF-α, was unter anderem in einer Aktivierung von NK-Zellen, zytotoxischer T-Zellen und Makrophagen resultiert (Dinarello 2000; Oppong und Cato 2015; Hsieh et al. 1993). Glucocorticoide inhibieren die Aktivität dieser Th1-Zellen und verschieben somit das Verhältnis zugunsten der Th2-Zellen, welche insbesondere für die Sezernierung der Cytokine IL-4 und IL-10 zuständig sind und die humorale Immunantwort vorantreiben (Elenkov und Chrousos 2002). Beide Cytokine bewirken unter anderem eine Aktivierung von Mastzellen und stimulieren die Reifung von B-Zellen. Gleichzeitig inhibieren sie aber auch die Makrophagen-Aktivität, Proliferation von T-Zellen und die Produktion von pro-inflammatorischen Cytokinen, weshalb sie als anti-inflammatorische Cytokine bezeichnet werden (Elenkov und Chrousos 2002; Opal und DePalo 2000). Über dieses komplexe regulatorische Netzwerk können Glucocorticoide systematisch die Immunantwort beeinflussen.

Darüber hinaus sind Cytokine in der Lage, verschiedene Funktionen des zentralen Nervensystems (ZNS) wie Schlaf, Lernen und Fieber, aber auch die Ausschüttung von Stresshormonen zu beeinflussen (Kelley et al. 2003; Krueger 2008; Datta und Maclean 2007; Turnbull und Rivier 1999; Besedovsky und del Rey 2011). Dabei können Cytokine die

Funktionen des ZNS sowohl direkt durch Passieren der Blut-Hirn-Schranke als auch indirekt z.B. durch die Aktivierung des Nervus vagus modulieren (Szelényi 2001; Turnbull und Rivier 1999; Rothwell und Hopkins 1995). Grundlage dieser Interaktion sind Cytokinrezeptoren, die in zahlreichen Hirnregionen exprimiert werden, unter anderem in den Hirnregionen, die an der Regulation der Stressantwort beteiligt sind (Turnbull und Rivier 1999).

Eine der ersten Untersuchungen zur reziproken Kommunikation zwischen HPA-Achse und Immunsystem stammt von Besedovsky et al. (1986), der nachwies, dass eine intraperitoneale Injektion von IL-1 in Mäusen zu einer starken Aktivierung der HPA-Achse führt. Seither wurden unzählige Studien zu den Rückkopplungsmechanismen von Cytokinen mit der HPA-Achse durchgeführt. Die Aktivierung der HPA-Achse kann hierbei entweder direkt oder indirekt erfolgen. Die direkte Aktivierung erfolgt unter anderem durch die Stimulation des Hypothalamus oder der Hypophyse (Turnbull und Rivier 1999; Dunn 2007). Versuche an Ratten zeigten beispielsweise, dass die Injektion von IL-1, IL-6 und TNF-α zu einer verstärkten Freisetzung von CRH aus dem Hypothalamus führt (Sapolsky et al. 1987; Berkenbosch et al. 1987; Kovács und Elenkov 1995; Bernardini et al. 1990). Dabei ist diese Wirkung häufig synergistisch. In Versuchen an Ratten konnten van der Meer et al. (1995) nachweisen, dass eine intraperitoneale Applikation von IL-1, IL-6 und TNF-α zusammen eine stärkere Aktivierung der HPA-Achse auslöste, als jedes Cytokin für sich allein. Die indirekte Wirkung der Cytokine auf die Aktivität der HPA-Achse beruht auf der Modulation von Hippocampus- und PFC-vermittelten, regulatorischen Prozessen (Friedman 2001; Crane et al. 2003). So bewirkte beispielsweise eine intracerebroventrikuläre Injektion von TNF-α eine drastische Reduktion der GR-Expression im Hippocampus von Ratten (Betancur et al. 1995). Aufgrund ihrer breiten Interaktionsmöglichkeiten mit dem ZNS spielen Cytokine eine wichtige Rolle in der Regulation der HPA-Achse – sowohl während akuter als auch während chronischer Stressbelastungen.

1.2.2 Auswirkungen von chronischem Stress auf das Immunsystem

Während akute Belastungen eine zeitlich begrenzte Aktivierung der HPA-Stressreaktion hervorrufen, die anschließend durch Rückkopplungsmechanismen effektiv beendet wird, führt eine wiederholte oder langanhaltende Stressbelastung zu einer chronischen Aktivierung

der HPA-Achse. Diese kumulative Stressbelastung kann die Regulationsmechanismen der HPA-Achse beeinträchtigen und somit langfristige Folgen für den Organismus haben (Kloet 2014; Herman et al. 2016). Die Wirkung von wiederholter oder chronischer Stressbelastung ist bei Labortieren gut dokumentiert und führt nachweislich zu deutlichen Veränderungen wie Gewichtsverlust, Schrumpfung des Thymus oder einer reduzierten Feedback-Antwort durch Veränderung der MR- und GR-Expression bzw. des MR/GR-Verhältnisses (Mormède et al. 2007; Harris et al. 2013; M. Vázquez 1998). Darüber hinaus wirken sich die dauerhaft erhöhten Stresshormonspiegel auch auf das Immunsystem aus. Es wurden zahlreiche Studien an Menschen und Tieren durchgeführt, um die Auswirkungen einer chronischen Stressbelastung auf das Immunsystem zu untersuchen. So konnte unter anderem gezeigt werden, dass chronischer Stress hemmend auf die Proliferation von Leukozyten, die Aktivität von Makrophagen und NK-Zellen, sowie die Antikörperproduktion wirkt (Dhabhar 2014; Jiang et al. 1990; Chrousos 2000). Generell wird davon ausgegangen, dass hohe Glucocorticoidkonzentrationen eine Hemmung der Th1-Zellen bewirken, in deren Folge weniger pro-inflammatorische Cytokine produziert werden (Elenkov 2004; Viveros-Paredes et al. 2006). Dem gegenüber stehen jedoch zahlreiche Studien, die zeigen, dass chronischer Stress zu einer erhöhten Inflammation führt (Miller et al. 2019; Cohen et al. 2012; Rohleder 2019; You et al. 2011). Die hier zugrundeliegenden Mechanismen sind noch immer nicht eindeutig geklärt. Jedoch häufen sich die Hinweise, dass die Dauer der Glucocorticoid-Exposition die pro- oder anti-inflammatorischen Effekte des Immunsystem determiniert (Cruz-Topete und Cidlowski 2015; Franchimont 2004). Tian et al. (2014) definierten hierfür drei Stadien einer chronischen Stressbelastung: (1) Anfangsstadium, welches mit der typischen Aktivierung von Th2-Zellen und der Hemmung von pro-inflammatorischen Cytokinen verbunden ist; (2) Erschöpfungsphase der HPA-Achse, die in einer verminderten GR-Expression resultiert. Dadurch wird die negative Feedback-Kontrolle der HPA-Achse beeinträchtigt, Immunzellen entwickeln eine Resistenz gegenüber Glucocorticoiden und sezernieren vermehrt pro-inflammatorische Cytokine; (3) Inflammation infolge eines weiteren Anstiegs pro-inflammatorischer Cytokine, wodurch gleichzeitig die Anfälligkeit des Organismus gegenüber diversen Krankheiten erhöht wird. Während die meisten dieser Studien an Labortieren oder Menschen durchgeführt wurden, gibt es nur wenige Studien, die die Auswirkungen einer chronischen Stressbelastung auf das Immunsystem bei Schweinen untersuchten. Dabei konnte auch in diesen Studien keine eindeutige Reaktion des

Immunsystems auf chronischen Stress gefunden werden (Salak-Johnson und McGlone 2007). So wurde in Untersuchungen an Schweinen, die einer wiederholten sozialen Isolation ausgesetzt waren, eine erhöhte IL-1β-Konzentration im Hippocampus sowie eine Hemmung der peripheren Lymphozytenproliferation festgestellt (Kanitz et al. 2004; Tuchscherer et al. 2004). Demgegenüber führten häufiges Neugruppieren und hohe Besatzdichten zu einer verstärkten Lymphozyten-Proliferation und erhöhten Konzentrationen intestinaler Cytokine (Sutherland et al. 2006; Li et al. 2017). Dessen ungeachtet führt eine chronische Stressbelastung zu veränderten Immunantworten, wobei die Auslenkung des Immunsystems abhängig von der Art und Dauer des Stressors sowie vom Untersuchungszeitpunkt zu sein scheint (Dhabhar 2014; Tian et al. 2014).

1.3 Laktation— mehr als Ernährung

Die Laktation ist eine evolutionär erworbene Fähigkeit der Säugetiere, das Überleben der Nachkommen durch Säugen mit Muttermilch als Nahrungsquelle zu verbessern (Oftedal 2002; Capuco und Akers 2009). Jede Spezies verfügt dabei über ihre eigene, spezifische Nährstoffzusammensetzung (Jenness 1986; Hadjipanayiotou 1995). Der Vorteil dieser Art von Fütterung ist die relative Unabhängigkeit von den Umweltfaktoren. Die Laktation ermöglicht die Ernährung der Jungtiere auch mit zeitlich und räumlich entfernten Ressourcen, wodurch eine erfolgreiche Arterhaltung unter den unterschiedlichsten Umweltbedingungen gesichert werden kann (Pond 1977; McClellan et al. 2008). Darüber hinaus bietet die Laktation aber auch den Vorteil, dass das fötale Gewicht beschränkt werden kann, wodurch die trächtigen Muttertiere freier agieren können. Durch die Sicherstellung der Nahrungsversorgung der Jungtiere kann ein großer Teil ihrer Entwicklung im postnatalen Zeitraum ablaufen, ohne die Muttertiere durch zu viel Gewicht zu belasten (Pond 1977). Zudem dauern viele Entwicklungsprozesse wie z. B. die Entwicklung des Gehirns und des Immunsystems oder die Mutter-Kind-Beziehung, die während der pränatalen Periode begonnen haben, auch während der frühen postnatalen Lebensphase noch an (Capuco und Akers 2009; Dobbing und Sands 1979). Laktation bedeutet also nicht nur Ernährung, sondern ist eine entscheidende Zeit für die weitere mentale und physiologische Reifung, die Gesundheit und das Wohlergehen des Nachwuchses.

1.3.1 Die Rolle der Laktation für die Gesundheit der Nachkommen und die Mutter-Kind-Beziehung

Muttermilch enthält hohe Mengen an Proteinen, Fetten und Kohlenhydraten und stellt die erste Energiequelle für die Nachkommen dar. Neben diesen Nährstoffkomponenten enthält sie außerdem eine Reihe bioaktiver Substanzen wie Immunglobuline, Cytokine, Wachstumsfaktoren oder Hormone (Hadjipanayiotou 1995; Grosvenor et al. 1993; Hagiwara et al. 2000). Dabei verändert sich die Zusammensetzung der Muttermilch während der Laktationsperiode und in Abhängigkeit von der jeweiligen Spezies. Beispielsweise nimmt der Gesamtproteingehalt in der Milch von laktierenden Schweinen mit der Zeit ab, während der Laktose- und Fettgehalt zunimmt (Tuchscherer et al. 2006; Klobasa et al. 1987). Bei Rindern konnte mit fortschreitender Laktation ebenfalls eine Abnahme des Proteingehalts bei gleichzeitiger Zunahme der Laktosekonzentration nachgewiesen werden, jedoch veränderte sich der Fettgehalt über die Dauer der Laktation nur geringfügig (Tsioulpas et al. 2007). Auch der Gehalt der jeweiligen Nährstoffe unterscheidet sich in Abhängigkeit vom Laktationstag erheblich. So enthält das Kolostrum von Rindern beispielsweise 16 % Protein und 3,5% Fett, das der Schweine jedoch nur 7,5 % Protein, aber dafür 10 % Fett (Klobasa et al. 1987; Tsioulpas et al. 2007).

Generell nimmt das Kolostrum, die erste Muttermilch nach der Geburt, einen besonderen Stellenwert ein. In diesem fanden sich bei allen Nutztieren signifikant höhere Proteinkonzentrationen im Vergleich zur späteren Milch (Hadjipanayiotou 1995; Tuchscherer et al. 2006; Tsioulpas et al. 2007). Dabei machen die drei Hauptimmunglobuline IgG, IgM und IgA über 50 % des Proteingehalts im Kolostrum aus, wobei von diesen IgG mit 90 % am stärksten vertreten ist (Georiev 2008; Ontsouka et al. 2003). Darüber hinaus befinden sich im Kolostrum die höchsten Konzentrationen von Cytokinen und Wachstumsfaktoren. Diese fallen innerhalb von nur wenigen Stunden bis wenigen Tagen ab (Korhonen et al. 2000; Farmer 2015; W.L. Hurley 2015). Da bei Schweinen und Wiederkäuern kein plazentarer Transfer von Immunglobulinen vom Muttertier auf die Nachkommen stattfindet und die passive Immunisierung der Neugeborenen hauptsächlich postnatal durch Aufnahme der Muttermilch erfolgt, ist das Kolostrum unabdingbar für die frühpostnatale Immunabwehr (Brambell 1971; Le Dividich et al. 2005). Darüber hinaus spielt das Kolostrum aber auch für die Gewebeentwicklung, Zelldifferenzierung und die Reifung des Magen-Darm-Traktes eine

wichtige Rolle (Xu et al. 2002; Uruakpa et al. 2002; Brenmoehl et al. 2018). Die zentrale Bedeutung des Kolostrums für die Entwicklung der Nachkommen wird verdeutlicht, wenn es den Neugeborenen verweigert wird. Devillers et al. (2011) fanden heraus, dass das Risiko einer frühen Sterblichkeit um bis zu 43 % anstieg, wenn die Ferkel in den ersten 24 Stunden weniger als 200 g Kolostrum aufnahmen. Laktation dient also nicht nur der Ernährung des Nachwuchses, sondern spielt eine entscheidende Rolle für die weitere Entwicklung eines funktionierenden Immunsystems, die Gesundheit und das Wohlergehen des Nachwuchses.

Darüber hinaus wird während der Laktation aber auch die soziale Bindung zwischen Mutter und Nachwuchs gefestigt. Diese Mutter-Kind-Beziehung ist entscheidend für das Überleben des Neugeborenen, da die Mutter den ersten Kontakt mit der Umwelt darstellt, es vor Fressfeinden oder anderen Artgenossen schützt sowie Wärme und Nahrung bereitstellt (Nowak 2000). Kurz nach der Geburt sind Mutter und Nachwuchs in der Lage, sich gegenseitig zu erkennen und auch zwischen vertrauten und nicht vertrauten Gruppenmitgliedern zu unterscheiden (Poindron et al. 1993; Horrell und Hodgson 1992). Bei Schweinen wird dieses Erkennen von Verwandten durch olfaktorische Hinweise (Beschnüffeln, Pflege) und durch auditive Hinweise induziert und hilft, in der Nähe der eigenen Mutter zu bleiben oder fremde Ferkel vom Säugen abzuhalten (Nowak 2000; Horrell und Hodgson 1992; Šustr et al. 2002). Interessanterweise synchronisieren Sauen ihre Säugezeiten, wenn sie in Gruppen oder in benachbarten Kastenständen gehalten werden, wodurch wahrscheinlich das Fremdsäugen reduziert werden kann (Farmer 2015; Špinka und Illmann 2015). Generell verfügen Sauen über ein recht komplexes Säugeverhalten, das aus verschiedenen Phasen und charakteristischem Grunzen besteht, wodurch Monopolisierung verhindert und die Fitness aller Neugeborenen erhöht wird (Fraser 1980). Natürliche Veränderungen im mütterlichen Verhalten finden während der Absetzphase statt. Während dieser Zeit nehmen die Säugebereitschaft und die maternale Fürsorge der Sau gegenüber den Nachkommen kontinuierlich ab (Puppe und Tuchscherer 2000). Gleichzeitig versuchen die Nachkommen ein Höchstmaß an elterlichem Pflegeaufwand zu erlangen (Drake et al. 2008). Dieser evolutionär ausbalancierte Interessenskonflikt zwischen dem elterlichen Pflegeaufwand und den Pflegeansprüchen der Nachkommen wird auch als Absetzkonflikt bezeichnet (Puppe 2002). Der Beginn des natürlichen Absetzprozesses wird dabei von den Muttertieren determiniert und hängt unter anderem von der Art und den gegebenen Umweltbedingungen ab (Špinka 2006). Beispielsweise liegt das durchschnittliche Absetzalter

bei dem europäischen Wildschwein (*Sus scrofa L.*) bei etwa 12-17 Wochen (Meynhardt 1984). Dieser Zeitraum konnte auch bei domestizierten Schweinen in einer semi-natürlichen Umwelt und mit freier Wahl des Absetzzeitalters nachgewiesen werden (Stolba und Wood-Gush 1989; Jensen und Recén 1989). Demgegenüber ist das Absetzalter in der kommerziellen Schweinetierhaltung mit zumeist 21-35 Tagen deutlich niedriger und verläuft auch nicht graduell, sondern erfolgt abrupt (Colson et al. 2006). Der Prozess des kommerziellen Absetzens stellt für die Ferkel eine enorme Herausforderung dar. Durch die plötzliche Futterumstellung sind die Ferkel einem zeitweiligen Fasten ausgesetzt, sie werden von der Muttersau und den Geschwistern getrennt, in eine neue Umgebung transportiert und mit fremden Tieren gemischt. All diese Prozesse stellen potentielle Stressoren für die Ferkel dar, die aktiv die HPA-Achse stimulieren und kumulativ die Gesundheit und das Wohlbefinden der Ferkel beeinträchtigen können (Hameister et al. 2010; Pluske et al. 2003).

1.3.2 Auswirkungen von frühpostnatalem Stress beim Schwein

In der intensiven Nutztierhaltung sehen sich die Tiere oft mit neuen und ungewohnten Herausforderungen konfrontiert. Dabei stellen viele der Managementprozesse einen ernst zu nehmenden Stressor für die Tiere dar, und nicht selten sind sie diesen bereits unmittelbar nach der Geburt ausgesetzt (Nordquist et al. 2017; Rushen und Passillé 1992; Proudfoot und Habing 2015). Viele dieser Prozesse sind eine Folge des beständigen Anspruchs einer höheren Produktionsleistung bei gleichzeitig möglichst geringem Ressourcenverbrauch. Beispielsweise wurden in der kommerziellen Schweinehaltung die Wurfgrößen der Sauen durch gezielte Selektion und Züchtung immer weiter vergrößert (Andersen et al. 2011; Rutherford et al. 2013). Die mütterliche Fürsorge ist jedoch nicht grenzenlos. Steigende Wurfgrößen sind mit einer höheren Ferkelsterblichkeit korreliert, da zum einen das Geburtsgewicht der Ferkel negativ mit der Wurfgröße assoziiert ist und zum anderen die Kolostrummenge der Sau unabhängig von der Wurfgröße konstant bleibt (Andersen et al. 2011; Quesnel 2011). Folglich erhalten Ferkel höherer Wurfgrößen insgesamt weniger Kolostrum und somit auch weniger der für ihr Wachstum und ihre Gesundheit notwendigen Nährstoffe. Durch die zusätzliche Geschwister- und Zitzenkonkurrenz erhöht sich zudem das Risiko einer Mangelernährung, wodurch die Ferkelverluste als Folge von Verhungern und

Erdrücken steigen (Drake et al. 2008; Andersen et al. 2011; Rutherford et al. 2013). Untersuchungen zeigten, dass fast 50 % aller Ferkelverluste innerhalb der ersten drei Tage auftreten (Dyck und Swierstra 1987).

Übersteigt die Wurfgröße die Zitzenzahl der Sau, werden in der kommerziellen Schweinehaltung verschiedene Verfahren angewendet, um eine Mangelernährung der Ferkel und die damit einhergehenden Verluste zu minimieren. Dazu zählen unter anderem das Ansetzen „überzähliger" Ferkel an eine Ammensau mit geringerer Wurfgröße, aber auch gesplittete Saugakte, bei denen die Ferkel in die Gruppen aufgeteilt werden und jeweils nur eine Gruppe gesäugt, die andere derweil isoliert gehalten wird (Donovan und Dritz 2000; Kyriazakis und Edwards 1986). Zudem werden die Ferkel verschiedener Würfe häufig nach Größe oder Geschlecht sortiert, was aber gleichzeitig eine Deprivation von Geschwistern und Muttersau impliziert (Baxter et al. 2013). Diese Managementprozesse bedeuten Stress für die Tiere und können schwerwiegende Folgen für die Gesundheit und das Wohlbefinden haben.

In experimentellen Untersuchungen zum psychosozialen Stress führte eine einmalige Isolation von 4 h bei Ferkeln zu einem drastischen Anstieg von Cortisol und ACTH im Plasma und einer veränderten Expression stressregulierender Gene im Hypothalamus, Hippocampus, PFC und der Amygdala (Kanitz et al. 2009; Kanitz et al. 2016). Gleichzeitig erhöhte sich die Glucocorticoidresistenz von Immunzellen und die TNF-α-Sekretion nach einer LPS-Stimulation sank (Tuchscherer et al. 2009; Tuchscherer et al. 2010). Im Vergleich zu unisolierten Ferkeln führte eine 4-stündige Isolation zudem zu einer stärkeren Ausprägung von Krankheitsymptomen und einem verringerten $CD4^+/CD8^+$-Verhältnis in Antwort auf eine einmalige LPS-Injektion (Tuchscherer et al. 2009). Dies deutet darauf hin, dass selbst eine einmalige Stressexposition die Krankheitsanfälligkeit der Tiere erhöhen kann (Tuchscherer et al. 2018).

Ein in der kommerziellen Schweinehaltung gut untersuchter Prozess ist das Absetzen. Dieser stellt durch das nachfolgende Neugruppieren, die Nahrungsumstellung und die plötzliche Trennung von Muttersau und Geschwistern eine Kombination verschiedenster Stressoren dar. So konnte gezeigt werden, dass ein früheres Absetzalter mit einer verringerten Futteraufnahme und Gewichtszunahme einhergeht (Colson et al. 2006; Hay et al. 2001). Darüber hinaus reagierten früh abgesetzte Ferkel mit ausgeprägten Änderungen im Verhalten und des neuroendokrinen Systems. Sie wiesen deutlich höhere ACTH- und Cortisol-Konzentrationen auf und eine verminderte hippocampale Expression der Gene GR, MR, 11ß-

HSD1 und 11β-HSD2 (Li et al. 2016; Poletto et al. 2006). Früh abgesetzte Ferkel zeigten eine erhöhte Aggressivität, ein höheres Bauchmassageverhalten (belly nosing) gegenüber ihren Artgenossen und eine erhöhte Vokalisation (Colson et al. 2006; Jarvis et al. 2008; Worobec et al. 1999; Worsaae und Schmidt 1980; Orgeur et al. 2001). Zudem ist ein früheres Absetzalter mit einer gestörten Entwicklung des gastrointestinalen Traktes assoziiert, wodurch diese Ferkel eine erhöhte Anfälligkeit gegenüber entzündlichen Darmerkrankungen aufweisen (Smith et al. 2010; Moeser et al. 2007).

In der kommerziellen Schweinehaltung werden die Ferkel meist nicht nur einmalig, sondern wiederholt einem Stressor ausgesetzt. Dies kann zu einer chronischen Stressbelastung führen, die langfristig negative Konsequenzen für das Tierwohl haben kann. So zeigten Ferkel, die über einen Zeitraum von 7 Tagen jeweils 2 h isoliert wurden, auch nach 6 Wochen erhöhte basale plasma-ACTH-Konzentrationen, sowie erhöhte Konzentrationen von IL-1β im Hippocampus und CRH im Hypothalamus (Kanitz et al. 2004). Auch fielen bei diesen Tieren die TNF-α-Konzentrationen in Antwort auf eine LPS-Injektion 45 Tage nach der Isolation deutlich geringer aus als bei den Tieren, die zuvor nicht isoliert worden waren (Tuchscherer et al. 2004). Insgesamt deuten diese Studien darauf hin, dass stressvolle Erfahrungen während der frühpostnatalen Phase sowohl langfristig Verhaltensweisen als auch neuroendokrine und immunologische Reaktionen nachhaltig beeinflussen können.

2 Zielstellung und Hypothesen

Das Ziel dieser Arbeit besteht in der Untersuchung kurz- und langfristiger Auswirkungen einer wiederholten, psychosozialen Stressbelastung auf das ethologische, neuroendokrinologische und immunologische Adaptationsvermögen der Nachkommen beim Hausschwein. Als experimentelles Modell dient eine maternale Deprivation, der die Ferkel entweder allein oder in einer Gruppe mit anderen Wurfgeschwistern ausgesetzt sind und die zuverlässig psychosozialen Stress bei den Tieren auslöst. Dieser Ansatz soll zu einem besseren Verständnis der Auswirkungen einer chronischen Stressbelastung beitragen und dient als Grundlage zur Verbesserung von Tiergesundheit und Tierwohl. Die Arbeit basiert auf folgenden Hypothesen:

1. Eine psychosoziale Stressbelastung von Ferkeln durch wiederholte maternale Deprivation während der Laktation wirkt sich negativ auf die Mutter-Kind-Beziehung aus.

2. Diese psychosoziale Stressbelastung führt bei den Ferkeln zu einer Aktivierung der HPA-Achse sowie zu veränderten Genexpressionen relevanter Signalmoleküle in stress- und verhaltensassoziierten Hirnarealen.

3. Die maternale Deprivation in einer Gruppe mit Wurfgeschwistern führt zu weniger ausgeprägten ethologischen und physiologischen Stressreaktionen.

4. Die frühpostnatale Stressbelastung hat langfristige Auswirkungen auf die Immunkompetenz und somit auf die Krankheitsanfälligkeit der Nachkommen.

Zur Überprüfung der Hypothesen werden Ferkel täglich für 2 h über einen Zeitraum von 2 Wochen (postnataler Tag 2–15) entweder allein oder in einer Gruppe von Wurfgeschwistern depriviert. Die Kontrolltiere verbleiben währenddessen im Wurf. Die ethologischen Untersuchungen umfassen die Mutter-Kind-Interaktionen sowie Verhaltensänderungen der

Nachkommen im kombinierten „Open Field“/„Novel Object“-Test. Die Untersuchung neuroendokriner und immunologischer Adaptationsmechanismen in Antwort auf die Stressbelastung beinhaltet sowohl die Analyse von Hormonen und immunologischen Parametern in Speichel, Milch und Blut von Sauen und Ferkeln als auch Expressionsanalysen von HPA-Achsen-assoziierten Genen in verschiedenen Hirnregionen der Nachkommen. Darüber hinaus werden die langfristigen Auswirkungen der psychosozialen Stressbelastung auf die Immunkompetenz der Ferkel mittels einer einmaligen LPS-Injektion überprüft.

3 Material und Methoden

3.1 Versuchstiere und Haltungsbedingungen

Alle in dieser Arbeit durchgeführten Tierversuche wurden in strikter Übereinstimmung mit dem deutschen Tierschutzgesetz durchgeführt und von den zuständigen Behörden genehmigt (Landesamt für Landwirtschaft, Lebensmittelsicherheit und Fischerei, Mecklenburg-Vorpommern, Germany; LALLF M-V/TSD/7221.3-1.1-003/18).

Insgesamt wurden 200 Ferkel von 20 Sauen der deutschen Landrasse (*Sus scrofa*) in der institutseigenen Zucht der „Experimentalanlage Schwein" des Leibniz-Instituts für Nutztierbiologie (FBN Dummerstorf) geboren und aufgezogen. Unmittelbar nach Geburt wurde die Wurfgröße auf 10 Ferkel pro Sau standardisiert. Die Abferkelung und Aufzucht der Tiere erfolgte in Scan-Abferkelbuchten (6 m^2) mit Ferkelschutzkörben und einem konstant beheizten Liegebereich (28 ± 1 °C) für die Ferkel und uneingeschränktem Zugang zu Futter und Wasser. Das Lichtregime war auf 12/12 Stunden Licht/Dunkel mit Licht an um 6:00 Uhr eingestellt. Die Untersuchung der Tiere erfolgte in 10 Durchgängen, wobei jeweils 2 Würfe via Zufall einer Kontroll- oder einer Deprivationsgruppe zugeordnet wurden. Das Absetzen der Ferkel erfolgte nach 28 Tagen durch Umsetzen des Deprivations- und Kontrollwurfes in eine gemeinsame Absetzbucht mit kontrollierten Licht- und Temperaturbedingungen und einem kommerziellen Futtermittel aus einem Futterautomaten. Futter und Wasser stand den Tieren *ad libitum* zur Verfügung.

3.2 Experimentelles Design

3.2.1 Versuchsaufbau

Wie in Abbildung 2 ersichtlich, wurden die 10 Ferkel des Behandlungswurfes zufällig und unter Wahrung eines annähernd gleichen Geschlechterverhältnisses in 2 Gruppen der sozialen Deprivation aufgeteilt: (1) Deprivation von Muttersau und Wurfgeschwistern, d.h. eine totale soziale Isolation (5 Ferkel jeweils allein, DA); und (2) Deprivation von Muttersau und einem Teil des Wurfes (5 Ferkel als Gruppe von bekannten Wurfgeschwistern, DG). Die Kontrolltiere (K) verblieben während der gesamten Deprivationsperiode bei der Muttersau.

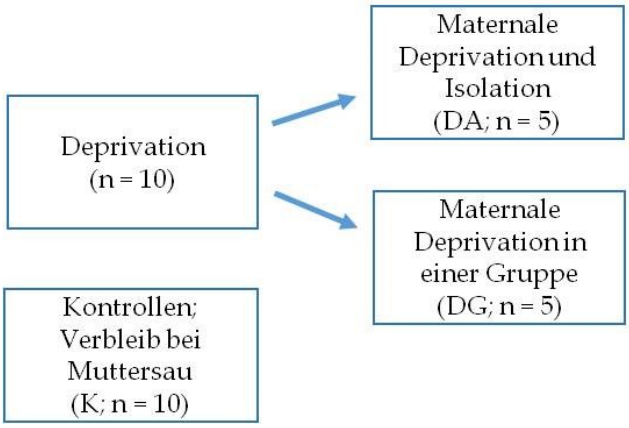


Abbildung 2: Verteilung und Anzahl der Ferkel in den Gruppen eines jeden Durchgangs

Die soziale Deprivationsbehandlung erfolgte an den Lebenstagen 2–15, immer morgens (07:00-09:00 Uhr) für 2 h in getrennten Versuchsräumen innerhalb derselben Versuchsstation. Hierfür wurden die Ferkel in speziell dafür vorgesehene undurchsichtige Boxen mit ausreichender Luftzufuhr und Sägespänen auf dem Boden umgesetzt; entweder allein (Boxenmaße: 60 x 40 x 32 cm) oder zusammen als Gruppe mit anderen Wurfgeschwistern (Boxenmaße: 159 x 68 x 56 cm). Die Kontrolltiere verblieben während dieser Zeit bei der Muttersau. Wie in Abbildung 3 dargestellt, wurden während des Zeitraumes der Deprivationsbehandlung der Ferkel Milch-, und Speichelproben von den Muttersauen entnommen (Laktationstag 2: vor und nach Deprivation; Laktationstag 9 und 15: nach Deprivation) sowie Verhaltensbeobachtungen zur Saugordnung und Mütterlichkeit durchgeführt (Laktationstag 2, 5, 7, 9, 12, 14, 19). An den Lebenstagen 5 und 16 wurden außerdem von allen Ferkeln Blutproben entnommen. Im Fall einer nachfolgenden Behandlung erfolgte die Blutentnahme mindestens 30 min vor dieser, sodass eine ausreichende Erholungsphase für die Ferkel gewährleistet werden konnte.

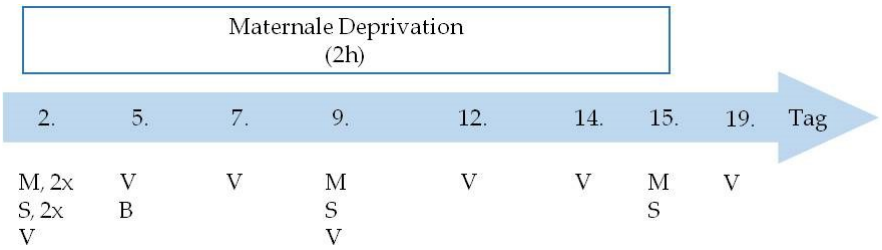


Abbildung 3: Zeitpunkte der Probenentnahme und Verhaltensbeobachtungen während der Deprivationsperiode; M = Milchproben von den Sauen; S = Speichelproben von den Sauen; V = Verhaltensbeobachtungen (Mütterlichkeit und Saugordnung); B = Blutproben von Ferkeln.

Kurz- und langfristige Auswirkungen der Deprivation auf das Verhalten der Ferkel wurden mittels „Open Field / Novel Object-Test“ (OF/NO-Test) am Tag 16 und 42 analysiert (siehe Abbildung 4). Zusätzlich wurden am 20. Lebenstag 2 Ferkel pro Gruppe (Da, DG, K) zur Entnahme von Gewebeproben getötet (Abbildung 4). Am 42. Lebenstag wurde das Immunsystem der Ferkel mittels einer einmaligen Applikation von LPS stimuliert und 24 h später Gewebeproben zur Untersuchung langfristiger Effekte der Deprivationsbehandlung entnommen (siehe Punkt 3.2.4).

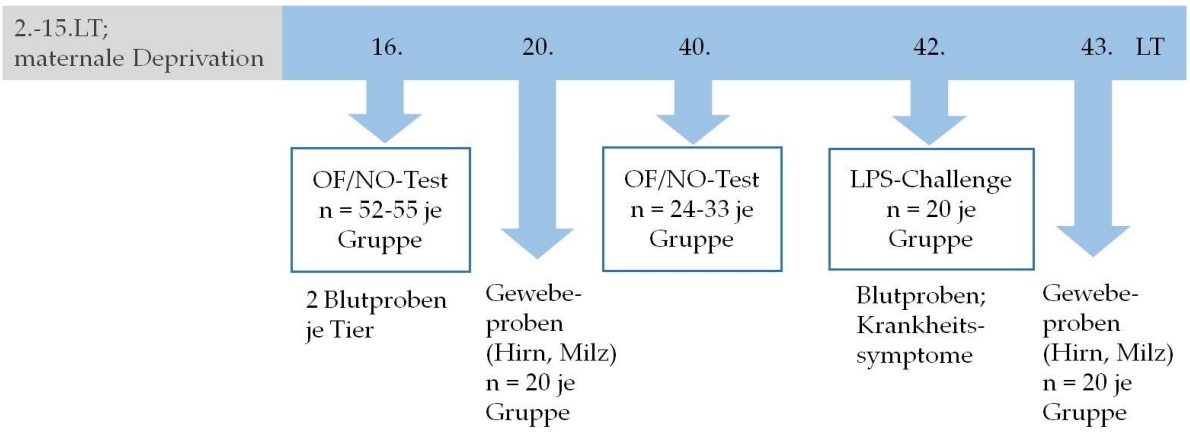


Abbildung 4: Zeitpunkte der Versuche, Proben und Gewebeentnahmen im Überblick. LT = Lebenstag

3.2.2 Verhaltensbeobachtungen bei Sau und Ferkel

Die Saugordnung und Mütterlichkeit wurde durch eine kontinuierliche Direktbeobachtung der Ferkel und Sauen über drei Saugakte ermittelt. Der Start der Beobachtung erfolgte nach der Rückkehr aller Ferkel aus der Deprivation (~ 10Uhr) zeitgleich für die Kontroll- und die Deprivationstiere. Eine Übersicht aller aufgenommenen Parameter zur Untersuchung der Mütterlichkeit sowie deren Definitionen sind in Tabelle 1 aufgeführt.

Für jeden Saugakt wurde die Zitzenposition eines jeden Ferkels notiert, um eine Aussage über die Zitzenpräferenz treffen zu können. Dabei gibt die Zitzenpräferenz die relative Häufigkeit (%) an, mit der die Ferkel das gleiche Zitzenpaar bzw. die gleiche Zitze für den Saugakt aufsuchen. Da die Ferkel vorab, das heißt während der Massage der Zitzen zur Stimulation des Milchflusses häufig ihre Positionen wechseln, wurde nur die Position notiert, die die Ferkel unmittelbar während des Milchflusses einnahmen.

Zudem wurde der Wechselhäufigkeitskoeffizient (WHK) sowohl der Einzelzitze als auch des Zitzenpaares bestimmt. Dieser ist ein Maß für die Stabilität, mit der ein Ferkel das gleiche Zitzenpaar bzw. die gleiche Zitze während eines Saugaktes ansteuert und wurde nach Puppe et al. (1993), berechnet:

$$WHK = \frac{absolute\ Anzahl\ der\ Zitzenwechsel}{Anzahl\ möglicher\ Zitzenwechsel - 1}$$

0 = nie gewechselt, 1 = immer gewechselt (1993).

Tabelle 1: Aufgenommene Parameter zur Untersuchung der Mütterlichkeit und deren Definition

Verhalten	**Definition**
Grunzen	Sau leitet mittels Lockrufen das Säugen ein
Ruf Ferkel	Ferkel leiten durch Aufforderungsrufe das Säugen ein
Vorabliegen	Sau zeigte Vorabliegeverhalten: Scharren mit einem Vorderbein, Schnüffeln auf dem Boden, Ferkel zählen/sortieren, Nestbauverhalten (Wühlen im Stroh; Material suchen)
Abliegen	Sau zeigt ein kontrolliertes und langsames Abknicken der Vorder- und Hinterbeine; Drehung auf die Seite erfolgt ebenfalls kontrolliert und langsam
Ferkelkontakt	Sau reagiert auf Ferkel in Kopfnähe durch Kontakt und Schnüffeln
Reaktion Sau auf Mensch	Sau reagiert sehr nervös oder aggressiv auf Menschen in der Nähe
Schreie	Sau zeigt unruhiges Verhalten bei Ferkelschreien und sucht diese
Säugen nach Deprivation	Erster Saugakt erfolgt binnen 10 min nach dem Zurücksetzen der Ferkel aus der Deprivation
Intervall Saugakt	Zeitlicher Abstand zwischen den einzelnen Saugakten

3.2.3 „Open-Field"/„Novel-Object"-Test

Zur Untersuchung des Einflusses von frühpostnatalem, psychosozialem Stress auf die Verhaltensreaktivität der Ferkel diente ein kombinierter „Open Field"/„Novel Object"-Test. Die Tests fanden in einem separaten, schallgedämpften Raum mit quadratischer Testarena (2,80 x 2,80 x 1,25 m) und an zwei verschiedenen Lebenstagen (Tag 16, 40) statt. Die Verhaltensweisen der Ferkel wurden während der 10-minütigen Testdauer im *focal sampling*-Verfahren mit der Observer XT 13 Software (Noldus Information Technology) aufgezeichnet. Die ersten 5 Minuten entsprachen dabei der „Open-Field"-Situation. Unmittelbar im Anschluss wurde ein fremdes Objekt (16. LT: Plastikschuh; 40. LT: 1,5 kg-Medizinball) von der Decke herabgelassen und verblieb ca. 10 cm über dem Boden schwebend bis zum Ende der 10-minütigen Testphase in der Arena („Novel-Object"-Situation). Die Testarena wurde nach jeder Observation gesäubert. Die in Tabelle 2 aufgeführten Verhaltensweisen wurden in Form von Dauer, Häufigkeit und Latenz erfasst und ausgewertet (Puppe et al. 2007). Zusätzlich

wurde von allen Ferkeln unmittelbar vor und nach dem OF/NO-Test je eine Blutprobe zur Bestimmung der Konzentration von Cortisol und Immunglobulin A (IgA) entnommen.

Tabelle 2: Erfasste Verhaltensweisen im Open-Field/Novel-Object-Test und deren Definition

Observiertes Verhalten	**Definition**
Stehen	Keine aktive Fortbewegung, Stehen auf mindestens drei Gliedmaßen
Liegen	Boden wird mit allen vier Gliedmaßen und dem Bauch berührt
Lokomotion	Aktive Fortbewegung mit mindestens 2 Schritten
Flucht	Aktiver Versuch die Arena durch Hochspringen an der Wand zu verlassen
Koten	Abgabe von Kot
Harnen	Abgabe von Harn
Objektkontakt	Aktive Berührung oder Manipulation des *Novel-Object* mit der Schnauze
Vokalisation	Aktive Lautäußerungen (Grunzen, Schreien)

3.2.4 LPS-Challenge

Am Lebenstag 43 wurde das Immunsystem von 2 Ferkeln je Behandlungsgruppe (je ein männliches und weibliches) durch die einmalige i.p. Applikation einer Dosis von 50 µg/kg Lebendmasse (LM) LPS (*Escherichia coli* O111:B4; 200 µg LPS/mg; Sigma-Aldrich, Deisenhofen, Deutschland) stimuliert.

Nach erfolgter LPS-Applikation wurden die Ferkel über 6 h im 5 min Intervall (*Scan sampling*) auf das Vorhandensein von Krankheitssymptomen (Tabelle 3) beobachtet. Alle Verhaltensbeobachtungen wurden von einer Person durchgeführt, welche keinen Kenntnisstand über die jeweilige Gruppenzugehörigkeit der Ferkel besaß. Vor der LPS-Applikation sowie 1, 2, 3, 6 und 24 h danach wurden die Rektaltemperaturen der Ferkel mit einem handelsüblichen Digitalthermometer (PRT 2000 Age Precision; Messfehler ± 0,1°C; Braun GmbH, Kronberg, Deutschland) gemessen und Blutproben genommen.

Tabelle 3: Beobachtete Krankheitssymptome und deren Definition

Krankheitssymptom	**Definition**
Somnolenz	Ferkel haben geschlossene Augen, liegen separiert und sind schläfrig
Dyspnoe	Erschwerte Atmung; keuchende Geräusche
Kreislaufprobleme	Rubor des ganzen Körpers, Zyanose von Nase und Ohren, Gleichgewichtsstörungen im Gang oder in der Haltung
Zittern	Ferkel zeigen schnelle, synchrone Muskelkontraktionen; häufig begleitet von Piloerektion
Speichelfluss	Speichelausfluss aus der Schnauze
Leerkauen	Kieferbewegung ohne Nahrung
Erbrechen	Würgen und Ausstoßen des Mageninhalts
Diarrhö	halbflüssiger oder wässriger Kot
Aktivität	Lokomotion, Exploration, Wasser-, Futteraufnahme
Inaktivität	Liegen mit oder ohne Sozialkontakt, Sitzen, Stehen

3.3 Probenentnahme

3.3.1 Speichel- und Milchproben von der Sau

Zur Entnahme der Speichelproben wurden je zwei große Wattestäbchen (Länge: 20 cm; ⌀ Wattekopf: ca. 10x30 mm) verwendet, auf welchen die Sauen bis zur vollständigen Durchnässung des Wattekopfes (~ 3–5 min) kauen durften. Anschließend wurden beide Watteköpfe bei 2500 × g und 4°C für 5 min zentrifugiert und der klare Überstand bis zur weiteren Analyse bei −20°C gelagert.

Die Entnahme der Milchproben erfolgte während eines Saugaktes durch Handmelken der Zitzen. Die gewonnenen Milchproben wurden unmittelbar auf Eis gelagert. Für die anschließende Zentrifugation wurde jede Milchprobe in Eppendorf-Röhrchen (2 ml) abgefüllt. Die Zentrifugation erfolgte im ersten Schritt für 1 h bei 40.000 × g und 4°C (vorgekühlt). Die obere, fetthaltige Phase wurde vorsichtig entfernt und verworfen und der Überstand in ein neues Eppendorf-Röhrchen überführt. Im zweiten Schritt wurde dieser Überstand für weitere 30 min bei 20.000 × g und 4°C zentrifugiert, der Überstand erneut in ein neues Eppendorf-Röhrchen überführt und bis zur weiteren Analyse bei −80°C gelagert.

3.3.2 Blutentnahme bei den Ferkeln

Die Blutentnahmen erfolgten durch Fixierung der Ferkel in Rückenlage und Punktion der Vena cava cranialis, wobei jede Entnahme ca. 1 min dauerte. Für die Extraktion des Plasmas wurde das Blut in eisgekühlte EDTA-Probenröhrchen überführt, für 10 min bei 2000 × g und 4°C zentrifugiert und bis zur späteren Analyse bei −20°C gelagert.

3.3.3 Gewebeproben von Ferkeln

Für die Gewebeentnahmen (Gehirn, Milz) wurden die Tiere in Rückenlage fixiert, mittels i.v. Injektion von Ursotamin® (100 mg/ml Ketaminhydrochlorid, Serumwerk Bernburg AG, Bernburg, Deutschland) und Stresnil® (40 mg/ml Azaperon, Elanco, Homburg, Deutschland) in die Vena cava cranialis narkotisiert und durch die anschließende Injektion von T61® (Embutramid/Mebezoniumiodid/Tetracainhydrochlorid, Intervet, Unterschleißheim, Deutschland) getötet. Die Gewebeentnahme erfolgte unmittelbar danach, wobei die Milz bis zum Anlegen einer Primärkultur in 0,8 %-iger NaCl-Lösung (Fresenius Kabi Deutschland GmbH) überführt wurde. Die Entnahme der Hirnregionen Präfrontalen Cortex (PFC), Hippocampus, Hypothalamus und Amygdala beider Hemisphären erfolgte nach dem stereotaktischen Atlas des Schweinehirns von Félix et al. (1999). Die Hirngewebe wurden sofort in flüssigem Stickstoff gefroren und bis zur späteren mRNA-Analyse bei − 80°C gelagert. Alle Gewebeentnahmen erfolgten zwischen 8 und 11 Uhr.

3.4 Laboranalytische Methoden

3.4.1 Cortisol-Konzentrationen in Milch, Speichel und Plasma

Die Bestimmung der Cortisol-Konzentrationen in Milch und Plasma erfolgte in Doppelbestimmung mittels eines kommerziellen ELISA (Enzyme-Linked-Immunosorbent-Assay) und entsprechend den Herstellerangaben (DRG Instruments, Marburg, Deutschland). Die Sensitivität des Assays betrug 3,4 ng/ml und die Intra- und Inter-Assay-Variationen 6,2 %

bzw. 9,4 %. Die Kreuzreaktivität der Antikörper wurde mit 45 % für Corticosteron, 9 % für Progesteron und < 2 % für andere Steroide angegeben. Der Assay wurde für die Analyse von Cortisol beim Schwein validiert (Kanitz et al. 2019).

Die Analyse der Cortisol-Konzentrationen im Speichel erfolgte mit Hilfe eines kommerziellen ELISA-Kits (Demeditec Diagnostics, Kiel, Deutschland) entsprechend den Herstellerangaben und in Doppelbestimmung. Die Sensitivität betrug 0,08 ng/ml und die Intra- und Inter-Assay-Variationen 3,4 % bzw. 6,6 %. Die Kreuzreaktivität der Antikörper gegen andere im Speichel enthaltene Steroide wurde mit 63,4 % für Prednisolon, 10,4 % für 11-Deoxycortisol und 5,2 % für Corticosteron angegeben. Für alle anderen Steroide wurde die Kreuzreaktivität mit < 0,4 % angegeben.

3.4.2 IgA-Konzentrationen im Speichel und Blutplasma

Die IgA-Konzentrationen im Speichel und Blutplasma wurden mit Hilfe eines ELISA-Kits (Bethyl Laboratories Inc., Montgomery, TX, USA) im Doppelansatz und entsprechend den Herstellerangaben bestimmt. Die Intra- und Inter-Assay-Variationen betrugen < 5 % bzw. < 10 %.

3.4.3 Oxytocin-Konzentrationen in der Milch

Für die Analyse der Oxytocin-Konzentrationen wurde das Milch-Serum 1:10 mit „Assay Buffer“ (im Kit enthalten) verdünnt und im Doppelansatz mittels ELISA-Kits (Arbor Michigan, Michigan, USA), entsprechend den Herstellerangaben bestimmt. Die Sensitivität des Assays lag bei 14,8 pg/ml und die Intra- und Inter-Assay-Variationen betrugen 6 % bzw. 7,3 %.

3.4.4 Cytokine im Plasma

Die Bestimmung der Plasma-Konzentrationen für TNF-α, IL-10 und IL-6 erfolgte im Doppelansatz mittels kommerzieller, schweinespezifischer ELISA-Kits (R&D Systems, Minneapolis, USA) entsprechend den Herstellerangaben. Die Sensitivitäten der TNF-α und

IL-10-Bestimmungen lagen bei 3 pg/ml. Die Intra- und Inter-Assay-Variationen des TNF-α Assays lagen bei 6,2 % bzw. 8,2 % und die des IL-10-Assays bei 6,3 % bzw. 9,4 %. Die Sensitivität des IL-6-Assays betrug 3,8 pg/ml, die Intra- und Inter-Assay-Variationen betrugen 4,0 % bzw. 5,9 %.

3.4.5 Bestimmung des Neutrophilen/Lymphozyten-Verhältnisses

Die Bestimmung des Neutrophilen/Lymphozyten-Verhältnisses erfolgte mittels eines Differentialblutbildes. Hierfür wurde ein Blutstropfen auf einem Objektträger aufgetragen, mit dem Rand eines Deckgläschens im 45°-Winkel ausgestrichen und für 2 h luftgetrocknet. Anschließend wurden die Zellen nach Pappenheim gefärbt, wobei die Zellen 2 min mit unverdünnter May-Grünwald-Lösung und 30 min mit Giemsa-Lösung (1:20 verdünnt) inkubiert wurden. Das Auszählen und die Typbestimmung der Zellen erfolgte mittels Lichtmikroskopie.

3.4.6 Isolation und Charakterisierung von Milz-Lymphozyten

3.4.6.1 Aufarbeitung der Milzproben

Zur Isolierung der mononukleären Zellen wurden die entnommenen Milzstückchen mit je 6 ml PBS-Lösung in gentleMACS-Tubes (Miltenyi Biotec, Bergisch-Gladbach, Deutschland) überführt und mit Hilfe des gentleMACS-Dissociators (Miltenyi Biotec, Bergisch-Gladbach, Deutschland) aufgeschlossen. Anschließend wurde die gewonnene Zell-Suspension über einem Zellsieb (70 µm) mit 18 ml PBS (Phosphate-buffered Saline, Sigma Aldrich, Deutschland) gespült, die mononukleären Zellen mittels Dichtegradientenzentrifugation abgetrennt und die Erythrozyten lysiert (H_2O-Schock). Die Zell-Suspension wurde ein weiteres Mal mittels Zellsieb (50 µm) filtriert, die Zellen mittels Counter (Multisizer™ 3 Coulter Counter, Beckmann Coulter, Krefeld, Deutschland) gezählt und die Zellzahl auf $2*10^6$ Zellen/ml eingestellt. Die gewonnenen Zellen wurden zur weiteren Charakterisierung in 3 Glasröhrchen überführt: 1) in 1 ml PBS für die Violett-Färbung, 2) in 1 ml Färbepuffer für die Antikörper-Färbung und 3) in 1 ml Kulturmedium für den MTT-Test. Die Zusammensetzung der Puffer und Medien ist in Tabelle 4 aufgelistet.

Tabelle 4: Puffer und Kulturmedien

Puffer/Medium	**Firma**
Kulturmedium:	
- RPMI-1640 Medium	Sigma-Aldrich
- 10 % Fetales Kälberserum (FKS)	Sigma-Aldrich
- 0,05 mM 2-Mercaptoethanol	Sigma-Aldrich
- 2 mM Glutamin	Sigma-Aldrich
- 50 µg/ml Gentamycin	Sigma-Aldrich
Separationsmedium:	
- RPMI-1640 Medium	Sigma-Aldrich
- 50 µg/ml Gentamycin	Sigma-Aldrich
Färbepuffer:	
- 500 ml PBS	Sigma-Aldrich
- 5 g Bovines Serumalbumin (BSA)	Sigma-Aldrich
- 292,2 mg Ethylendiamintetraacetat (EDTA)	Sigma-Aldrich

3.4.6.2 Durchflusszytometrische Zelltypcharakterisierung von mononukleären Zellen der Milz

Die Charakterisierung der mononukleären Milzzellen erfolgte mittels Antikörperfärbung, wobei zur Untersuchung unspezifischer Antikörperbindungen Isotypkontrollen mitgeführt wurden. Eine Übersicht der verwendeten Antikörper und Isotypkontrollen (alle von Bio-Rad, München, Deutschland) befindet sich in Tabelle 5.

Tabelle 5: Verwendete Antikörper und Isotypkontrollen zur Typencharakterisierung von Milzzellen

Antikörper	**Klon**	**Firma**	**Isotypkontrolle**	**Spezifität**	**Firma**
$CD3^+$-FITC	PPT3	Bio-Rad	IgG1-FITC	MOUSE IgG1 NEGATIVE CONTROL	Bio-Rad
$CD4^+$-FITC	MIL17	Bio-Rad	IgG2b-FITC	MOUSE IgG2b NEGATIVE CONTROL	Bio-Rad
$CD8^+$-PE	MIL12	Bio-Rad	IgG2a-PE	MOUSE IgG2a NEGATIVE CONTROL	Bio-Rad
$CD14^+$-PE	TÜK4	Bio-Rad	IgG2a-PE	MOUSE IgG2a NEGATIVE CONTROL	Bio-Rad
$CD21^+$-FITC	CC51	Bio-Rad	IgG2b-FITC	MOUSE IgG2b NEGATIVE CONTROL	Bio-Rad

Zur Charakterisierung der Milzzellen wurden jeweils 100 µl Zellsuspension mit je 50 µl Antikörper-Cocktail (Tabelle 6) gemischt, für 30 min bei 4°C im Dunkeln inkubiert und anschließend jeweils 900 µl Färbepuffer hinzugefügt. Die Ansätze wurden für 8 min bei 4°C und 120 × g zentrifugiert, 2x mit je 1 ml Färbepuffer gewaschen und anschließend wieder in 500 µl Färbepuffer aufgenommen. Nach jedem Waschschritt wurde die Zell-Suspension für 8 min bei 4°C und 120 × g zentrifugiert. Die Messung des Anteils (%) der verschiedenen Zelltypen erfolgte mittels Durchflusszytometrie (Gerät: Gallios™ Flow Cytometer; Sofware: Kaluza Flow Cytometrie Analysis software; Beckman Coulter GmbH, Krefeld, Deutschland), wobei das „*Gating*" der Leukozyten nach Größe (*forward scatter*) und Granularität (*side scatter*) erfolgte.

Tabelle 6: Verwendete Antikörper-Cocktails

Ansatz	**Antikörper**	**Verdünnung**
1	$CD3^+$-FITC	5 µl + 45 µl Färbepuffer
2	$CD4^+$-FITC / $CD8^+$-PE	5 µl + 5 µl + 40 µl Färbepuffer
3	$CD14^+$-PE / $CD21^+$-FITC	5 µl + 5 µl + 40 µl Färbepuffer
4	IgG1-FITC / IgG2a-APC	5 µl + 5 µl + 40 µl Färbepuffer
5	IgG2b-FITC / IgG2a-PE	5 µl + 5 µl + 40 µl Färbepuffer
6	IgG2a-PE / IgG2b-FITC	5 µl + 5 µl + 40 µl Färbepuffer

3.4.6.3 *Proliferationsvermögen von Milz-Lymphozyten mittels MTT-Test*

Der MTT-Test ist ein kolorimetrischer Test zur Bestimmung der metabolischen Aktivität von Zellen. Dabei wird der Farbstoff *3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid* (MTT) durch zelleigene Enzyme in das violette Formazan reduziert, wobei von Zellen mit einer hohen metabolischen Aktivität (bspw. durch eine erhöhte Proliferation) mehr MTT reduziert wird als von Zellen mit geringerer metabolischer Aktivität.

Für den MTT-Test (Sigma-Aldrich, Deutschland) wurden von jeder Probe 100 µl Zellsuspension (+100 µl Medium) als unstimulierte Kontrolle, sowie jeweils 100 µl Zellsuspension und 100 µl des B-Zell-Mitogens LPS (12,5 µg/ml) oder T-Zell-Mitogens Concavalanin A (ConA; 25 µg/ml) in je ein *Well* einer Zellkulturplatte pipettiert. Nach 72 h Inkubation bei 37°C und 5 % CO_2 wurde diese für 10 min bei Raumtemperatur und 220 × g zentrifugiert und jeweils 100 µl Überstand aus jedem „Well" abgenommen. Anschließend wurden 10 µl MTT (5 mg/ml in PBS) in jedes „Well" pipettiert. Nach einer Inkubationszeit von 4 h bei 37°C und 5 % CO_2 wurden jedem Ansatz 100 µl einer vorgewärmten (37°C) SDS-Lösung (Sodium dodecyl sulfate, Sigma-Aldrich, Deutschland) zugefügt und die Platten über Nacht ein weiteres Mal bei 37°C und 5 % CO_2 inkubiert. Die Messung der metabolischen Aktivität der Zellen erfolgte durch Bestimmung der optischen Dichte (550 nm; Referenz 690 nm) mit Hilfe eines *Micro Plate Readers* (Spectrostar nano, BMG Labtech, Ortenberg, Deutschland). Die Ergebnisse wurden angegeben als Proliferationsindex (PI), welcher sich nach folgender Formel berechnen lässt:

$$PI = \frac{OD\ (550/690\ \text{nm})\ stimulierter\ Zellen}{OD\ (550/690\ \text{nm})\ unstimulierter\ Zellen}$$

Dabei wurde erst von einer Proliferation der Milzzellen ausgegangen, wenn der PI einen Wert von ≥ 1,4 erreichte.

3.4.7 Genexpressionsanalyse

3.4.7.1 *RNA-Isolation und cDNA Synthese*

Die RNA-Isolation aus den Gewebeproben wurde mit dem *RNeasy Lipid Tissue Kit* (Quiagen, Hilden, Deutschland), entsprechend dem Herstellerprotokoll durchgeführt. Die gewonnenen RNA-Konzentrationen wurden bei 260 nm mittels NanoPhotometer™ (Implen, München,

Deutschland) und die Reinheit und Integrität durch Berechnung des 260/280 nm Verhältnisses bestimmt. Darüber hinaus wurde die Qualität der RNA stichprobenartig mit dem *Experion™ Automated Electrophoresis System* (BIO-RAD, München, Deutschland) entsprechend dem Protokoll des Herstellers überprüft. Für die Genexpressionsanalyse wurde durch Reverse Transkription (RT) je 750 ng RNA pro Ansatz und Probe mit dem *iScript™ cDNA-Synthesis Kit* (Bio-Rad, München, Deutschland) in cDNA umgeschrieben. Die Anwendung fand entsprechend den Richtlinien des Herstellers statt.

3.4.7.2 Real-time quantitative PCR (qPCR)

Die Genexpressionsanalyse wurde mittels qPCR (iCycler, Bio-Rad, München, Deutschland) für folgende Gene durchgeführt: NR3C2 (*mineralocorticoid receptor*; MR), NR3C1 (*glucocorticoid receptor*; GR), CRHR1 (*corticotropin releasing hormone receptor 1*), CRHR2 (*corticotropin releasing hormone receptor 2*), AVPR1A (*arginine vasopressin receptor 1A*), OXTR (*oxytocin receptor*), TNFA (*tumour necrosis factor-alpha*), IL6 (*interleukin 6*), IL10 (*interleukin 10*) und BDNF (*brain-derived neurotrophic factor*).

Für die qPCR wurde jeweils 1 µl cDNA-Lösung (25 ng DNA) zu 6 µl *iQ SYBR Green Supermix* (Bio-Rad, München, Deutschland) zugefügt, sowie 4 µl Primermix mit genspezifischer Oligonukleotidsequenz (TIB Molbiol, Berlin, Deutschland). Alle Reaktionen wurden im Dreifachansatz bestimmt. Die Primer wurden entsprechend der Gensequenzen der NCBI-Datenbank designt. Folgende Parameter wurden für das Primerdesign berücksichtigt: (1) nach Möglichkeit exonübergreifend, (2) Sequenzlängen zwischen 18-27 bp, (3) Hybridisierungstemperatur zwischen 57-65°C und (4) Differenz der Hybridisierungstemperatur eines Primerpaares < 2°C. In Tabelle 7 sind die Oligonukleotidsequenzen aller Primer aufgeführt.

Tabelle 7: Primersequenzen, Amplikongrößen und Referenznummern der Genbanken

Gen	GenBank Akzessionsnummer	Sense-, Antisense-Primer (5'-3')	Amplikon (bp)
MR	ENSSSCG00000037766	AGTGTTCTTCAAAAGAGCAGTGG, CCTCGTGGATCCCTTTCAAC	188
GR	NM_001008481.1	GTTCCAGAGAACCCCAAGAGTTCA, TCAAAGGTGCTTTGGTCTGTGGTA	173
CRHR1	NM_001144110.1	CTCATCTCAGCCTTCATCCTG, CGAACATCCAGAAGAAGTTGG	151
CRHR2	NM_001144118.1	CAGGGTTTCTTCGTGTCTGTC, GTCTGCTTGATGCTGTGGAAG	173
AVPR1A	ENSSSCG00000033383.2	GACCTTCGTGATCGTAACAGC, TCAAGGAAGCCAATAATGCAG	143
OXTR	NM_214027.1	GCCTTCATCGTATGCTGGAC, TCTTCAGGTGGCTGGAAGAG	214
TNF-α	NM_214022.1	TCCTCACTCACACCATCAGC, TAGTCGGGCAGGTTGATCTC	199
IL-6	NM_214399.1	TGCTTCTGGTGATGGCTACTG, TTCTGCCAGTACCTCCTTGC	209
IL-10	NM_214041	AGCCAGCATTAAGTCTGAGAAC, CCTCTCTTGGAGCTTGCTAA	394
BDNF	NM_214259.2	GACGAGGACCAGAAAGTTCG, CCTCATGGACATGTTTGCAG	162
ACTB*	ENSSSCT00000042531	TCTGGCACCACACCTTCT, TGATCTGGGTCATCTTCTCAC	114
TBP*	NM_003194.5	AACAGTTCAGTAGTTATGAGCCAGA, AGATGTTCTCAAACGCTTCG	153

MR (*mineralocorticoid receptor*; *NR3C2*), GR (*glucocorticoid receptor*; *NR3C1*), CRHR1/CRHR2 (*corticotropin releasing hormone receptor 1/2*), AVPR1A (*arginine vasopressin receptor 1A*), OXTR (*oxytocin receptor*), TNF-α (*tumour necrosis factor-alpha*; *TNFA*), IL-6 (*interleukin-6*; *IL6*), IL-10 (*interleukin-10*; *IL10*), BDNF (*brain-derived neurotrophic factor*), ACTB (*actin beta*), TBP (*TATA-box binding protein*); * Referenzgene

Das PCR-Programm bestand aus einem Heißstart (3 min, 94°C; 30 s, 60°C; 45 s, 70°C), gefolgt von 39 Amplifikationszyklen (10 s, 94°C; 30 s, 60°C; 45 s, 70°C mit 5 s Zeitverlängerung pro Zyklus) und einem Endzyklus (10 s, 94°C; 30 s, 60°C; 7 min, 70°C, 1 min, 94°C). Die Spezifität der Produkte wurde mittels Schmelzpunktanalyse (60°C bis 90°C, 1°C pro 10 s) und Agarose-Gelelektrophorese (3,5 %) ausgewertet. Die Oligonukleotidstruktur wurde in einer Teilmenge der Experimente durch Sequenzierung verifiziert. Die mRNA-Expressionen der untersuchten Gene wurden auf die Housekeeping-Gene ACTB und TBP normalisiert und die relative Genexpression mit Hilfe des Quantifizierungsmoduls der CFX Manager Software™ Version 2.1 (Bio-Rad, München, Deutschland) berechnet.

3.4.8 Statistik

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mit der SAS/STAT-Software, Version 9.4 des SAS System für Windows (Copyright © 2002-2012, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). Mittels einer multifaktoriellen Varianzanalyse (ANOVA) wurden normalverteilte Daten (Saugordnung, Saugintervall, Milch- und Speichelproben der Sau) mit der SAS-Prozedur MIXED analysiert. Die festen Faktoren im Modell beinhalteten Durchgang, Behandlung (Deprivations- und Kontrollwurf bzw. DA, DG und K bei der Saugordnung), Zeit (der Probenentnahme) sowie die Interaktion „Behandlung × Zeit". Wiederholte Messungen am gleichen Tier wurden durch Verwendung des „repeated" Statements der Prozedur MIXED berücksichtigt und die Blockdiagonalstruktur der Restkovarianzmatrix entsprechend berücksichtigt. Bei der Analyse der Saugordnung beinhaltete das Varianzanalysemodell zusätzlich den zufälligen Faktor Sau sowie die Interaktion „Behandlung × Geschlecht".
Nicht normalverteilte Daten wurden mit der SAS-Prozedur GLIMMIX analysiert. Dabei enthielt das Varianzanalysemodell zur Analyse der Hirn- und Milzproben die festen Faktoren, Durchgang (1-10), Behandlung (DA, DG, K) und Geschlecht (männlich, weiblich) sowie die Interaktion „Behandlung × Geschlecht". Das Varianzanalysemodell für die Blutproben, die Krankheitssymptome und die „Open Field"/„Novel Object" Daten (Dauer) enthielt zusätzlich den festen Parameter Zeitpunkt (der Probenentnahme) sowie die Interaktionen „Behandlung × Zeit" und „Behandlung × Zeit × Geschlecht". Die Sau wurde als zufälliger Faktor im Modell, und Messwiederholungen am gleichen Tier mit der Option „residual" im Statement der Prozedur GLIMMIX berücksichtigt und somit die Blockdiagonalstruktur der Restkovarianzmatrix berechnet.

Für die Analyse der Daten zur Mütterlichkeit und der „Open Field"/„Novel Object"-Daten (Häufigkeit) wurde zur Bestimmung der diskreten Merkmale das Poisson-Modell verwendet. Feste Faktoren und Interaktionen entsprachen dabei dem obigen Modell.
Die Ergebnisse wurden als *Least Squares Means* (LSM) und deren Standardfehler (SE) für alle festen Effekte der oben genannten Modelle dargestellt. Der Vergleich der multiplen Mittelwerte erfolgte mit dem Tukey-Kramer-Test, wobei das Signifikanzniveau α mit 0,05 gewählt wurde (Testergebnisse mit $p \leq \alpha$ sind signifikant).

4 Ergebnisse

4.1 Effekte der Deprivationsprozedur auf die Mutter-Kind-Interaktion sowie endokrinologische und immunologische Parameter bei der Sau

4.1.1 Mutter-Kind-Interaktion

Die Deprivationsprozedur hatte einen signifikanten Effekt auf die Rufe der Ferkel ($F_{1;9} = 5{,}5$; $p < 0{,}05$), wobei der Saugakt in den Deprivationswürfen signifikant häufiger durch die Rufe der Ferkel eingeleitet worden war (Tabelle 8). Es konnten keine weiteren signifikanten Effekte für die untersuchten Verhaltensweisen nachgewiesen werden (Tabelle 8). Da nicht für alle der in Tabelle 1 gelisteten Parameter ausreichende Beobachtungen für eine statistische Auswertung vorlagen, beinhaltet Tabelle 8 nur jene Parameter, für die eine solche möglich war.

Tabelle 8: Relative Häufigkeiten (%) des Auftretens von Verhaltensweisen während der ersten drei Saugakte nach Beendigung der Deprivationsprozedur

	Behandlungsgruppe		***p*-Werte (F-Test)**
Verhaltensweisen	**Deprivation**	**Kontrolle**	**Behandlung**
Abliegen	96,00 ± 22,44	94,48 ± 30,5	0,557
Ferkelkontakt	26,54 ± 3,86	31,33 ± 4,22	0,403
Grunzen	44,65 ± 4,84	58,12 ± 5,22	0,083
Rufe der Ferkel	**59,65 ± 4,79[a]**	**43,46 ± 5,28[b]**	**<0,05**

Abliegen (Sau zeigte kontrolliertes Abliege-Verhalten), Ferkelkontakt (Sau reagiert auf Ferkel in Kopfnähe mit Kontakt/Schnüffeln), Grunzen (Sau leitete Säugen mittels Lockrufen ein), Rufe der Ferkel (Ferkel leiteten das Säugen durch Aufforderungsrufe ein). Angegeben sind die Ergebnisse als LSM ± SE sowie die *p-Werte* des F-Tests. Innerhalb einer Zeile werden signifikante Unterschiede durch unterschiedliche Buchstaben angezeigt ([a,b] $p < 0{,}05$; Tukey-Kramer-Test; n = 231 Beobachtungen je Gruppe).

4.1.2 Saugordnung

Zur Untersuchung der Stabilität der Saugordnung wurden die Zitzenpräferenz und der WHK der Ferkel sowohl für die Einzelzitze als auch für das Zitzenpaar bestimmt. Die statistische Analyse zeigte keinen signifikanten Effekt der Behandlungsmethode oder der Interaktion „Behandlung × Geschlecht“ auf die Zitzenpräferenz oder den WHK, aber einen

„Geschlechtseffekt“ auf den WHK der Einzelzitze ($F_{1;223} = 5{,}1$; $p < 0{,}05$; Tab. Anhang 1). Abbildung 5 zeigt die paarweisen Vergleiche der WHK zwischen männlichen und weiblichen Ferkeln. Dabei konnte für männliche Ferkel ein signifikant höherer WHK der Einzelzitze (Abbildung 5 A) nachgewiesen werden, sowie ein in Tendenz höherer WHK des Zitzenpaares ($p = 0{,}1$; Abbildung 5 B).

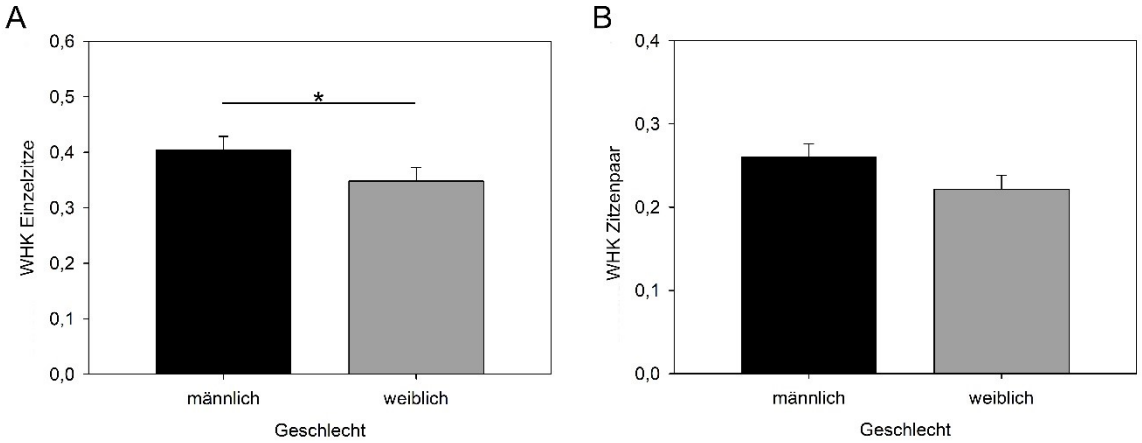


*Abbildung 5: Wechselhäufigkeitskoeffizient (WHK) von männlichen (n = 528) und weiblichen (n = 427) Ferkeln aller Behandlungsgruppen für die Einzelzitze (A) und das Zitzenpaar (B). Die Ergebnisse sind dargestellt als LSM ± SE. Signifikante Unterschiede sind mit Asterisken gekennzeichnet (*p < 0,05; Tukey-Kramer-Test)*

Um eine generelle Aussage über den Einfluss der Deprivationsbehandlung auf die Intervalldauer zwischen den Saugakten nach dem Zurücksetzen der Ferkel zur Sau treffen zu können, wurden die einzelnen Intervalle über die Tage gemittelt. Dabei ergab die statistische Analyse einen signifikanten Behandlungseffekt auf die mittlere Intervalldauer ($F_{1;10} = 5{,}02$; $p < 0{,}05$) sowie für die Intervalldauer zwischen 1. und 2. Saugakt ($F_{1;10} = 8{,}93$; $p < 0{,}05$), wobei diese in den Kontrollwürfen signifikant länger waren als in den Deprivationswürfen (Abbildung 6). Für die Intervalldauer zwischen 2. und 3. Saugakt konnte kein statistisch signifikanter Behandlungseffekt nachgewiesen werden ($F_{1;10} = 0{,}57$; $p = 0{,}47$).

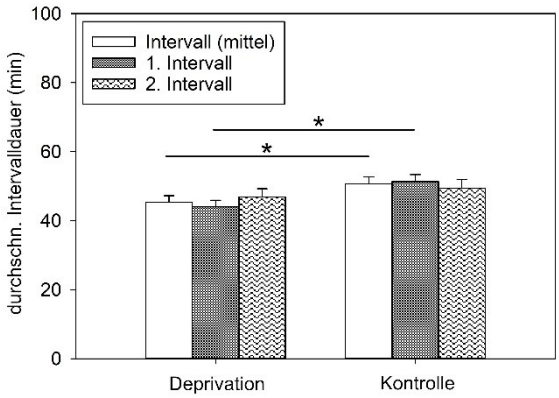


*Abbildung 6: Durchschnittliche Intervalldauer zwischen den Saugakten der Deprivations- und Kontrollwürfe. Die Ergebnisse sind dargestellt als LSM ± SE. Signifikante Unterschiede sind mit Asterisken gekennzeichnet (*p < 0,05; Tukey-Kramer-Test; n = 10 Würfe / Behandlungsgruppe). 1.Intervall = Intervalldauer zwischen 1. und 2. Saugakt; 2. Intervall = Intervalldauer zwischen 2. und 3. Saugakt*

Die Ergebnisse der Effekte der Deprivationsprozedur auf die durchschnittliche Intervalldauer zwischen den einzelnen Saugakten der jeweiligen Laktationstage (LkT) sind in der Tabelle Anhang 2 aufgelistet. Dabei konnte für die Intervalldauer zwischen 1. und 2. Saugakt ein signifikanter Behandlungseffekt ($F_{1;12} = 7{,}07$; $p < 0{,}05$) nachgewiesen werden. Zudem war die Intervalldauer zwischen 1. und 2. Saugakt tendenziell durch den Laktationstag ($F_{6;122} = 1{,}95$; $p = 0{,}078$) beeinflusst und tendenziell durch die Behandlung im Zeitverlauf ($F_{6;122} = 2{,}15$; $p = 0{,}053$).

Für die durchschnittliche Intervalldauer zwischen den Saugakten konnten ein tendenzieller Effekt der Behandlung ($F_{1;11} = 4{,}04$; $p = 0{,}069$) und des Laktationstages ($F_{6;122} = 1{,}98$; $p = 0{,}073$) aufgezeigt werden. Es wurde kein statistisch signifikanter Effekt für die Intervalldauer zwischen 2. und 3. Saugakt gefunden (Anhang 2).

Der paarweise Vergleich zeigte, dass die durchschnittlichen Intervalldauern zwischen den Saugakten bei den Kontrollwürfen am 2. LkT signifikant höher waren als bei den Deprivationswürfen (60,23 ± 4,55 min. vs. 39,25 ± 3,95 min; $p < 0{,}05$; Anhang 2). Dieser Effekt wurde vor allem durch die signifikant längeren Intervalle zwischen dem 1. und 2. Saugakt am 2. LkT ausgelöst, die bei den Sauen der Kontrollwürfe signifikant länger waren als bei den Sauen der Deprivationswürfe (60,23 ± 4,55 min. vs. 37,26 ± 4,50 min; $p < 0{,}001$; Anhang 2).

4.1.3 Cortisol und IgA im Speichel

Zur Untersuchung der Stressreaktion der Sauen auf die Ferkeldeprivation wurden von allen Sauen der Deprivations- und Kontrollwürfe Speichelproben entnommen und die Konzentrationen von Cortisol und IgA bestimmt (Anhang 3). Dabei zeigte sich, dass der Laktationstag einen signifikanten Effekt auf die IgA-Konzentrationen hatte ($F_{2;35} = 16{,}44$; $p < 0{,}001$). Diese waren bei den Sauen beider Behandlungsgruppen am Laktationstag 2 (0,47 ± 0,03) signifikant höher ($p = 0{,}001$) als an den Laktationstagen 9 (0,27 ± 0,03) und 15 (0,32 ± 0,03). Es konnte kein weiterer signifikanter Effekt nachgewiesen werden (Anhang 3).

4.1.4 Cortisol und Oxytocin in der Milch

Zur Beurteilung der unmittelbaren Reaktion der Sauen auf die Behandlung, wurde am 2. LkT von allen Sauen eine Milchprobe vor sowie nach der ersten Ferkel-Deprivation genommen und die Cortisol- sowie Oxytocin-Konzentrationen bestimmt. Die statistische Analyse erbrachte dabei einen signifikanten Effekt der Behandlung auf die Differenz (nach–vor) der Cortisol-Konzentrationen in der Milch ($F_{1;5} = 7{,}83$; $p < 0{,}05$), wobei diese bei den Sauen der Deprivationswürfe signifikant höher war als bei den Kontrollsauen (Abbildung 7). Für die Differenz (nach–vor) der Oxytocin-Konzentrationen wies die statistische Analyse keinen signifikanten Behandlungseffekt ($F_{1;5} = 5{,}9 \cdot 10^{-5}$; $p = 0{,}99$) nach.

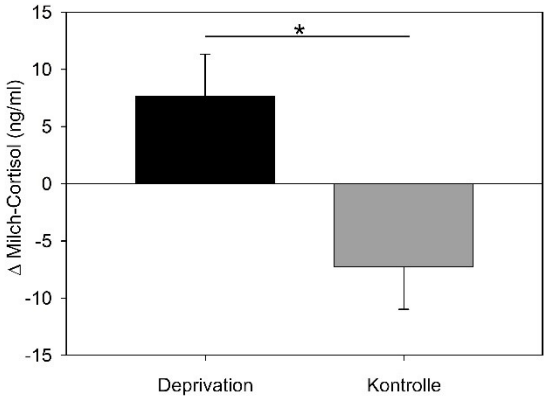


*Abbildung 7: Differenz des Milch-Cortisols (nach-vor) von Sauen der Deprivations- und Kontrollwürfe. Die Ergebnisse sind dargestellt als LSM ± SE. Signifikante Unterschiede sind mit Asterisken gekennzeichnet (*p < 0,05; Tukey-Kramer-Test; n = 7 Proben je Behandlung).*

Die gemessenen Cortisol- und Oxytocin-Konzentrationen in den Milchproben, welche nach der Deprivationsprozedur an den LkT 2, 9 und 15 von den Sauen beider Behandlungsgruppen genommen wurden, sind in der Tabelle Anhang 4 aufgelistet. In der statistischen Auswertung zeigte sich ein tendenzieller Einfluss der Behandlung über die Laktationstage auf die Cortisol-Konzentration ($F_{2;35} = 2{,}86$; $p = 0{,}07$). Zudem konnte ein signifikanter Effekt des Laktationstages auf die Oxytocin-Konzentrationen ($F_{2;34} = 7{,}27$; $p < 0{,}01$) nachgewiesen werden, wobei dieser bei den Sauen beider Behandlungsgruppen am LkT 2 (505,78 ± 65,04 pg/ml) signifikant höher war als am LkT 9 (232,14 ± 61,43 pg/ml; $p < 0{,}05$) und 15 (175,88 ± 59,8 pg/ml; $p < 0{,}01$). Es konnten keine weiteren signifikanten Effekte im F-Test gefunden werden (Anhang 4).

4.2 Effekte der Deprivationsprozedur auf Verhalten sowie neuroendokrine und immunologische Parameter der Ferkel

4.2.1 Cortisol-Konzentrationen und immunologische Parameter im Plasma

Es konnte kein signifikanter Effekt der Behandlung, des Geschlechtes oder der Interaktion „Behandlung × Geschlecht“ auf die Cortisol-Konzentrationen sowie die immunologischen Parameter bei den Ferkeln am Lebenstag 5 und 16 gefunden werden (Anhang 5). Die Cortisol-Konzentrationen waren am Lebenstag 16 tendenziell durch das Geschlecht beeinflusst ($F_{1;133} = 3{,}02$; $p = 0{,}084$), wie in der Tabelle Anhang 5 dargestellt.

Um zu beurteilen, welchen Einfluss die Deprivationsbehandlung auf die Cortisol-Konzentrationen und immunologischen Parameter der Ferkel hat, wenn diese einer neuen Umgebung ausgesetzt sind, wurde von allen Ferkeln am 16. Lebenstag (LT) nach dem OF/NO-Test eine Blutprobe genommen. Es zeigte sich, dass die Art der Behandlung die Cortisol-Konzentrationen der Ferkel nach dem OF/NO-Test ($F_{2;133} = 6{,}02$; $p < 0{,}01$) sowie die Differenz dieser Werte zu vor dem OF/NO-Test ($F_{2;132} = 16{,}29$; $p < 0{,}001$) signifikant beeinflusste. Zudem wurden die Cortisol-Konzentrationen nach dem OF/NO-Test signifikant vom Geschlecht ($F_{1;133} = 4{,}54$; $p < 0{,}05$) beeinflusst, sowie in Tendenz von der Interaktion „Behandlung × Geschlecht“ ($F_{1;132} = 2{,}92$; $p < 0{,}056$). Tabelle 9 zeigt die Ergebnisse des F-Tests sowie die der paarweisen Vergleiche der Behandlung.

Tabelle 9: Differenz der Cortisol- und IgA-Konzentrationen im Blutplasma der Ferkel vor und nach einem OF/NO-Test

Parameter	Behandlungsgruppe			*p*-Werte (F-Test)		
	DA	DG	K	Behandlung	Geschlecht	Behandlung × Geschlecht
Cortisol (ng/ml)						
LT16 vor OF/NO	22,78 ± 3,04	23,09 ± 3,08	17,29 ± 3,01	0,36	0,084	0,265
LT16b nach OF/NO	**36,01 ± 4,35**[c]	46,29 ± 4,36	**55,80 ± 4,29**[d]	**<0,01**	**<0,05**	0,057
Δ LT16 nach–vor	**12,98 ± 3,24**[e]	**22,96 ± 3,29**[c]	**38,56 ± 3,15**[f,d]	**<0,001**	0,544	0,475
IgA (ng/ml)						
LT16 vor OF/NO	0,12 ± 0,02	0,10 ± 0,02	0,10 ± 0,02	0,229	0,226	0,451
LT16b nach OF/NO	0,10 ± 0,02	0,09 ± 0,02	0,09 ± 0,02	0,546	0,462	0,696
Δ LT16 nach–vor	-0,02 ± 0,01	-0,01 ± 0,01	-0,02 ± 0,01	0,697	0,912	0,913

Die Ergebnisse sind dargestellt als LSM ± SE der drei Behandlungsgruppen DA (Deprivation allein), DG (Deprivation in einer Gruppe mit Wurfgeschwistern), K (Kontrollen, keine Deprivation). Innerhalb einer Zeile werden signifikante Unterschiede durch unterschiedliche Buchstaben angezeigt ([c,d] $p < 0{,}01$; [e,f] $p < 0{,}001$; Tukey-Kramer-Test; n = 50-55 je Behandlungsgruppe).

Im paarweisen Vergleich zeigte sich, dass die Kontrollen signifikant höhere Cortisol-Konzentrationen nach dem OF/NO-Test aufwiesen als die Tiere der DA-Gruppe ($p < 0{,}01$; Tabelle 9). Zudem hatten die Kontrolltiere signifikant größere Differenzen der Cortisol-Konzentrationen (nach–vor OF/NO-Test) als die Tiere der DG- und DA-Gruppe ($p < 0{,}001$ bzw. $p < 0{,}01$; Tabelle 9). Darüber hinaus war die Differenz in der DG-Gruppe tendenziell größer als in der DA-Gruppe ($p = 0{,}08$; Tabelle 9).

Bei der Betrachtung der Geschlechter zeigte sich, dass männliche Ferkel der K-Gruppe signifikant größere Cortisol-Konzentrationen nach dem OF/NO-Test aufwiesen als die männlichen Ferkel der DA- und DG-Gruppe (Abbildung 8). Bei den weiblichen Tieren zeigten sich signifikant geringere Cortisol-Konzentrationen in der DA-Gruppe verglichen mit der DG-Gruppe (Abbildung 8), sowie tendenziell geringere Cortisol-Konzentrationen bei den weiblichen Tieren der DA-Gruppe verglichen mit den weiblichen Kontrolltieren ($p = 0{,}06$; Abbildung 8). Darüber hinaus waren die Cortisol-Konzentrationen der männlichen Kontrollen signifikant und die der männlichen DA-Tiere tendenziell ($p = 0{,}07$; Abbildung 8) höher als bei den weiblichen Tieren der gleichen Behandlungsgruppe.

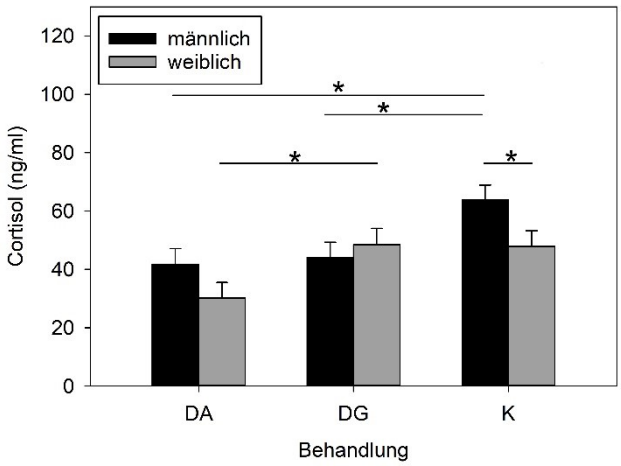


Abbildung 8: Plasma-Cortisol Konzentrationen von männlichen und weiblichen Ferkeln der drei Behandlungsgruppen DA (Deprivation allein), DG (Deprivation in einer Gruppe mit Wurfgeschwistern) und K (Kontrolle, keine Deprivation) nach dem „Open Field"/„Novel Object"- Test. Die Ergebnisse sind dargestellt als LSM ± SE. Signifikante Unterschiede sind mit Asterisken gekennzeichnet ($p < 0{,}05$; Tukey-Kramer-Test; n = 25-30 je Behandlungsgruppe und Geschlecht).*

4.2.2 „Open Field"/„Novel Object"-Test

Zur Untersuchung der Effekte der Deprivationsbehandlung auf die Verhaltensreaktionen von Ferkeln diente der kombinierte „Open Field"/„Novel Object"- Test, wobei dieser an zwei verschiedenen Lebenstagen erfolgte. Der erste Test erfolgte unmittelbar nach der Deprivationsperiode (16. LT) und diente der Untersuchung unmittelbarer Effekte auf die Verhaltensweisen der Ferkel. Der zweite Test erfolgte am 40. LT und diente zum einen der Untersuchung langfristiger Effekte der Deprivation auf Verhaltensparameter und zum anderen dem Vergleich der Verhaltensweisen an den beiden Versuchstagen.

Die statistische Analyse ergab, dass die Art der Behandlung einen signifikanten Effekt auf die Latenz der Objektkontakte ($F_{1;194} = 4{,}10$; $p < 0{,}05$) hatte und das Geschlecht signifikant die Dauer der Objektkontakte ($F_{1;211} = 3{,}93$; $p < 0{,}05$) beeinflusste (Tabelle 10). Darüber hinaus beeinflusste der Lebenstag signifikant die Latenz ($F_{1;211} = 17{,}01$; $p < 0{,}001$), Häufigkeit ($F_{1;211} = 89{,}62$; $p < 0{,}001$) und Dauer ($F_{1;211} = 22{,}22$; $p < 0{,}001$) der Lokomotion, die Häufigkeit ($F_{1;211} = 96{,}42$; $p < 0{,}001$) und Dauer ($F_{1;211} = 22{,}84$; $p < 0{,}001$) des Parameters „Stehen" sowie die Häufigkeit der Vokalisation ($F_{1;194} = 98{,}00$; $p < 0{,}001$) und der Objektkontakte ($F_{1;149} = 12{,}59$; $p < 0{,}001$). Zudem beeinflusste die Behandlung bezogen auf das Lebensalter signifikant die Häufigkeit ($F_{2;211} = 6{,}31$; $p < 0{,}01$) und Dauer ($F_{2;211} = 16{,}08$; $p < 0{,}001$) der Lokomotion, die Häufigkeit ($F_{1;149} = 12{,}59$; $p < 0{,}001$) und Dauer ($F_{2;211} = 5{,}86$; $p < 0{,}01$) des Parameters Stehen,

sowie die Häufigkeit ($F_{2;194} = 15{,}35$; $p < 0{,}001$) der Vokalisation und die Latenz ($F_{2;149} = 6{,}40$; $p < 0{,}01$) und Häufigkeit ($F_{2;149} = 3{,}42$; $p < 0{,}05$) der Objektkontakte (Tabelle 10). Die Ergebnisse der statistischen Analyse für die im „Open Field"/„Novel Object"-Test untersuchten Parameter sind in Tabelle 10 aufgeführt.

Tabelle 10: Latenz, Häufigkeit und Dauer von beobachteten Verhaltensparametern im „Open Field"/„Novel Object"-Test

Parameter	Behandlungsgruppe (16.LT)			Behandlungsgruppe (40.LT)			p-Werte (F-test)					
	DA	**DG**	**K**	**DA**	**DG**	**K**	**Beh.**	**Zeit**	**Geschl.**	**Beh. x Zeit x Geschl.**	**Beh. x Zeit**	**Beh. x Geschl.**
Lokomotion												
Latenz (s)	**35,22 ± 4,44[a]**	24,29 ± 4,52	**18,23 ± 4,42[b]**	10,94 ± 5,08	15,81 ± 5,66	10,82 ± 6,06	0,326	**<0,001**	0,665	0,864	0,055	0,262
Häufigkeit	**36,17 ± 1,21[c]**	**42,04 ± 1,34[d]**	39,27 ± 1,25	30,78 ± 1,37	27,37 ± 1,44	27,86 ± 1,55	0,852	**<0,001**	0,599	0,610	**<0,01**	0,949
Dauer (s)	**121,73 ± 5,67[a,c]**	**143,96 ± 5,80[b]**	**143,94 ± 5,64[d]**	**134,10 ± 6,45[a]**	**112,39 ± 7,21[b]**	**107,08 ± 7,65[b]**	0,937	**<0,001**	0,689	0,684	**<0,001**	0,701
Stehen												
Häufigkeit	**36,95 ± 1,19[c]**	**42,67 ± 1,31[d]**	39,82 ± 1,22	31,08 ± 1,35	27,96 ± 1,43	28,08 ± 1,52	0,763	**<0,001**	0,639	0,500	**<0,01**	0,936
Dauer (s)	**171,79 ± 6,06[a]**	**154,93 ± 6,15[b]**	155,53 ± 6,05	**165,61 ± 6,80[a]**	**186,65 ± 7,55[b]**	189,56 ± 8,12	0,858	**<0,001**	0,956	0,354	**<0,001**	0,560
Vokalisation												
Latenz (s)	**32,35 ± 4,71[a]**	**20,13 ± 4,73[b]**	**15,61 ± 4,80[b]**	20,76 ± 5,15	21,53 ± 5,76	15,01 ± 6,09	0,127	0,266	0,467	0,449	0,198	0,279
Häufigkeit	**150,49 ± 13,76[c,e]**	**237,74 ± 19,43[f]**	**221,68 ± 18,75[d]**	**124,79 ± 13,33[c]**	**115,12 ± 14,12[a]**	**71,92 ± 11,11[b,d]**	0,055	**<0,001**	0,589	0,559	**<0,001**	0,944
Objektkontakt												
Latenz (s)	**126,03 ± 13,02[e]**	**109,31 ± 13,44[a]**	**54,60 ± 12,98[b,f]**	**66,95 ± 15,03[a]**	**129,14 ± 18,29[b]**	82,82 ± 19,49	**<0,05**	0,753	0,483	0,906	**<0,01**	0,249
Häufigkeit	**4,99 ± 0,70[a,c]**	**7,41 ± 0,98[b]**	**9,76 ± 1,31[d]**	4,74 ± 0,76	5,22 ± 0,95	4,71 ± 1,00	0,098	**<0,001**	0,088	0,518	**<0,05**	0,849
Dauer (s)	**6,89 ± 2,36[c]**	11,44 ± 2,57	**18,68 ± 2,84[d]**	9,29 ± 3,05	7,43 ± 3,40	10,51 ± 3,77	0,178	0,126	**<0,05**	0,605	0,111	0,877

Die Ergebnisse sind dargestellt als LSM ± SE der drei Behandlungsgruppen DA (Deprivation allein; 16. LT: n = 53, 40. LT: n = 33), DG (Deprivation in einer Gruppe mit Wurfgeschwistern; 16. LT: n = 52, 40. LT: n = 27), K (Kontrollen, keine Deprivation; 16. LT: n = 55, 40. LT: n = 24), sowie die *p-Werte* des F-Tests (Beh. = Behandlung; Geschl. = Geschlecht). Innerhalb einer Zeile werden signifikante Unterschiede durch unterschiedliche Buchstaben angezeigt ([a,b] $p < 0,05$; [c,d] $p < 0,01$; [e,f] $p < 0,001$;Tukey-Kramer-Test).

4.2.2.1 „Open Field"/„Novel Object"-Test unmittelbar nach Beendigung der Deprivationsphase (16. LT)

Im paarweisen Vergleich konnte gezeigt werden, dass die Latenz der Lokomotion bei den Tieren der DA-Gruppe signifikant größer war als bei den Tieren der Kontrollgruppe (Tabelle 10). Wie in Abbildung 9 A dargestellt, zeigten vor allem die weiblichen Tiere der DA-Gruppe eine signifikant größere Latenz der Lokomotion, sowohl gegenüber den weiblichen Kontrolltieren, als auch den weiblichen Tieren der DG-Gruppe. Zudem war die Latenz der weiblichen Tiere der DA-Gruppe signifikant höher als die der männlichen DA-Tiere. Die Häufigkeit der Lokomotionen war bei den DA-Tieren signifikant geringer als bei denen der DG-Gruppe (Tabelle 10), wobei beide Geschlechter gleichermaßen davon betroffen waren (Abbildung 9 B). Für die Dauer der Lokomotion (Tabelle 10) zeigte sich, dass diese bei den Tieren der DA-Gruppe signifikant kürzer war als bei den Tieren der DG-Gruppe und den Tieren der Kontrollgruppe. Auch hier konnte dieser Effekt für beide Geschlechter gleichermaßen nachgewiesen werden, wobei die Dauer der Lokomotion bei den DA-Tieren beider Geschlechter signifikant geringer war als bei den DG-Tieren (Abbildung 9 C) und tendenziell geringer als bei den Kontrolltieren (beide $p = 0{,}07$; Abbildung 9 C).

Für den Parameter „Stehen" zeigte der paarweise Vergleich eine signifikant geringere Häufigkeit bei den DA-Tieren verglichen mit den Tieren der DG-Gruppe (Tabelle 10). Zudem war die Dauer, die die Tiere der DA-Gruppe im OF/NO-Test stehend verbrachten signifikant größer als bei der DG-Gruppe (Tabelle 10). Bei dem Vergleich der Geschlechter zeigte sich, dass die männlichen Tiere der DA-Gruppe signifikant und die weiblichen Tiere der DA-Gruppe tendenziell ($p = 0{,}06$) geringere Häufigkeiten aufwiesen als die DG-Tiere des entsprechenden Geschlechts (Abbildung 10).

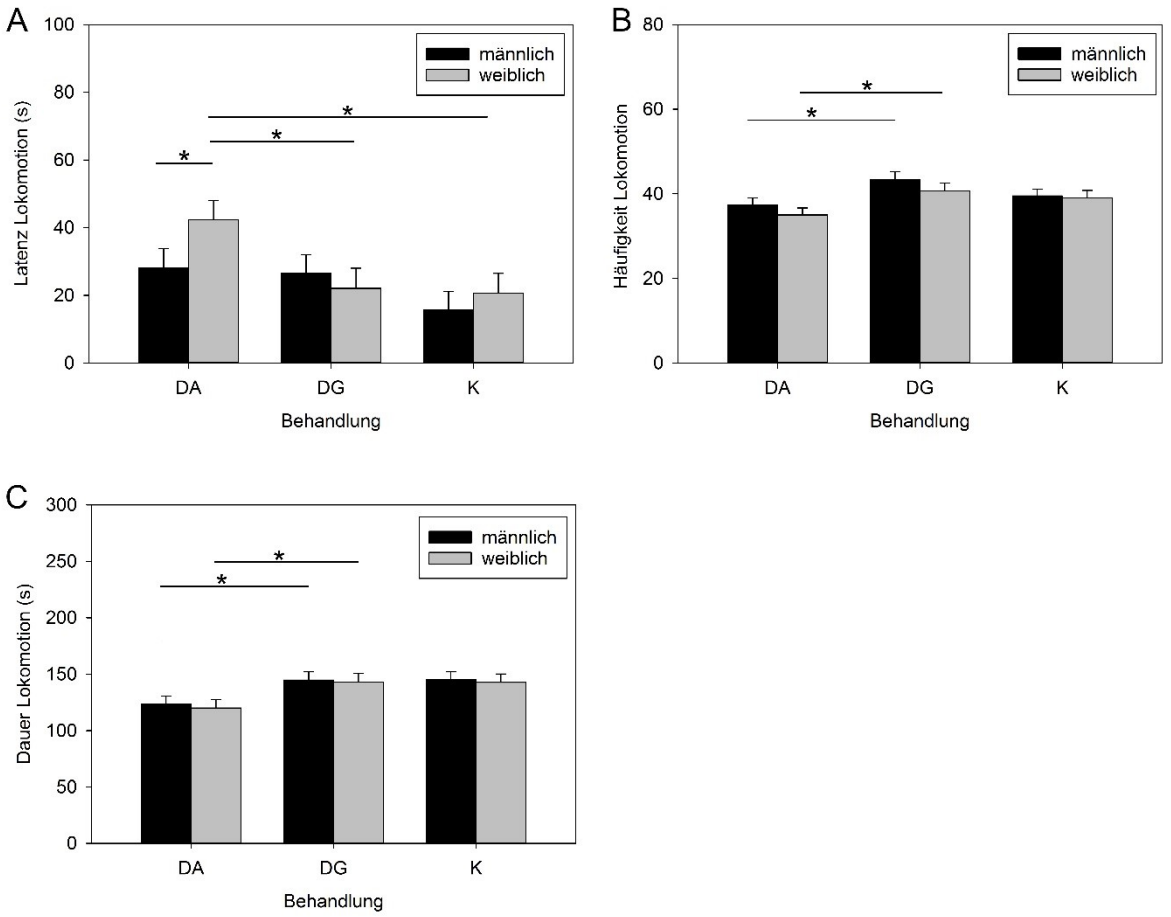


*Abbildung 9: Latenz (A), Häufigkeit (B) und Dauer (C) des Parameters „Lokomotion" von männlichen und weiblichen Tieren der drei Behandlungsgruppen DA (Deprivation allein), DG (Deprivation in einer Gruppe mit Wurfgeschwistern) und K (Kontrolle, keine Deprivation). Die Ergebnisse sind dargestellt als LSM ± SE. Signifikante Unterschiede (Tukey-Kramer-Test) sind mit Asterisken gekennzeichnet (*p < 0,05; n = 24-30 je Behandlungsgruppe und Geschlecht).*

Die Latenz der Vokalisation war bei den Tieren der DA-Gruppe signifikant größer als bei den Tieren der DG- und Kontrollgruppe, wie in Tabelle 10 dargestellt. Unter Berücksichtigung des Geschlechts zeigte sich, dass dieser Effekt vor allem von den weiblichen Tieren ausgelöst wurde (Abbildung 11 A). Hier hatten die weiblichen Tiere der DA-Gruppe eine signifikant größere Vokalisationslatenz als die weiblichen Tiere der DG- und Kontrollgruppe und als die männlichen Tiere der DA-Gruppe. Die Häufigkeit der Vokalisation war bei den Tieren der DA-Gruppe signifikant geringer als bei den DG- und Kontrolltieren (Tabelle 10), wobei dieser Effekt sowohl für die männlichen als auch die weiblichen Tiere nachgewiesen werden konnte (Abbildung 11 B).

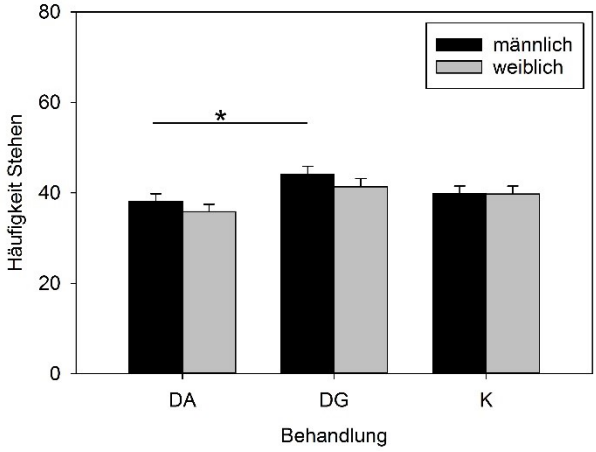


*Abbildung 10: Häufigkeit des Parameters „Stehen" von männlichen und weiblichen Tieren der drei Behandlungsgruppen DA (Deprivation allein), DG (Deprivation in einer Gruppe mit Wurfgeschwistern) und K (Kontrolle, keine Deprivation). Die Ergebnisse sind dargestellt als LSM ± SE. Signifikante Unterschiede sind mit Asterisken gekennzeichnet (*p < 0,05; Tukey-Kramer-Test; n = 24-30 je Behandlungsgruppe und Geschlecht).*

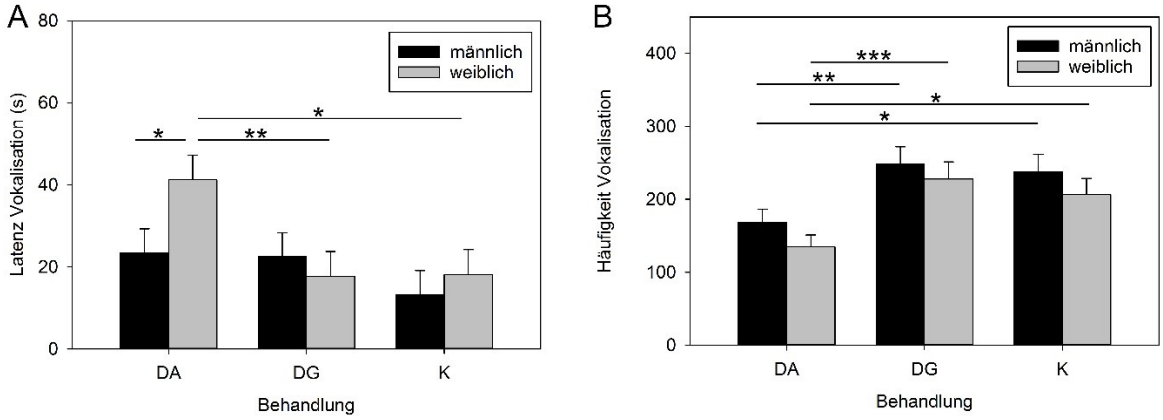


*Abbildung 11: Latenz (A) und Häufigkeit (B) des Parameters „Vokalisation" von männlichen und weiblichen Tieren der drei Behandlungsgruppen DA (Deprivation allein), DG (Deprivation in einer Gruppe mit Wurfgeschwistern) und K (Kontrolle, keine Deprivation). Die Ergebnisse sind dargestellt als LSM ± SE. Signifikante Unterschiede sind mit Asterisken gekennzeichnet (*p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001; Tukey-Kramer-Test; n = 24-30 je Behandlungsgruppe und Geschlecht).*

In Bezug auf die Objektkontakte zeigten beide Deprivationsgruppen eine signifikant größere Latenz, wie in Tabelle 10 dargestellt. Dabei konnten diese Ergebnisse bei den männlichen Tieren beider Deprivationsgruppen nachgewiesen werden, bei den weiblichen Tieren aber nur für die DG-Gruppe (Abbildung 12 A). Darüber hinaus hatten die Tiere der DA-Gruppe signifikant weniger Objektkontakte als die Tiere der DG-Gruppe und als die Kontrolltiere sowie eine signifikant geringere Objektkontaktdauer verglichen mit der Kontrollgruppe (Tabelle 10). Die Häufigkeit der Objektkontakte war dabei sowohl bei den männlichen als auch bei den weiblichen Tieren der DA-Gruppe signifikant geringer als bei den Kontrolltieren des jeweiligen Geschlechts (Abbildung 12 B). Zudem konnte eine tendenziell geringere Häufigkeit der Objektkontakte bei den weiblichen Tieren der DA-Gruppe verglichen mit den weiblichen Tieren der DG-Gruppe nachgewiesen werden ($p = 0{,}08$; Abbildung 12 B).

Wie aus Abbildung 12 C deutlich wird, war die Dauer der Objektkontakte bei den weiblichen Tieren der DA-Gruppe signifikant und bei den männlichen Tieren der DA-Gruppe tendenziell ($p = 0{,}06$) kürzer als bei den Kontrolltieren des jeweiligen Geschlechts.

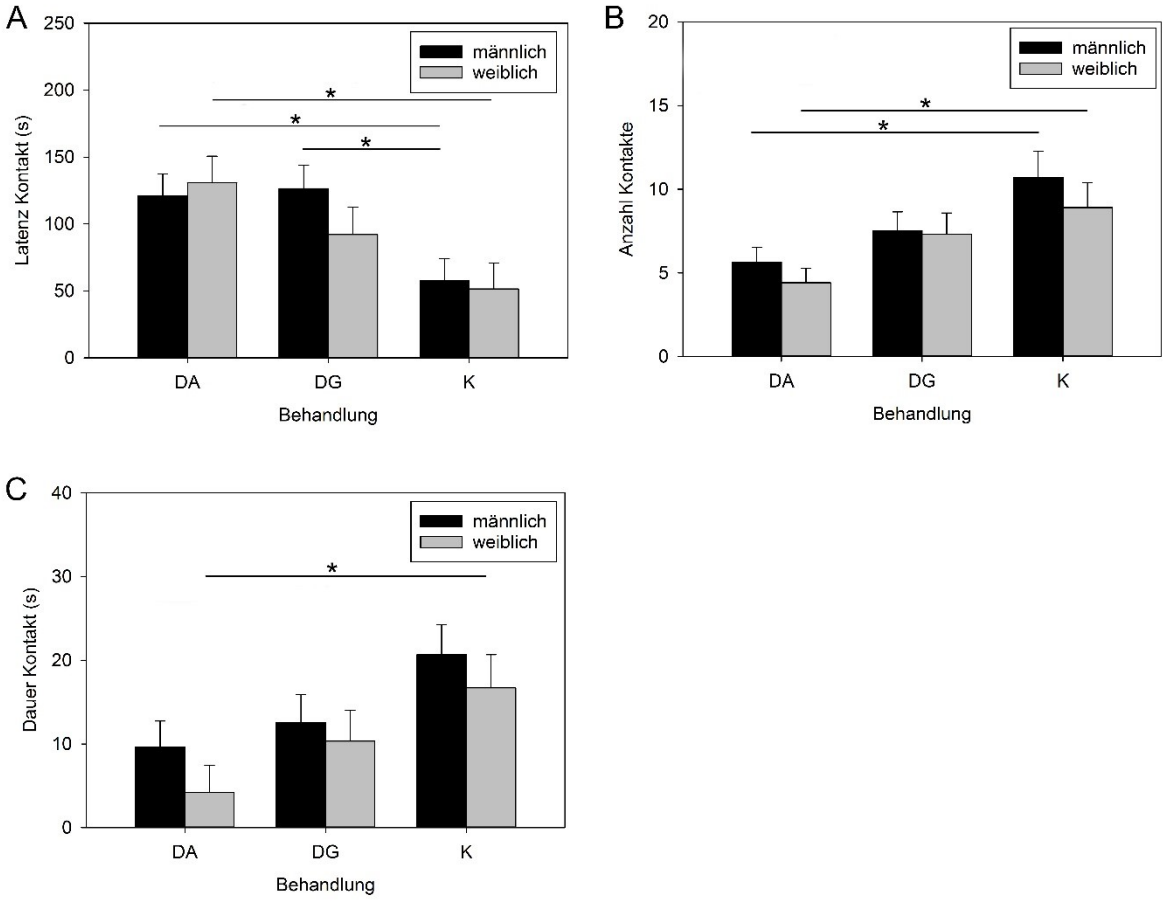


*Abbildung 12: Latenz (A), Anzahl (B) und Dauer (C) der „Objektkontakte" von männlichen und weiblichen Tieren der drei Behandlungsgruppen DA (Deprivation allein), DG (Deprivation in einer Gruppe mit Wurfgeschwistern) und K (Kontrolle, keine Deprivation). Die Ergebnisse sind dargestellt als LSM ± SE. Signifikante Unterschiede sind mit Asterisken gekennzeichnet (*p < 0,05; Tukey-Kramer-Test; n = 24-30 je Behandlungsgruppe und Geschlecht).*

4.2.2.2 „Open Field"/„Novel Object"-Test 24 Tage nach Beendigung der Deprivationsphase

Bei den Tieren beider Deprivationsgruppen konnte 24 Tage nach Beendigung der Deprivationsphase eine signifikant längere Dauer der Lokomotion nachgewiesen werden als bei den Tieren der Kontrollgruppe (Tabelle 10), wobei dieser Effekt nur für die männlichen Tiere nachgewiesen werden konnte (Abbildung 13 A). Im Gegensatz dazu war die Dauer, die die DA-Tiere stehend im OF/NO-Test verbrachten, signifikant geringer als bei den Tieren der DG-Gruppe (Tabelle 10) und tendenziell geringer als bei den Kontrolltieren ($p = 0{,}06$; Tabelle 10). Auch hier wurde dieser Effekt vor allem durch die männlichen Tiere der DA-Gruppe verursacht, die verglichen mit den männlichen Tieren der DG- und Kontrollgruppe eine signifikant kürzere Dauer des Stehens aufwiesen (Abbildung 13 B).

Wie in Tabelle 10 dargestellt war die Häufigkeit der Vokalisation für beide Deprivationsgruppen signifikant geringer als bei der Kontrollgruppe. Bei Betrachtung des Geschlechts zeigte sich dieser Effekt jedoch nur bei den weiblichen Tieren der DA-Gruppe verglichen mit den weiblichen Kontrolltieren (Abbildung 13 C). Darüber hinaus war die Latenz bis zum ersten Objektkontakt bei den Tieren der DA-Gruppe signifikant geringer als bei den Tieren der DG-Gruppe (Tabelle 10) und zeigte sich hier vor allem bei den männlichen Tieren (Abbildung 13 D).

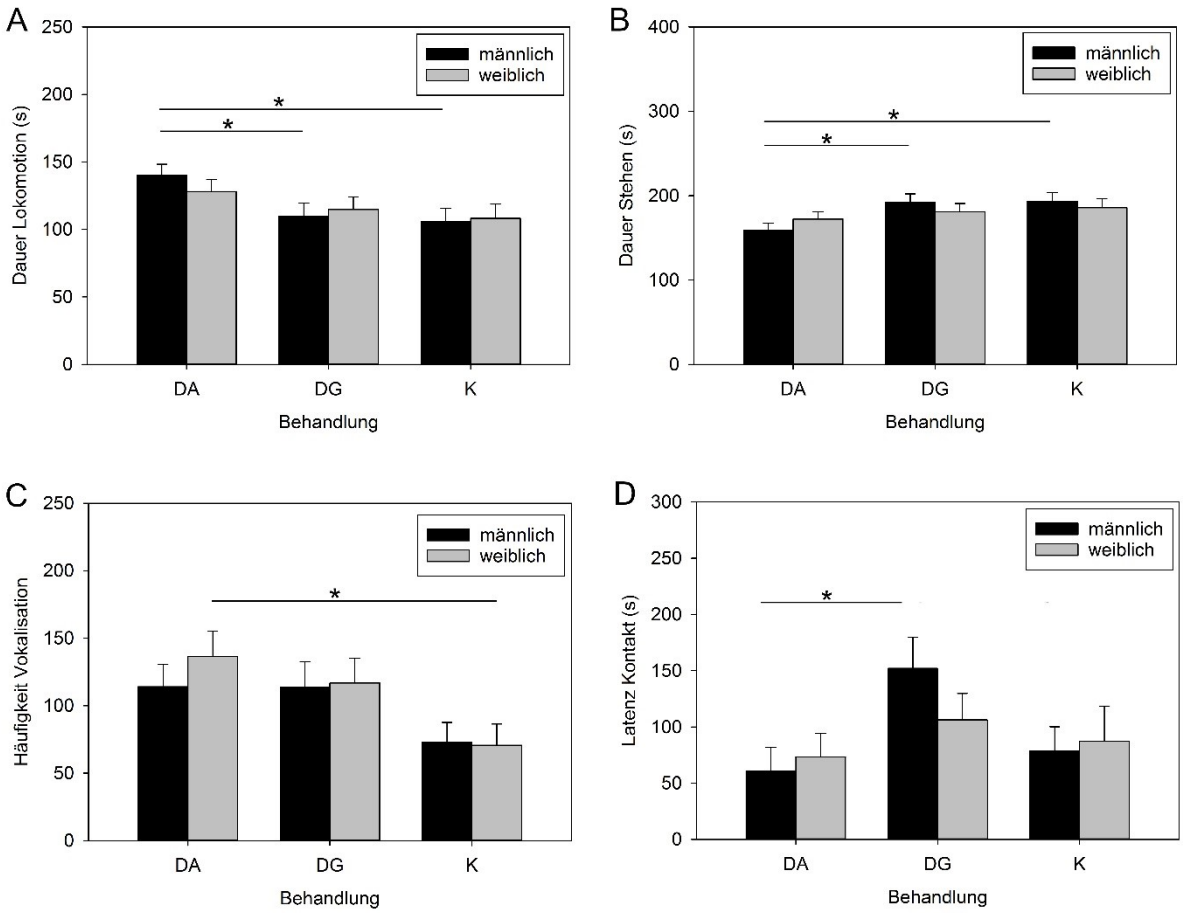


*Abbildung 13: (A) Dauer der „Lokomotion", (B) Dauer „Stehen", (C) Häufigkeit „Vokalisation" und (D) Latenz „Objektkontakt" von männlichen und weiblichen Tieren der drei Behandlungsgruppen DA (Deprivation allein), DG (Deprivation in einer Gruppe mit Wurfgeschwistern) und K (Kontrolle, keine Deprivation). Die Ergebnisse sind dargestellt als LSM ± SE. Signifikante Unterschiede sind mit Asterisken gekennzeichnet (*p < 0,05; Tukey-Kramer-Test; n = 11-18 je Behandlungsgruppe und Geschlecht).*

4.2.2.3 *Unterschiede in den Verhaltensweisen zwischen erstem und zweitem „Open Field"/„Novel Object"-Test*

Der Lebenstag (Faktor „Zeit") beeinflusste signifikant die im OF/NO-Test untersuchten Parameter, wie in Tabelle 10 dargestellt. Generell zeigte sich, dass die Latenz, Häufigkeit und Dauer der Lokomotion mit zunehmendem Alter bei den Tieren aller Behandlungsgruppen abnahm (Anhang 6 A-F). Einhergehend mit der reduzierten Lokomotionshäufigkeit, war die Häufigkeit, die die Tiere der drei Behandlungsgruppen stehend im OF/NO-Test verbrachten am 40. LT ebenfalls geringer als am 16. LT (Anhang 7 A-B). Im Gegensatz dazu erhöhte sich die Gesamtdauer, die die Tiere der drei Behandlungsgruppen stehend im OF/NO-Test verbrachten am 40. LT verglichen mit dem 16. LT (Anhang 7 C-D). Dies war zwar nur für die

männlichen Tiere der DG- und K-Gruppe signifikant, dennoch zeigten die weiblichen Tiere der DG- und K-Gruppe numerisch höhere Stehdauern am 40. LT (Anhang 7 D).

Interessant war, dass die Tiere der DA-Gruppe für die Dauer der Lokomotion und des Stehens keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Lebenstagen aufwiesen, sondern vielmehr numerisch auf einem Level blieben (Anhang 7 E-F, Anhang 7 C-D).

Ähnliche Ergebnisse erbrachte der Altersvergleich für die Häufigkeit der Vokalisation. Auch hier konnte eine signifikante und geschlechtsunabhängige Verringerung der Vokalisationshäufigkeiten für die Tiere der DG- und K-Gruppe nachgewiesen werden (Anhang 8 A-B). Für die einzeldeprivierten Tiere konnte keine signifikante Veränderung der Vokalisationshäufigkeit nachgewiesen werden (Anhang 8 A). Im Vergleich der Geschlechter zeigte sich jedoch, dass die männlichen Tiere der DA-Gruppe mit zunehmendem Alter ebenfalls signifikant weniger vokalisierten, wohingegen das Lebensalter keinen Einfluss auf die Vokalisationshäufigkeit der weiblichen DA-Tiere zu haben schien (Anhang 8 B). Für die Latenz der Vokalisation konnte nur für die weiblichen Tiere der DA-Gruppe ein Unterschied zwischen dem 16. und dem 40. LT festgestellt werden, wobei die Latenz bei den weiblichen Tieren am 40. LT signifikant geringer war (Anhang 8 C).

Die Latenz der Objektkontakte war bei den Tieren der DA-Gruppe am 16. LT signifikant größer als am 40. LT; für die Tiere der anderen Gruppen konnten keine Unterschiede im zeitlichen Verlauf nachgewiesen werden (Anhang 9 A). Im Vergleich dazu war die Häufigkeit der Objektkontakte bei den weiblichen und männlichen Ferkeln der DG- und K-Gruppe abhängig vom Lebensalter. So konnte für die Kontrolltiere beider Geschlechter eine signifikant geringere und für die weiblichen Tiere der DG-Gruppe eine tendenziell geringere ($p = 0{,}06$) Häufigkeit der Objektkontakte am 40. LT nachgewiesen werden (Anhang 9 B). Demgegenüber unterschied sich die Häufigkeit der Objektkontakte bei den Tieren der DA-Gruppe nicht an den beiden Lebenstagen (Anhang 9 B).

Generell zeichnete sich ab, dass die Latenz, Häufigkeit und Dauer der untersuchten Parameter bei den Tieren der DG-Gruppe numerisch denen der Kontrolltiere sehr ähnlich waren.

4.2.3 Genexpression

Zur Charakterisierung der unmittelbaren Behandlungseffekte auf die Aktivierung der HPA-Achse und des Immunsystems wurden am 20. LT verschiedene Hirngewebe entnommen und auf Stressachsen-assoziierte Gene sowie inflammatorische und anti-inflammatorische Cytokine untersucht.

4.2.3.1 Hypothalamus

Tabelle 11 zeigt die Ergebnisse des F-Tests und der paarweisen Vergleiche für die Behandlung. Es zeigte sich, dass sowohl die Behandlung ($F_{2;34} = 6{,}34$; $p < 0{,}01$) als auch die Behandlung bezogen auf das Geschlecht ($F_{2;34} = 3{,}84$; $p < 0{,}05$) einen signifikanten Einfluss auf die Expression des CRHR1-Gens hatten. Dabei konnte für die Tiere der DA-Gruppe eine signifikant höhere CRHR1 mRNA-Expression festgestellt werden als für die DG-Gruppe (Tabelle 11). Dieser Effekt zeigte sich insbesondere bei den männlichen Tieren der DA-Gruppe, was in Abbildung 14 dargestellt ist. Diese hatten eine signifikant höhere CRHR1 mRNA-Expression als die männlichen Tiere der DG- und K-Gruppe. Darüber hinaus hatten die weiblichen Kontrolltiere eine signifikant höhere CRHR1 mRNA-Expression als die männlichen Kontrolltiere (Abbildung 14).

Tabelle 11: Relative mRNA-Expression von HPA-Achsen-assoziierten Parametern und Cytokinen im Hypothalamus der Ferkel der verschiedenen Behandlungsgruppen

Parameter	Behandlungsgruppe			*p*-Werte (F-Test)		
	DA	**DG**	**K**	**Behandlung**	**Geschlecht**	**Behandlung × Geschlecht**
MR	1,01 ± 0,11	0,90 ± 0,11	0,89 ± 0,11	0,687	0,352	0,487
GR	1,05 ± 0,14	1,10 ± 0,14	1,27 ± 0,14	0,523	0,055	0,087
AVPR1A	1,21 ± 0,16	1,42 ± 0,16	1,12 ± 0,16	0,437	0,552	0,378
OXTR	0,97 ± 0,21	1,29 ± 0,21	1,27 ± 0,21	0,472	0,697	0,715
CRHR1	**1,21 ± 0,11**[c]	**0,81 ± 0,11**[d]	1,02 ± 0,11	**<0,01**	0,567	**<0,05**
CRHR2	1,27 ± 0,14	1,07 ± 0,14	1,11 ± 0,14	0,551	0,495	0,250
TNF-α	1,03 ± 0,12	0,93 ± 0,12	0,94 ± 0,12	0,836	0,184	0,504
IL-6	1,19 ± 0,18	1,25 ± 0,18	1,25 ± 0,18	0,950	0,615	0,721
IL-10	0,94 ± 0,15	0,87 ± 0,14	0,99 ± 0,15	0,825	0,675	0,747
MR/GR-Quotient	1,22 ± 0,17	1,02 ± 0,17	0,75 ± 0,17	0,182	0,829	0,284

DA (Deprivation allein), DG (Deprivation in einer Gruppe von Wurfgeschwistern) und K (Kontrolle, keine Deprivation); MR (mineralocorticoid receptor; NR3C2), GR (glucocorticoid receptor; NR3C1), AVPR1A (arginine vasopressin receptor 1A), OXTR (oxytocin receptor), CRHR1/CRHR2 (corticotropin releasing hormone receptor 1/2), TNF-α (tumor necrosis factor-alpha; TNFA), IL-6 (interleukin-6; IL6), IL-10 (interleukin-10; IL10). Die Daten sind dargestellt als LSM ± SE. Innerhalb einer Zeile werden signifikante Unterschiede durch unterschiedliche Buchstaben angezeigt ([c,d] $p < 0{,}01$; Tukey-Kramer-Test; n = 20 Tiere/Gruppe).

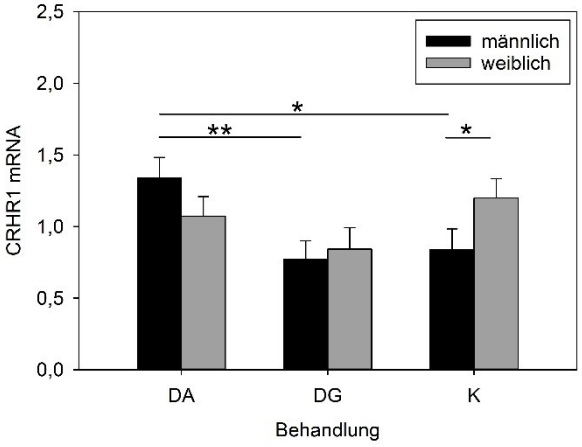


*Abbildung 14: Relative mRNA-Expression des CRHR1-Gens (corticotropin-releasing hormone receptor 1) im Hypothalamus von männlichen und weiblichen Tieren der drei Behandlungsgruppen DA (Deprivation allein), DG (Deprivation in einer Gruppe mit Wurfgeschwistern) und K (Kontrolle, keine Deprivation). Die Ergebnisse sind dargestellt als LSM ± SE. Signifikante Unterschiede sind mit Asterisken gekennzeichnet (*p < 0,05; **p < 0,01; Tukey-Kramer-Test; n = 10 je Geschlecht und Gruppe)*

4.2.3.2 *Amygdala*

In der Amygdala zeigte sich ein tendenzieller Einfluss der Behandlung auf die MR mRNA-Expression ($F_{2;36} = 2{,}73$; $p = 0{,}078$) sowie ein tendenzieller Effekt des Geschlechts auf den MR/GR-Quotienten ($F_{1;35} = 3{,}49$; $p = 0{,}07$) und ein Interaktionseffekt auf die TNF-α mRNA-Expression ($F_{2;36} = 2{,}63$; $p = 0{,}09$). Die einzelnen Ergebnisse des F-Tests der untersuchten Gene sind in Tabelle 12 aufgelistet.

Tabelle 12: Relative mRNA-Expression von HPA-Achsen-assoziierten Parametern und Cytokinen in der Amygdala der Ferkel der verschiedenen Behandlungsgruppen

	Behandlungsgruppe			***p*-Werte (F-Test)**		
Parameter	**DA**	**DG**	**K**	**Behandlung**	**Geschlecht**	**Behandlung × Geschlecht**
MR	1,05 ± 0,15	0,82 ± 0,15	1,24 ± 0,15	0,078	0,297	0,162
GR	0,89 ± 0,10	0,96 ± 0,10	0,85 ± 0,10	0,721	0,866	0,428
AVPR1A	1,11 ± 0,16	1,04 ± 0,16	1,12 ± 0,16	0,882	0,134	0,379
OXTR	1,09 ± 0,11	0,87 ± 0,11	0,79 ± 0,11	0,127	0,428	0,658
CRHR1	1,09 ± 0,13	0,82 ± 0,13	1,16 ± 0,13	0,122	0,645	0,290
CRHR2	1,22 ± 0,18	0,99 ± 0,18	1,20 ± 0,18	0,474	0,568	0,157
TNF-α	0,93 ± 0,20	0,88 ± 0,20	1,45 ± 0,20	0,127	0,138	0,086
IL-6	0,78 ± 0,19	0,71 ± 0,19	1,18 ± 0,19	0,220	0,159	0,557
IL-10	1,34 ± 0,22	1,04 ± 0,22	1,29 ± 0,22	0,416	0,235	0,508
MR/GR-Quotient	1,26 ± 0,35	1,35 ± 0,36	1,78 ± 0,35	0,580	0,070	0,704

DA (Deprivation allein), DG (Deprivation in einer Gruppe von Wurfgeschwistern) und K (Kontrolle, keine Deprivation); MR (mineralocorticoid receptor; NR3C2), GR (glucocorticoid receptor; NR3C1), AVPR1A (arginine vasopressin receptor 1A), OXTR (oxytocin receptor), CRHR1/CRHR2 (corticotropin releasing hormone receptor 1/2), TNF-α (tumor necrosis factor-alpha; TNFA), IL-6 (interleukin-6; IL6), IL-10 (interleukin-10; IL10). Die Daten sind dargestellt als LSM ± SE. n = 20 Tiere/Gruppe.

Die folgenden Abbildungen zeigen den paarweisen Vergleich der mRNA-Expressionen für MR (Abbildung 15) und TNF-α (Abbildung 16), wobei die weiblichen Kontrolltiere signifikant höhere mRNA-Expressionen beider Gene aufwiesen als die weiblichen Tiere der DG-Gruppe und die männlichen Kontrolltiere. Darüber hinaus hatten die weiblichen Kontrolltiere tendenziell höhere TNF- α mRNA-Expressionen als die weiblichen Tiere der DA-Gruppe ($p = 0{,}1$; Abbildung 16).

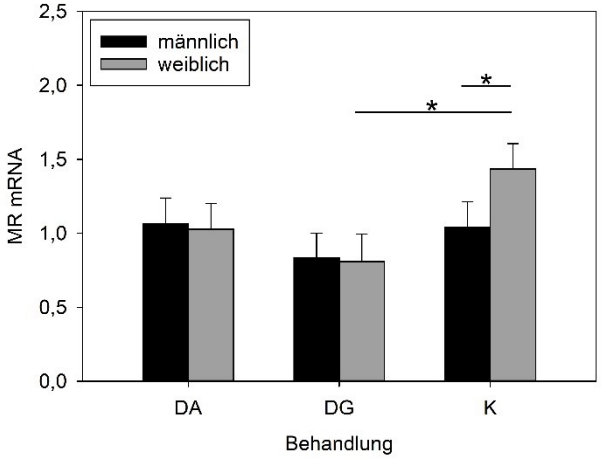


*Abbildung 15: Relative MR (mineralocorticoid receptor; NR3C2) mRNA-Expression in der Amygdala von männlichen und weiblichen Tieren der drei Behandlungsgruppen DA (Deprivation allein), DG (Deprivation in einer Gruppe mit Wurfgeschwistern) und K (Kontrolle, keine Deprivation) Die Ergebnisse sind dargestellt als LSM ± SE. Signifikante Unterschiede sind mit Asterisken gekennzeichnet (*p < 0,05; Tukey-Kramer-Test; n = 10 je Geschlecht und Gruppe).*

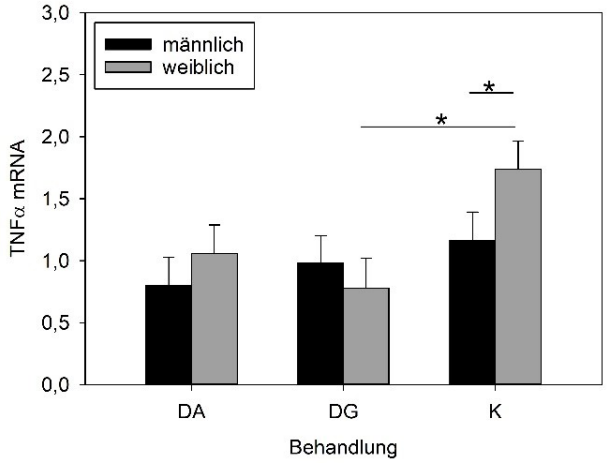


*Abbildung 16: Relative TNF-α (tumor necrosis factor-alpha; TNFA) mRNA-Expression in der Amygdala von männlichen und weiblichen Tieren der drei Behandlungsgruppen DA (Deprivation allein), DG (Deprivation in einer Gruppe mit Wurfgeschwistern) und K (Kontrolle, keine Deprivation) Die Ergebnisse sind dargestellt als LSM ± SE. Signifikante Unterschiede sind mit Asterisken gekennzeichnet (*p < 0,05; Tukey-Kramer-Test; n = 10 je Geschlecht und Gruppe).*

4.2.3.3 Präfrontaler Cortex

Im präfrontalen Cortex hatte die Behandlung einen signifikanten Effekt auf die MR ($F_{2;36} = 27{,}53$; $p < 0{,}001$), GR ($F_{2;36} = 35{,}24$; $p < 0{,}001$) und CRHR1 ($F_{2;36} = 14{,}15$; $p < 0{,}001$) mRNA-Expressionen, sowie einen tendenziellen Einfluss auf die mRNA-Expression des CRHR2-Gens ($F_{2;36} = 2{,}86$; $p = 0{,}07$). Darüber hinaus hatte das Geschlecht einen signifikanten Effekt auf die mRNA-Expression der Gene MR ($F_{1;36} = 8{,}08$; $p < 0{,}01$), GR ($F_{1;36} = 5{,}78$; $p < 0{,}05$) und OXTR ($F_{1;36} = 6{,}56$; $p < 0{,}05$) sowie in Tendenz auf CRHR1 ($F_{1;36} = 3{,}56$; $p = 0{,}07$). Zudem beeinflussten die geschlechtsspezifischen Behandlungseffekte signifikant die MR ($F_{2;36} = 10{,}53$; $p < 0{,}001$) und

GR ($F_{2;36} = 12{,}04$; $p < 0{,}001$) mRNA-Expression sowie tendenziell die CRHR1 ($F_{2;36} = 2{,}91$; $p = 0{,}07$) mRNA-Expression. Die Ergebnisse der F-Tests und der paarweisen Vergleiche der jeweiligen Gene sind in Tabelle 13 dargestellt.

Tabelle 13: Relative mRNA-Expression von HPA-Achsen-assoziierten Parametern im präfrontalen Cortex der Ferkel der verschiedenen Behandlungsgruppen

	Behandlungsgruppe			***p*-Werte (F-Test)**		
Parameter	**DA**	**DG**	**K**	**Behandlung**	**Geschlecht**	**Behandlung × Geschlecht**
MR	**0,62 ± 0,05[e]**	**0,64 ± 0,05[e]**	**1,12 ± 0,05[f]**	**<0,001**	**<0,01**	**<0,001**
GR	**0,54 ± 0,04[e]**	**0,54 ± 0,04[e]**	**0,98 ± 0,04[f]**	**<0,001**	**<0,05**	**<0,001**
AVPR1A	1,05 ± 0,14	1,05 ± 0,14	1,31 ± 0,14	0,350	0,738	0,277
OXTR	0,93 ± 0,06	0,85 ± 0,06	1,00 ± 0,06	0,184	**<0,05**	0,212
CRHR1	**0,66 ± 0,05[e]**	**0,66 ± 0,05[e]**	**1,01 ± 0,05[f]**	**<0,001**	0,067	0,067
CRHR2	0,70 ± 0,10	0,67 ± 0,10	1,02 ± 0,10	0,070	0,377	0,724
MR/GR-Quotient	1,23 ± 0,08	1,29 ± 0,08	1,17 ± 0,08	0,507	0,954	0,083

DA (Deprivation allein), DG (Deprivation in einer Gruppe von Wurfgeschwistern) und K (Kontrolle, keine Deprivation); MR (mineralocorticoid receptor; *NR3C2*), GR (glucocorticoid receptor; *NR3C1*), AVPR1A (arginine vasopressin receptor 1A), OXTR (oxytocin receptor), CRHR1/CRHR2 (corticotropin releasing hormone receptor 1/2). Die Daten sind dargestellt als LSM ± SE. Innerhalb einer Zeile werden signifikante Unterschiede durch unterschiedliche Buchstaben angezeigt ([e,f] $p < 0{,}001$; Tukey-Kramer-Test; n = 20 Tiere/Gruppe).

Im paarweisen Vergleich der MR, GR und CRHR1 mRNA-Expressionen zeigte sich, dass die DA- und DG-Gruppe signifikant geringere Expressionen aufwiesen als die Kontrollen (Tabelle 13). Dabei war dieser Effekt für die MR und CRHR1 mRNA-Expression sowohl bei den weiblichen als auch bei den männlichen Tieren nachweisbar, wie in Abbildung 16 A und 16 B dargstellt. Für die GR mRNA-Expression zeigten die weiblichen Tiere der DA- und DG-Gruppe ebenfalls eine signifikant geringere GR mRNA-Expression als die weiblichen Kontrolltiere (Abbildung 17 B). Bei den männlichen Tieren war die GR mRNA-Expression der einzel-deprivierten Ferkeln signifikant geringer als die der männlichen Kontrollen (Abbildung 17 B). Darüber hinaus waren die MR, GR und CRHR1 mRNA-Expressionen der männlichen Kontrolltiere signifikant geringer als die der weiblichen Kontrolltiere (Abbildung 17 A-C).

Die Analyse des CRHR2-Rezeptors erbrachte eine tendenziell geringere mRNA-Expression bei den Tieren beider Deprivationsgruppen verglichen mit den Kontrolltieren (DA vs. K, $p = 0{,}09$; DG vs. K, $p = 0{,}06$; Tabelle 13). Dabei war die CRHR2 mRNA-Expression bei den weiblichen Tieren der DA- und DG-Gruppe tendenziell geringer als bei den weiblichen

Kontrolltieren (DA vs. K, $p = 0{,}07$; DG vs. K, $p = 0{,}1$; Abbildung 17 D). Bei den männlichen Tieren war die CRHR2 mRNA-Expression der DG-Gruppe tendenziell geringer als die der männlichen Kontrolltiere ($p = 0{,}1$; Abbildung 17 D).

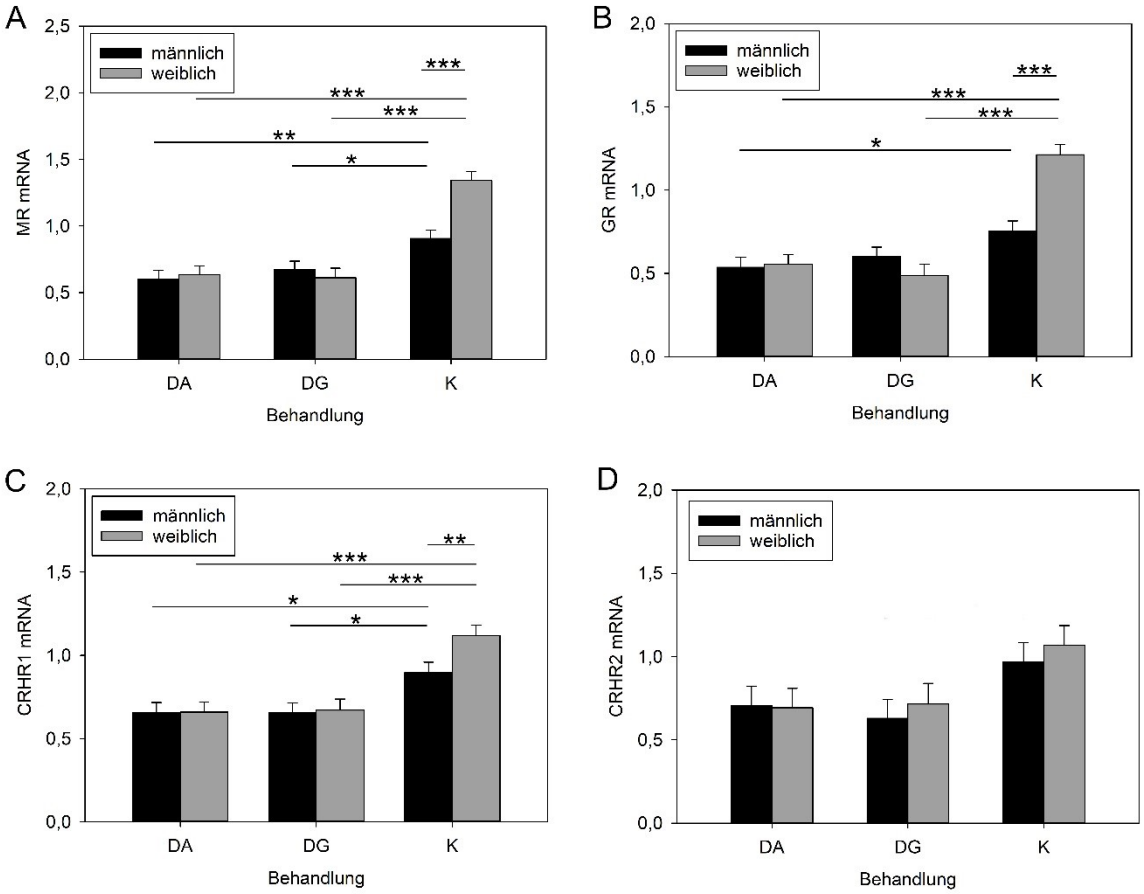


*Abbildung 17: Relative mRNA-Expressionen im PFC von männlichen und weiblichen Tieren der drei Behandlungsgruppen DA (Deprivation allein), DG (Deprivation in einer Gruppe mit Wurfgeschwistern) und K (Kontrolle, keine Deprivation) mit: A) MR (mineralocorticoid receptor; NR3C2); B) GR (glucocorticoid receptor; NR3C1); C CRHR1 (corticotropin-releasing hormone receptor 1); D) CRHR2 (corticotropin-releasing hormone receptor 2). Die Ergebnisse sind dargestellt als LSM ± SE. Signifikante Unterschiede sind mit Asterisken gekennzeichnet (*p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001; Tukey-Kramer-Test; n = 10 je Geschlecht und Gruppe).*

Im paarweisen Vergleich des OXTR-Gens zeigte sich bei den männlichen Kontrolltieren eine signifikant geringere mRNA-Expression verglichen mit den weiblichen Kontrolltieren, wie in Abbildung 18 dargestellt ist. Zudem war die mRNA-Expression bei den weiblichen Tieren der DG-Gruppe tendenziell geringer als bei den weiblichen Kontrollen ($p = 0{,}08$; Abbildung 18).

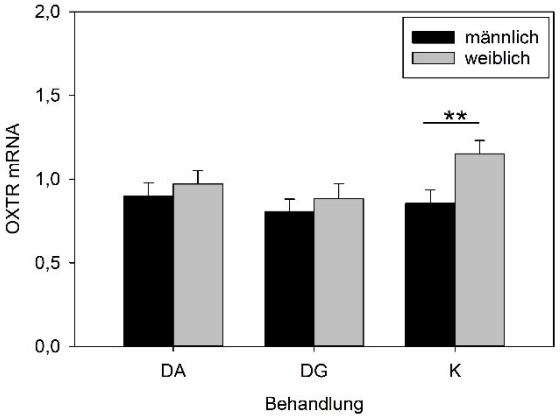


*Abbildung 18: Relative OXTR (Oxytocin receptor) mRNA-Expression im PFC von männlichen und weiblichen Tieren der drei Behandlungsgruppen DA (Deprivation allein), DG (Deprivation in einer Gruppe mit Wurfgeschwistern) und K (Kontrolle, keine Deprivation) Die Ergebnisse sind dargestellt als LSM ± SE. Signifikante Unterschiede sind mit Asterisken gekennzeichnet (**p < 0,01; Tukey-Kramer-Test; n = 10 je Geschlecht und Gruppe).*

4.2.3.4 *Hippocampus*

Tabelle 14 zeigt die Ergebnisse der statistischen Analyse für die im Hippocampus analysierten Gene. Die Art der Behandlung beeinflusste dabei signifikant die MR mRNA-Expression ($F_{2;36} = 6{,}13$; $p < 0{,}01$) welche bei den Tieren der DA-Gruppe signifikant geringer war als bei den Tieren der DG-Gruppe (Tabelle 14). Wie in Abbildung 19 A dargestellt, waren vor allem die männlichen Tiere der DA-Gruppe von diesem Effekt betroffen, die, verglichen mit den männlichen Tieren der DG-Gruppe eine signifikant geringere und verglichen mit den männlichen Tieren der Kontrolle eine in Tendenz geringere ($p = 0{,}07$) mRNA-Expression aufwiesen. Zudem beeinflusste das Geschlecht signifikant die BDNF mRNA-Expression ($F_{1;36} = 4{,}54$; $p < 0{,}05$). Diese war bei den männlichen Tieren signifikant geringer als bei den weiblichen Tieren (1,19 ± 1,10 vs. 1,51 ± 1,11; $p < 0{,}05$). Darüber hinaus zeigte sich im paarweisen Vergleich des MR/GR-Quotienten, dass männliche Tiere der DG-Gruppe ein tendenziell höheres Verhältnis beider Rezeptoren hatten als die weiblichen Tiere der gleichen Behandlungsgruppe ($p = 0{,}07$; Abbildung 19 B).

Tabelle 14: Relative mRNA-Expression von HPA-Achsen-assoziierten Parametern und Cytokinen im Hippocampus der Ferkel der verschiedenen Behandlungsgruppen

Parameter	Behandlungsgruppe			*p*-Werte (F-Test)		
	DA	DG	K	Behandlung	Geschlecht	Behandlung × Geschlecht
MR	**1,00 ± 0,09**[c]	**0,65 ± 0,09**[d]	0,79 ± 0,09	**<0,01**	0,452	0,248
GR	0,93 ± 0,08	0,99 ± 0,08	0,92 ± 0,08	0,823	0,358	0,293
AVPR1A	1,37 ± 0,28	1,90 ± 0,29	1,69 ± 0,28	0,315	0,566	0,529
OXTR	1,24 ± 0,15	1,31 ± 0,15	1,28 ± 0,15	0,946	0,250	0,596
BDNF	1,13 ± 0,13	1,54 ± 0,13	1,38 ± 0,13	0,100	**<0,05**	0,914
IL-1β	1,07 ± 0,19	0,89 ± 0,19	1,36 ± 0,19	0,216	0,360	0,930
MR/GR-Quotient	1,32 ± 0,14	0,93 ± 0,15	0,93 ± 0,14	0,108	0,117	0,304

DA (Deprivation allein), DG (Deprivation in einer Gruppe von Wurfgeschwistern) und K (Kontrolle, keine Deprivation); MR (mineralocorticoid receptor; *NR3C2*), GR (glucocorticoid receptor; *NR3C1*), AVPR1A (arginine vasopressin receptor 1A), OXTR (oxytocin receptor), CRHR1/CRHR2 (corticotropin releasing hormone receptor 1/2), BDNF (brain-derived neurotrophic factor), IL-1β (interleukin 1 beta; *IL1B*). Die Daten sind dargestellt als LSM ± SE. Innerhalb einer Zeile werden signifikante Unterschiede durch unterschiedliche Buchstaben angezeigt ([c,d] $p < 0{,}01$; Tukey-Kramer-Test; n = 20 Tiere/Gruppe).

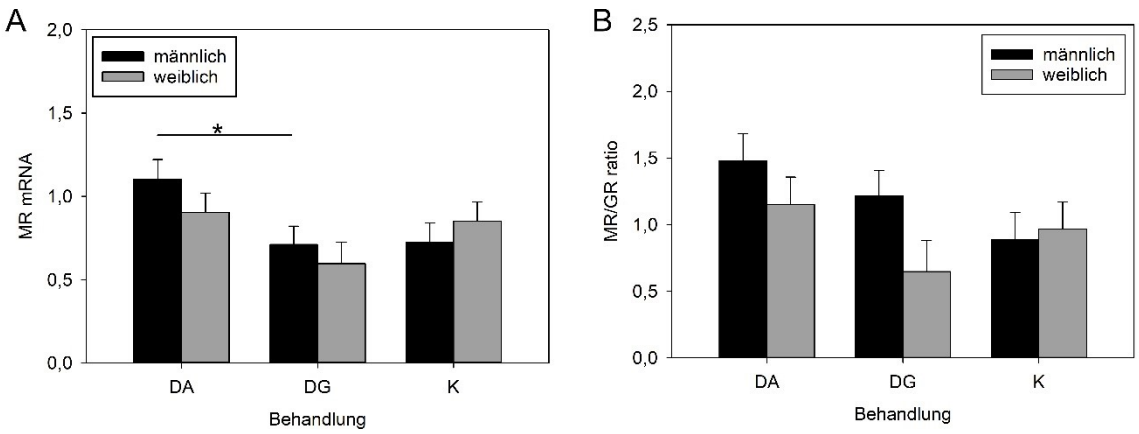


*Abbildung 19: Relative mRNA-Expressionen im Hippocampus von männlichen und weiblichen Tieren der drei Behandlungsgruppen DA (Deprivation allein), DG (Deprivation in einer Gruppe mit Wurfgeschwistern) und K (Kontrolle, keine Deprivation) mit: A) MR (mineralocorticoid receptor; NR3C2); B) GR/MR Quotienten. Die Ergebnisse sind dargestellt als LSM ± SE. Signifikante Unterschiede sind mit Asterisken gekennzeichnet (*p < 0,05; Tukey-Kramer-Test; n = 10 je Geschlecht und Gruppe).*

4.2.4 Milz-Leukozyten

4.2.4.1 Zellzusammensetzung in der Milz

Tabelle 15 zeigt die Ergebnisse der statistischen Analyse der Zusammensetzung der Zellen in der Milz. Es konnte kein signifikanter Effekt der Behandlung, des Geschlechts oder der Interaktion „Behandlung × Geschlecht“ gefunden werden.

Tabelle 15: Einfluss der drei Behandlungsvarianten auf die Zellzusammensetzung in der Milz

	Behandlungsgruppe			***p*-Werte (F-Test)**		
Zelltyp	**DA**	**DG**	**K**	**Behandlung**	**Geschlecht**	**Behandlung × Geschlecht**
$CD3^+$ (%)	47,48 ± 1,36	47,74 ± 1,37	44,08 ± 1,36	0,154	0,379	0,677
$CD4^+$ (%)	23,24 ± 1,38	22,76 ± 1,39	22,65 ± 1,38	0,915	0,512	0,811
$CD8^+$ (%)	10,71 ± 0,77	11,69 ± 0,77	10,75 ± 0,77	0,433	0,825	0,955
$CD4^+CD8^+$ (%)	3,48 ± 0,30	3,81 ± 0,31	3,26 ± 0,30	0,452	0,512	0,695
$CD14^+$ (%)	2,94 ± 0,44	2,48 ± 0,44	2,62 ± 0,44	0,486	0,284	0,305
$CD21^+$ (%)	7,75 ± 0,97	7,15 ± 0,98	8,07 ± 0,97	0,683	0,848	0,166

DA (Deprivation allein), DG (Deprivation in einer Gruppe von Wurfgeschwistern) und K (Kontrolle, keine Deprivation). Die Daten sind dargestellt als LSM ± SE. n = 22 je Behandlungsgruppe

4.2.4.2 Proliferationsvermögen der Milzzellen

Es konnten keine signifikanten Effekte auf das Proliferationsvermögen der Milzzellen nach der ConA- oder LPS-Stimulation gefunden werden (Anhang 10, Anhang 11).

Im MTT-Test zeigte sich ein tendenzieller Behandlungseffekt auf den Proliferationsindex (PI) von LPS-stimulierten Milzzellen ($F_{2;40} = 2{,}98$; $p = 0{,}062$), wobei die Milzzellen von männlichen Tieren der DA-Gruppe einen tendenziell geringeren PI aufwiesen als die Milzzellen der männlichen Kontrolltiere (1,12 ± 0,10 vs. 1,39 ± 0,10; $p = 0{,}06$).

Es konnten keine Effekte des Geschlechts ($F_{1;40} = 1{,}59$; $p = 0{,}215$) oder der Interaktion „Behandlung × Geschlecht“ ($F_{2;40} = 1{,}22$; $p = 0{,}305$) gefunden werden. Der PI von ConA-stimulierten Milzzellen war nicht signifikant beeinflusst durch die Effekte „Behandlung“ ($F_{2;40} = 0{,}38$; $p = 0{,}687$), „Geschlecht“ ($F_{1;40} = 1{,}14$; $p = 0{,}293$) oder die Interaktion „Behandlung × Geschlecht“ ($F_{2;40} = 1{,}14$; $p = 0{,}328$).

4.3 LPS-induzierte Immunstimulation zur Untersuchung langfristiger Effekte der frühpostnatalen Deprivation auf die Immunkompetenz

Zur Untersuchung der Effekte der Deprivationsbehandlung auf die Immunkompetenz wurde das Immunsystem der Ferkel am 43. LT mit LPS stimuliert und die Ferkel auf das Vorhandensein von Krankheitssymptomen beobachtet. Zudem wurden Blutproben und 24 h nach der LPS-Applikation Gewebeproben von allen Tieren entnommen, um physiologische und immunologische Parameter zu determinieren.

4.3.1 Krankheitssymptome

Nach erfolgter LPS-Applikation wurden die Ferkel über einen Zeitraum von 6 h auf das erstmalige Auftreten und die Häufigkeit bzw. Dauer des Vorhandenseins von Krankheitssymptomen beobachtet. Im zeitlichen Verlauf konnte dabei zunächst ein signifikanter Anstieg und später eine deutliche Abschwächung zurück auf das Ausgangsniveau der folgenden untersuchten Krankheitsanzeichen nachgewiesen werden: Somnolenz ($F_{5;232} = 96{,}53$; $p < 0{,}001$), Dyspnoe ($F_{5;261} = 51{,}74$; $p < 0{,}001$), Kreislaufprobleme ($F_{5;257} = 56{,}61$; $p < 0{,}001$), Zittern ($F_{5;250} = 29{,}29$; $p < 0{,}001$), Speicheln ($F_{5;249} = 10{,}61$; $p < 0{,}001$), Leerkauen ($F_{5;252} = 8{,}47$; $p < 0{,}001$), Erbrechen ($F_{5;260} = 11{,}53$; $p < 0{,}001$), Diarrhö ($F_{5;260} = 2{,}93$; $p < 0{,}05$), Aktivität ($F_{5;202} = 34{,}44$; $p < 0{,}001$), Inaktivität ($F_{5;174} = 12{,}21$; $p < 0{,}001$) und Rektaltemperatur ($F_{4;186} = 16{,}48$; $p < 0{,}001$). Zudem beeinflusste die Art der Behandlung signifikant die Krankheitssymptome Somnolenz ($F_{2;82} = 3{,}61$; $p < 0{,}05$) und Dyspnoe ($F_{2;21} = 3{,}73$; $p < 0{,}05$) sowie in Tendenz die Inaktivität ($F_{2;60} = 2{,}53$; $p = 0{,}09$). Darüber hinaus konnte für die geschlechtsspezifischen Behandlungseffekte im zeitlichen Verlauf ein tendenzieller Effekt auf die Dyspnoe ($F_{10;270} = 1{,}80$; $p = 0{,}06$) nachgewiesen werden. Die Rektaltemperatur der Ferkel wurde tendenziell durch das Geschlecht beeinflusst ($F_{1;186} = 3{,}27$; $p = 0{,}07$), wobei diese bei den männlichen Ferkeln tendenziell niedriger war als bei den weiblichen Ferkeln (39,19 ± 0,12 vs. 39,48 ± 0,12; $p = 0{,}07$). Es konnten keine weiteren Effekte gefunden werden (Anhang 12).

In Abbildung 20 sind die Ergebnisse des paarweisen Vergleiches der Krankheitssymptome Dyspnoe und Somnolenz stundenweise über den Beobachtungszeitraum von 6h dargestellt. Dabei zeigten die Tiere der DA- und DG-Gruppe ein signifikant häufigeres Auftreten des Symptoms Dyspnoe als die Tiere der Kontrollgruppe,

2 h bzw. 3 h nach der LPS-Applikation (Abbildung 20 A). Ähnliche Ergebnisse konnten für die Somnolenz gefunden werden, wobei diese 2 h nach der LPS-Applikation bei den Tieren der DG-Gruppe signifikant und bei den Tieren der DA-Gruppe tendenziell ($p = 0{,}06$) höher war als bei den Kontrolltieren (Abbildung 20 B).

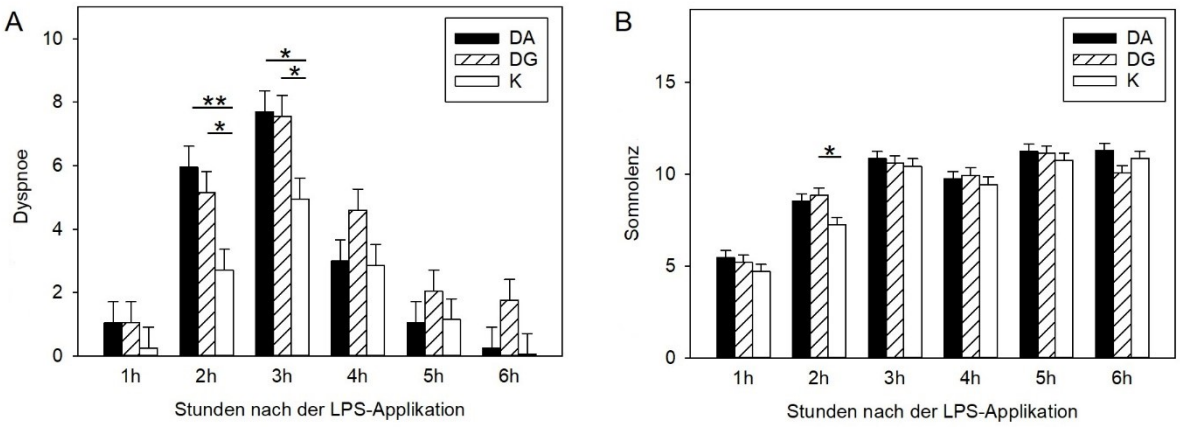


Abbildung 20: Häufigkeit (%) des Auftretens von Dyspnoe (A) und Somnolenz (B) in den drei Behandlungsgruppen DA (Deprivation allein), DG (Deprivation in einer Gruppe mit Wurfgeschwistern) und K (Kontrolle, keine Deprivation) zu verschiedenen Zeitpunkten nach der LPS-Applikation. Die Ergebnisse sind dargestellt als LSM ± SE. Signifikante Unterschiede sind mit Asterisken gekennzeichnet ($p < 0{,}05$; **$p < 0{,}01$; Tukey-Kramer-Test; $n = 20$ Tiere je Behandlungsgruppe).*

4.3.2 Cortisol und Cytokine im Plasma

Die statistische Analyse zeigte, dass der Zeitpunkt der Probenentnahme einen signifikanten Effekt hatte, da die Konzentrationen von Cortisol ($F_{4;186} = 163{,}01$; $p < 0{,}001$), TNF-α ($F_{4;186} = 69{,}22$; $p < 0{,}001$), IL-6 ($F_{4;186} = 28{,}57$; $p < 0{,}001$), IL-10 ($F_{4;186} = 59{,}0$; $p < 0{,}001$) sowie das Verhältnis der Cytokine TNF-α/IL-10 ($F_{4;186} = 83{,}06$; $p < 0{,}001$) und IL-6/IL-10 ($F_{4;186} = 33{,}95$; $p < 0{,}001$) durch die Applikation von LPS im zeitlichen Verlauf auf einen Wert über deren Normalniveau angehoben wurden. Darüber hinaus war die TNF-α Konzentration im Blutplasma der Ferkel signifikant durch die Behandlung im zeitlichen Verlauf ($F_{8;186} = 2{,}21$; $p < 0{,}05$) und die geschlechtsspezifischen Behandlungseffekte im zeitlichen Verlauf ($F_{8;186} = 2{,}71$; $p < 0{,}01$) beeinflusst. Die Ergebnisse der statistischen Analyse für alle untersuchten Parameter im Blutplasma der Ferkel sind in der Tabelle im Anhang 13 aufgelistet.

Abbildung 21 zeigt die Ergebnisse des paarweisen Vergleiches zwischen den Geschlechtern der drei Behandlungsgruppen für die unterschiedlichen Cytokine zum Zeitpunkt der maximalen Freisetzung nach der LPS-Applikation. Wie in Abbildung 21 A dargestellt, waren 1 h nach LPS-Applikation die TNF-α-Konzentrationen der männlichen Ferkel der DA- und DG-Gruppe signifikant geringer als die der männlichen Kontrolltiere. Zudem hatten die männlichen Kontrolltiere signifikant höhere TNF-α-Konzentrationen als die weiblichen Tiere der Kontrollgruppe (Abbildung 21 A). Für die IL-10-Konzentrationen konnten 1 h nach der LPS-Applikation ein signifikanter Unterschied zwischen den männlichen und weiblichen Tieren der DG-Gruppe nachgewiesen werden, sowie signifikant geringere IL-10-Konzentrationen in den männlichen Tieren der DG-Gruppe verglichen mit den männlichen Kontrollen (Abbildung 21 B). Bei der Betrachtung des TNF-α/IL-10-Quotienten (Abbildung 21 C) zeigte sich, dass 1 h nach der LPS-Applikation die männlichen DA-Tiere ein signifikant geringeres Verhältnis beider Cytokine aufwiesen als die männlichen Tiere der DG- und K-Gruppe. Darüber hinaus hatten die männlichen Kontrollen einen signifikant größeren TNF-α/IL-10- Quotienten als die weiblichen Kontrolltiere, wie in Abbildung 21 C dargestellt ist. Ebenfalls geschlechtsspezifische Effekte zeigten sich für die IL6-Konzentrationen, wobei diese 3 h nach der LPS-Applikation in den männlichen Kontrolltieren signifikant höher waren als in den weiblichen Tieren der gleichen Gruppe (Abbildung 21 D).

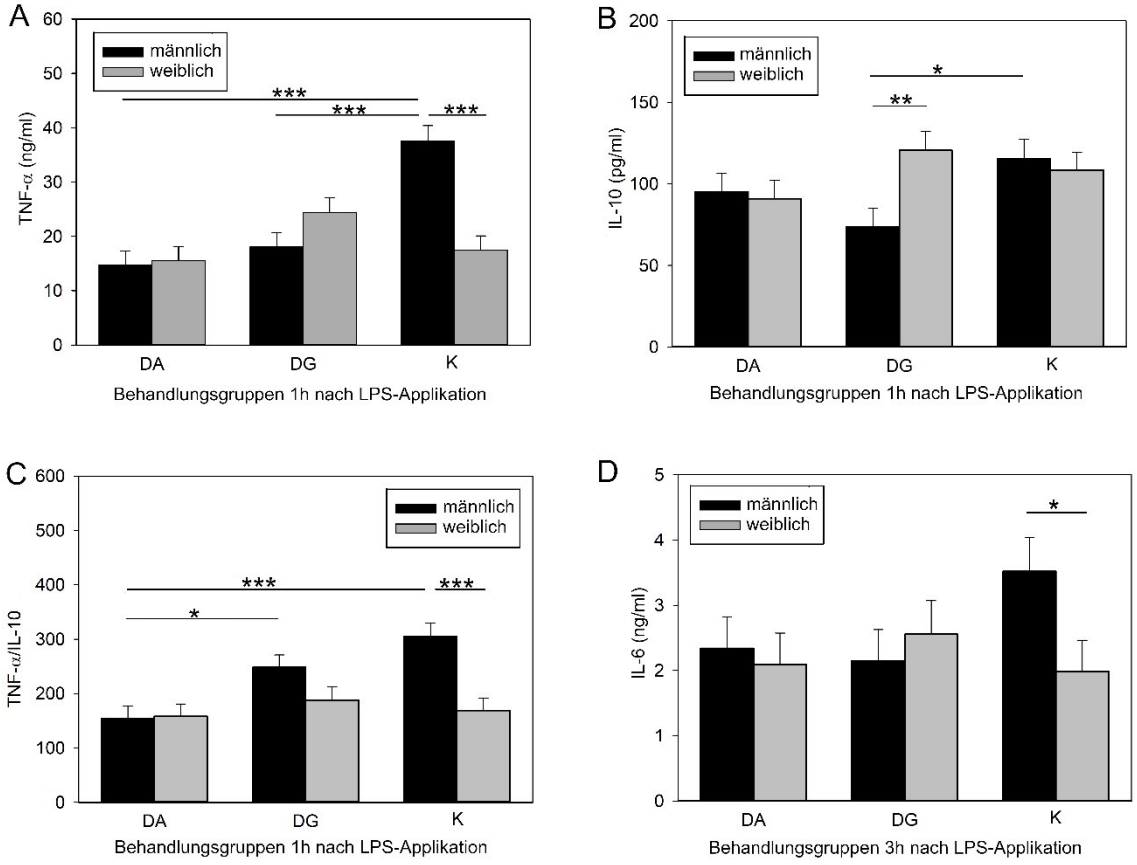


*Abbildung 21: Cytokin-Konzentrationen im Plasma von männlichen und weiblichen Tieren der drei Behandlungsgruppen DA (Deprivation allein), DG (Deprivation in einer Gruppe mit Wurfgeschwistern) und K (Kontrolle, keine Deprivation) nach der LPS-Applikation zum Zeitpunkt der maximalen Freisetzung mit: TNF-α (A), IL-10 (B), TNF-α/IL-10-Quotient (C) und IL-6 (D). Die Ergebnisse sind dargestellt als LSM ± SE. Signifikante Unterschiede sind mit Asterisken gekennzeichnet (*p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001; Tukey-Kramer-Test; n = 7-8 Tiere je Behandlungsgruppe und Geschlecht).*

4.3.3 Genexpression

4.3.3.1 Hypothalamus

Tabelle 16 zeigt die Ergebnisse der statistischen Auswertung, für die im Hypothalamus untersuchten Gene. Für die TNF-α mRNA-Expression konnte ein signifikanter Behandlungseffekt nachgewiesen werden ($F_{2;22} = 7{,}51$; $p < 0{,}01$), wobei die Tiere beider Deprivationsgruppen eine signifikant geringere mRNA-Expression aufwiesen als die Tiere der Kontrollgruppe. Wie in Abbildung 22 dargestellt, zeigte sich dieser Effekt insbesondere bei den männlichen Tieren der DG-Gruppe, die eine signifikant geringere TNF-α mRNA Expression hatten als die männlichen Kontrolltiere. Darüber hinaus konnte ein tendenzieller Geschlechtseffekt auf die TNF-α ($F_{1;22} = 3{,}58$; $p = 0{,}07$) und MR ($F_{1;22} = 3{,}98$; $p = 0{,}06$) mRNA-Expression nachgewiesen werden, wobei die männlichen Ferkel sowohl eine höhere TNF-α (1,41 ± 0,15 vs. 1,0 ± 0,15) als auch eine höhere MR (1,22 ± 0,16 vs. 0,77 ± 0,16) mRNA-Expression als die weiblichen Ferkel hatten.

Tabelle 16: Relative mRNA-Expression von HPA-Achsen-assoziierten Parametern und Cytokinen im Hypothalamus der Ferkel der verschiedenen Behandlungsgruppen 24 h nach LPS-Applikation

	Behandlungsgruppe			***p*-Werte (F-Test)**		
Parameter	**DA**	**DG**	**K**	**Behandlung**	**Geschlecht**	**Behandlung × Geschlecht**
MR	1,04 ± 0,20	0,84 ± 0,20	1,12 ± 0,19	0,595	0,058	0,423
GR	1,01 ± 0,23	0,93 ± 0,23	1,16 ± 0,22	0,772	0,517	0,926
AVPR1A	1,24 ± 0,44	1,26 ± 0,44	1,88 ± 0,43	0,558	0,688	0,958
OXTR	1,04 ± 0,38	1,32 ± 0,37	1,99 ± 0,35	0,205	0,413	0,595
CRHR1	1,13 ± 0,18	1,03 ± 0,18	1,24 ± 0,17	0,711	0,828	0,188
CRHR2	0,95 ± 0,19	1,05 ± 0,19	1,23 ± 0,18	0,567	0,874	0,841
TNF-α	**1,02 ± 0,19**[a]	**0,83 ± 0,19**[c]	**1,77 ± 0,18**[b,d]	**<0,01**	0,072	0,623
IL-6	1,36 ± 0,20	0,95 ± 0,20	1,35 ± 0,19	0,260	0,841	0,430
IL-10	0,70 ± 0,37	0,23 ± 0,37	0,77 ± 0,37	0,436	0,450	0,252
MR/GR-Quotient	1,75 ± 1,21	1,06 ± 1,21	2,80 ± 1,17	0,589	0,104	0,456

DA (Deprivation allein), DG (Deprivation in einer Gruppe von Wurfgeschwistern) und K (Kontrolle, keine Deprivation); MR (*mineralocorticoid receptor; NR3C2*), GR (*glucocorticoid receptor; NR3C1*), AVPR1A (*arginine vasopressin receptor 1A*), OXTR (*oxytocin receptor*), CRHR1/CRHR2 (*corticotropin releasing hormone receptor 1/2*), TNF-α (*tumor necrosis factor-alpha; TNFA*), IL-6 (*interleukin-6; IL6*), IL-10 (*interleukin-10; IL10*). Die Daten sind dargestellt als LSM ± SE. Innerhalb einer Zeile werden signifikante Unterschiede durch unterschiedliche Buchstaben angezeigt ([a,b] $p < 0{,}05$; [c,d] $p < 0{,}01$; Tukey-Kramer-Test; n = 14 Tiere je Gruppe).

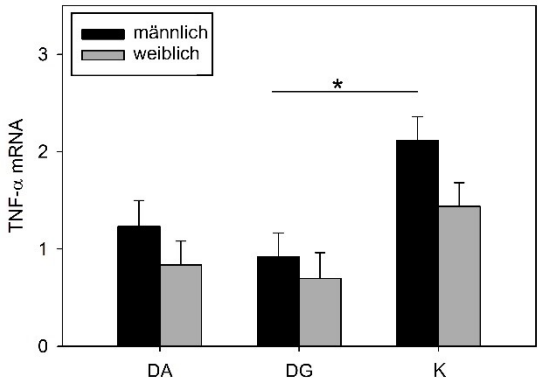


*Abbildung 22: Relative TNF-α mRNA Expression im Hypothalamus von männlichen und weiblichen Tieren der drei Behandlungsgruppen DA (Deprivation allein), DG (Deprivation in einer Gruppe mit Wurfgeschwistern) und K (Kontrolle, keine Deprivation) 24 h nach der LPS-Applikation. Die Ergebnisse sind dargestellt als LSM ± SE. Signifikante Unterschiede sind mit Asterisken gekennzeichnet (*p < 0,05; Tukey-Kramer-Test; n = 7 Tiere je Behandlungsgruppe und Geschlecht).*

4.3.3.2 *Amygdala*

In der Amygdala zeigte die Art der Behandlung einen signifikanten Effekt auf die MR ($F_{2;23} = 9{,}74$; $p < 0{,}001$), GR ($F_{2;23} = 3{,}72$; $p < 0{,}05$) und die IL-10 ($F_{2;23} = 7{,}06$; $p < 0{,}01$) mRNA-Expression. Zudem beeinflusste das Geschlecht signifikant die Expression der Gene MR ($F_{1;232} = 6{,}99$; $p < 0{,}05$), IL-10 ($F_{1;23} = 4{,}67$; $p < 0{,}05$) sowie den MR/GR-Quotienten ($F_{1;23} = 7{,}23$; $p < 0{,}05$). Für die IL-10 mRNA-Expression zeigten sich zudem signifikante geschlechtsspezifische Behandlungseffekte ($F_{1;22} = 4{,}29$; $p < 0{,}05$). Die Ergebnisse der einzelnen in der Amygdala untersuchten Gene sind in Tabelle 17 aufgelistet.

Tabelle 17: Relative mRNA-Expression von HPA-Achsen-assoziierten Parametern und Cytokinen in der Amygdala der Ferkel der verschiedenen Behandlungsgruppen 24 h nach LPS-Applikation

	Behandlungsgruppe			***p*-Werte (F-Test)**		
Parameter	**DA**	**DG**	**K**	**Behandlung**	**Geschlecht**	**Behandlung × Geschlecht**
MR	1,09 ± 0,11	**0,70 ± 0,12**[e]	**1,42 ± 0,11**[f]	**<0,001**	**<0,05**	0,211
GR	1,10 ± 0,17	1,09 ± 0,18	1,70 ± 0,17	**<0,05**	0,567	0,965
AVPR1A	1,17 ± 0,19	1,03 ± 0,20	1,52 ± 0,19	0,230	0,171	0,607
OXTR	0,85 ± 0,25	0,89 ± 0,25	1,63 ± 0,25	0,102	0,818	0,625
CRHR1	1,32 ± 0,13	1,14 ± 0,14	1,44 ± 0,13	0,332	0,104	0,600
CRHR2	1,05 ± 0,11	0,82 ± 0,11	0,97 ± 0,11	0,272	0,291	0,387
TNF-α	1,11 ± 0,17	0,94 ± 0,18	1,42 ± 0,17	0,162	0,856	0,670
IL-6	1,11 ± 0,28	0,72 ± 0,29	1,39 ± 0,28	0,167	0,424	0,577
IL-10	1,35 ± 0,22	**0,87 ± 0,22**[c]	**2,01 ± 0,22**[d]	**<0,01**	**<0,05**	**<0,05**
MR/GR-Quotient	1,03 ± 0,15	0,88 ± 0,16	0,95 ± 0,15	0,782	**<0,05**	0,507

DA (Deprivation allein), DG (Deprivation in einer Gruppe von Wurfgeschwistern) und K (Kontrolle, keine Deprivation); MR (*mineralocorticoid receptor; NR3C2*), GR (*glucocorticoid receptor; NR3C1*), AVPR1A (arginine vasopressin receptor 1A), OXTR (oxytocin receptor), CRHR1/CRHR2 (*corticotropin releasing hormone receptor 1/2*), TNF-α (*tumor necrosis factor-alpha; TNFA*), IL-6 (interleukin-6; IL6), IL-10 (*interleukin-10; IL10*). Die Daten sind dargestellt als LSM ± SE. Innerhalb einer Zeile werden signifikante Unterschiede durch unterschiedliche Buchstaben angezeigt ([c,d] $p < 0{,}01$; [e,f] $p < 0{,}001$; Tukey-Kramer-Test; n = 14 Tiere/Gruppe).

Im paarweisen Vergleich zeigte sich für das MR-Gen, dass die Tiere der DG-Gruppe eine signifikant geringere mRNA-Expression aufwiesen als die Kontrolltiere (Tabelle 17), wobei dieser Effekt insbesondere bei den männlichen Tieren nachgewiesen werden konnte. Hier zeigten die männlichen Tiere der DG-Gruppe signifikant und die männlichen Tiere der DA-Gruppe tendenziell ($p = 0{,}1$) geringere MR mRNA-Expressionen als die männlichen Kontrollen (Abbildung 23 A). Zudem exprimierten die männlichen Kontrollen tendenziell mehr MR mRNA als die weiblichen Kontrolltiere ($p = 0{,}08$; Abbildung 23 A). Wie in Tabelle 17 ersichtlich, war auch die IL-10 mRNA-Expression bei den Tieren der DG-Gruppe signifikant geringer als bei den Kontrollen. Dabei zeigten die weiblichen Tiere der DG-Gruppe eine signifikant und die weiblichen Tiere der DA-Gruppe eine tendenziell ($p = 0{,}05$) geringere Expression als die weiblichen Tiere der Kontrollgruppe (Abbildung 23 B). Ferner hatten die weiblichen Tiere der Kontrollgruppe eine signifikant höhere IL-10 mRNA-Expression als die männlichen Tiere der Kontrollgruppe (Abbildung 23 B).

Darüber hinaus konnte im paarweisen Vergleich ein tendenzieller Effekt der Behandlung auf die OXTR mRNA-Expression nachgewiesen werden, welche in den Tieren der DA-Gruppe niedriger war als in den Kontrollen ($p = 0{,}09$; Tabelle 17), sowie eine tendenziell geringere GR mRNA-Expression in den Tieren der DA- und DG-Gruppe verglichen mit den Kontrollieren (beide $p = 0{,}06$; Tabelle 17).

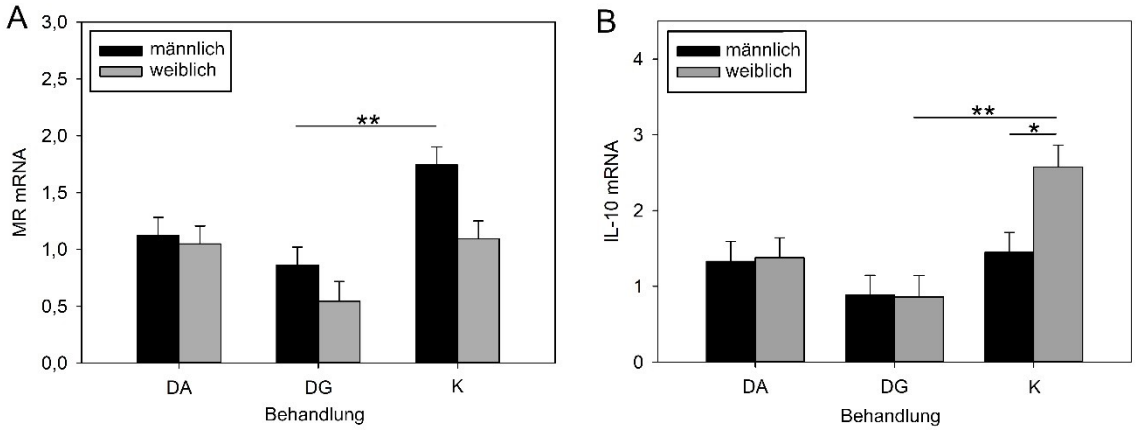


*Abbildung 23: Relative mRNA Expressionen in der Amygdala von männlichen und weiblichen Tieren der drei Behandlungsgruppen DA (Deprivation allein), DG (Deprivation in einer Gruppe mit Wurfgeschwistern) und K (Kontrolle, keine Deprivation) 24 h nach der LPS-Applikation mit: A) MR (mineralocorticoid receptor; NR3C2), B) IL-10 (interleukin-10; IL10). Die Ergebnisse sind dargestellt als LSM ± SE. Signifikante Unterschiede sind mit Asterisken gekennzeichnet (*p < 0,05; **p < 0,01; Tukey-Kramer-Test; n = 7 Tiere je Behandlungsgruppe und Geschlecht).*

4.3.3.3 *Präfrontaler Cortex*

Im präfrontalen Cortex zeigte die statistische Analyse signifikante Behandlungseffekte für die Gene MR ($F_{2;35} = 10{,}12$; $p < 0{,}001$), GR ($F_{2;35} = 7{,}46$; $p < 0{,}01$) und CRHR1 ($F_{2;35} = 4{,}02$; $p < 0{,}05$). Zudem wirkte sich das Geschlecht signifikant auf die mRNA-Expression von GR ($F_{1;35} = 5{,}73$; $p < 0{,}05$) und die Interaktion „Behandlung × Geschlecht" sich signifikant auf die mRNA-Expression von MR ($F_{2;35} = 3{,}90$; $p < 0{,}05$), GR ($F_{2;35} = 19{,}85$; $p < 0{,}001$), CRHR1 ($F_{2;35} = 7{,}15$; $p < 0{,}01$) und CRHR2 ($F_{2;35} = 3{,}84$; $p < 0{,}05$) aus. Die Ergebnisse der F-Tests und der paarweisen Vergleiche der jeweiligen Gene sind in Tabelle 18 dargestellt. Dabei zeigte sich, dass die mRNA-Expression der Gene MR, GR und CRHR1 in den Tieren der Deprivationsgruppen signifikant geringer war als in den Tieren der Kontrollgruppe (alle $p < 0{,}05$; Tabelle 18).

Tabelle 18: Relative mRNA-Expression von HPA-Achsen-assoziierten Parametern und Cytokinen im präfrontalen Cortex der Ferkel der verschiedenen Behandlungsgruppen 24 h nach LPS-Applikation

	Behandlungsgruppe			***p*-Werte (F-Test)**		
Parameter	**DA**	**DG**	**K**	**Behandlung**	**Geschlecht**	**Behandlung × Geschlecht**
MR	**0,74 ± 0,06[a]**	**0,73 ± 0,06[a]**	**1,07 ± 0,06[b]**	**<0,001**	0,935	**<0,05**
GR	**0,59 ± 0,06[a]**	**0,65 ± 0,06[a]**	**0,93 ± 0,06[b]**	**<0,01**	**<0,05**	**<0,001**
AVPR1A	1,05 ± 0,12	0,96 ± 0,12	1,10 ± 0,12	0,711	0,892	0,826
OXTR	0,82 ± 0,09	0,85 ± 0,09	0,75 ± 0,09	0,732	0,854	0,309
CRHR1	**0,68 ± 0,06[a]**	**0,68 ± 0,06[a]**	**0,91 ± 0,06[b]**	**<0,05**	0,831	**<0,01**
CRHR2	1,01 ± 0,07	0,89 ± 0,07	1,00 ± 0,07	0,448	0,217	**<0,05**
MR/GR-Quotient	1,25 ± 0,11	1,14 ± 0,11	1,25 ± 0,11	0,714	0,129	0,374

DA (Deprivation allein), DG (Deprivation in einer Gruppe von Wurfgeschwistern) und K (Kontrolle, keine Deprivation); MR (*mineralocorticoid receptor*; *NR3C2*), GR (*glucocorticoid receptor*; *NR3C1*), AVPR1A (*arginine vasopressin receptor 1A*), OXTR (*oxytocin receptor*), CRHR1/CRHR2 (*corticotropin releasing hormone receptor 1/2*). Die Daten sind dargestellt als LSM ± SE. Innerhalb einer Zeile werden signifikante Unterschiede durch unterschiedliche Buchstaben angezeigt ([a,b] $p < 0{,}05$; Tukey-Kramer-Test; n = 20 Tiere/Gruppe).

Darüber hinaus konnte nachgewiesen werden, dass die mRNA-Expression im präfrontalen Cortex vor allem bei den weiblichen Tieren beeinflusst wurde. Wie in Abbildung 24 A dargestellt, zeigten die weiblichen Tiere beider Deprivationsgruppen eine signifikant geringere MR mRNA-Expression als die weiblichen Kontrolltiere (DA vs. K, $p < 0{,}01$; DG vs. K, $p < 0{,}001$). Ähnliche Ergebnisse wurden für GR (DA, DG vs. K, $p < 0{,}001$) und CRHR1 (DA, DG vs. K, $p < 0{,}01$) gefunden, die beide bei den weiblichen Tieren der DA- und DG-Gruppe signifikant geringer exprimiert wurden als bei den weiblichen Tieren der Kontrollen

(Abbildung 24 B-C). Des Weiteren exprimierten die männlichen Tiere der Kontrollgruppe signifikant weniger GR ($p < 0{,}001$; Abbildung 24 B) und CRHR1 ($p < 0{,}05$; Abbildung 24 C) mRNA als die weiblichen Tiere derselben Gruppe. Für das CRHR2 Gen erbrachte der paarweise Vergleich eine tendenziell höhere mRNA-Expression der männlichen verglichen mit den weiblichen Tieren der DA-Gruppe ($p = 0{,}06$), wie in Abbildung 24 D dargestellt ist.

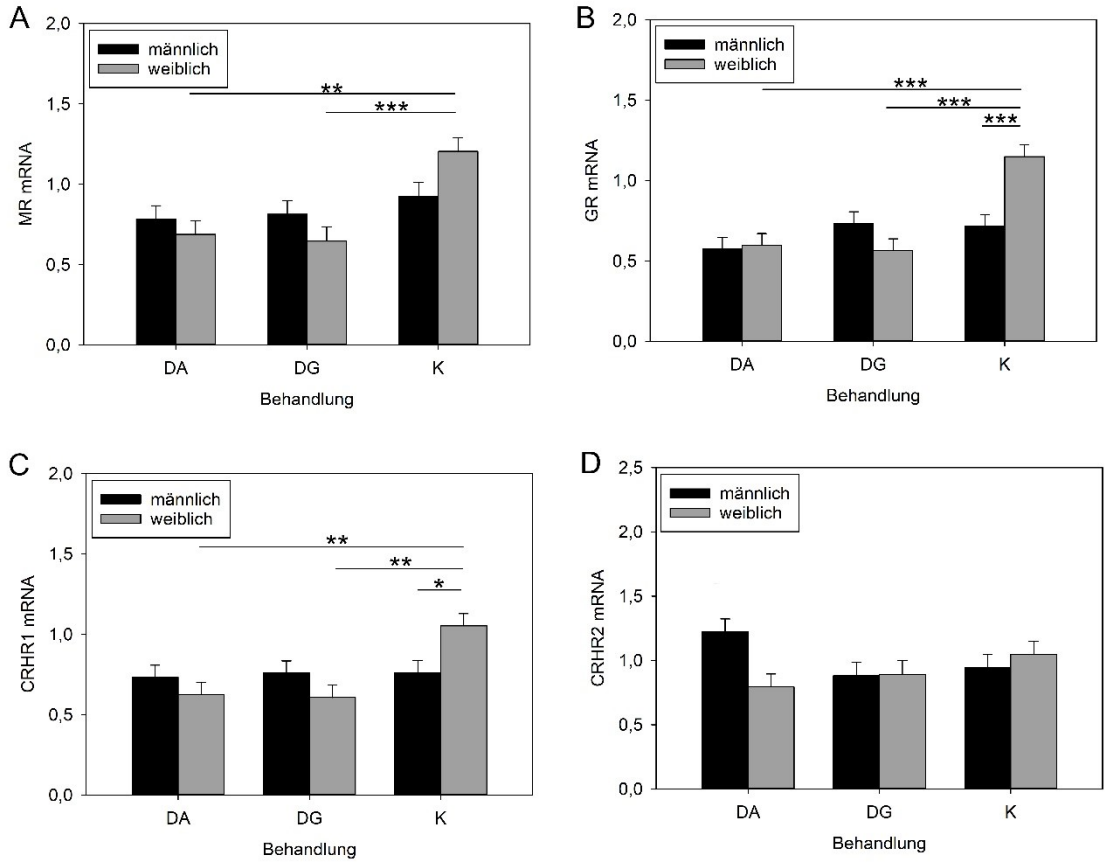


*Abbildung 24: Relative mRNA Expressionen im präfrontalen Cortex von männlichen und weiblichen Tieren der drei Behandlungsgruppen DA (Deprivation allein), DG (Deprivation in einer Gruppe mit Wurfgeschwistern) und K (Kontrolle, keine Deprivation) 24 h nach der LPS-Applikation mit: A) MR (mineralocorticoid receptor; NR3C2), B) GR (glucocorticoid receptor; NR3C1), C) CRHR1 (corticotropin releasing hormone receptor 1) und D) CRHR2 (corticotropin releasing hormone receptor 2). Die Ergebnisse sind dargestellt als LSM ± SE. Signifikante Unterschiede sind mit Asterisken gekennzeichnet (**p < 0,01; ***p < 0,001; Tukey-Kramer-Test; n = 8-12 je Behandlungsgruppe und Geschlecht)*

4.3.3.4 Hippocampus

Wie in Tabelle 19 dargestellt, konnte im Hippocampus ein geschlechtsspezifischer Behandlungseffekt auf die mRNA-Expression von GR ($F_{2;35} = 5{,}42$; $p < 0{,}01$) und AVPR1A ($F_{2;35} = 3{,}31$; $p < 0{,}05$) nachgewiesen werden. Wie in Abbildung 25 A ersichtlich, hatten dabei

sowohl die weiblichen Tiere der DA-Gruppe ($p < 0{,}05$), als auch die männlichen Tiere der Kontrollgruppe ($p < 0{,}01$) signifikant geringere Expressionen als die weiblichen Kontrolltiere. Es konnten keine weiteren signifikanten Effekte festgestellt werden (Tabelle 19).

Tabelle 19: Relative mRNA-Expression von HPA-Achsen assoziierten Parametern und Cytokinen im Hippocampus der Ferkel der verschiedenen Behandlungsgruppen 24 h nach LPS-Applikation

	Behandlungsgruppe			***p*-Werte (F-Test)**		
Parameter	**DA**	**DG**	**K**	**Behandlung**	**Geschlecht**	**Behandlung × Geschlecht**
MR	1,10 ± 0,19	0,99 ± 0,20	1,09 ± 0,19	0,907	0,503	0,253
GR	1,01 ± 0,19	1,20 ± 0,19	1,36 ± 0,19	0,366	0,813	**<0,01**
AVPR1A	1,40 ± 0,16	1,58 ± 0,17	1,50 ± 0,16	0,723	0,683	**<0,05**
OXTR	1,02 ± 0,13	1,27 ± 0,13	1,17 ± 0,13	0,355	0,217	0,612
BDNF	1,21 ± 0,14	1,15 ± 0,14	1,30 ± 0,14	0,730	0,793	0,337
IL1β	1,12 ± 0,19	0,85 ± 0,20	1,37 ± 0,19	0,191	0,752	0,996
MR/GR Quotient	1,12 ± 0,10	0,85 ± 0,10	0,93 ± 0,10	0,173	0,926	0,105

DA (Deprivation allein), DG (Deprivation in einer Gruppe von Wurfgeschwistern) und K (Kontrolle, keine Deprivation); MR (*mineralocorticoid receptor*; *NR3C2*), GR (*glucocorticoid receptor*; *NR3C1*), AVPR1A (*arginine vasopressin receptor 1A*), OXTR (*oxytocin receptor*), CRHR1/CRHR2 (*corticotropin releasing hormone receptor 1/2*), BDNF (*brain-derived neurotrophic factor*), IL-1β (*interleukin 1 beta*; *IL1B*). Die Daten sind dargestellt als LSM ± SE. n = 20 Tiere/Gruppe

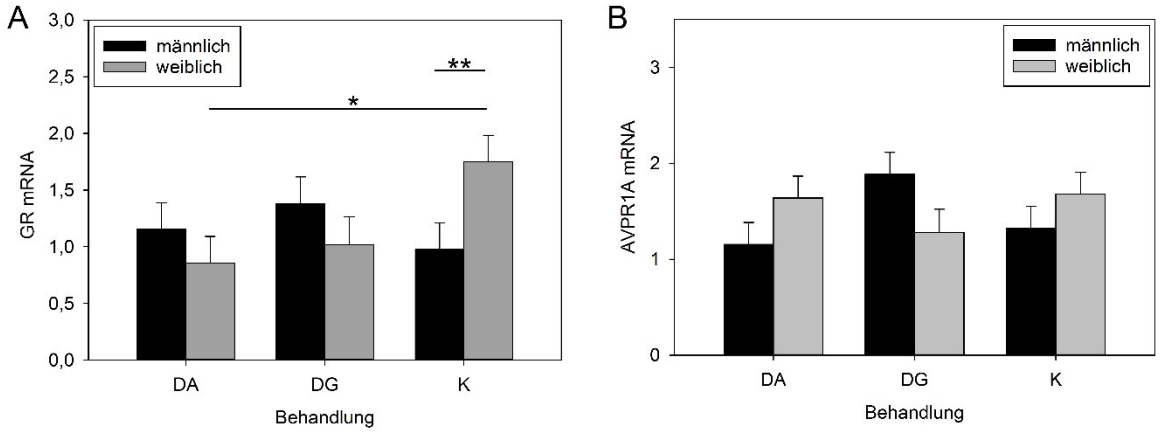


*Abbildung 25: Relative mRNA Expressionen im Hippocampus von männlichen und weiblichen Tieren der drei Behandlungsgruppen DA (Deprivation allein), DG (Deprivation in einer Gruppe mit Wurfgeschwistern) und K (Kontrolle, keine Deprivation) 24 h nach der LPS-Applikation mit: A) GR (glucocorticoid receptor; NR3C1) und B) AVPR1A (arginine vasopressin receptor 1A). Die Ergebnisse sind dargestellt als LSM ± SE. Signifikante Unterschiede sind mit Asterisken gekennzeichnet (**p < 0,01; ***p < 0,001; Tukey-Kramer-Test; n = 8-10 je Behandlungsgruppe und Geschlecht)*

5 Diskussion

Diese Arbeit zeigt in einem interdisziplinären Untersuchungsansatz, dass frühpostnataler, psychosozialer Stress in Form einer wiederholten maternalen Deprivation und sozialen Isolation zu veränderten und anhaltenden ethologischen und physiologischen Stressreaktionen bei den Ferkeln führte. Die Behandlungseffekte umfassten eine veränderte Mutter-Kind-Interaktion, erhöhte Stresshormonkonzentrationen in der Muttermilch, veränderte Verhaltensaktivitäten der Ferkel im OF/NO-Test, modifizierte Expressionen von stress- und verhaltensassoziierten Genen in PFC, Amygdala, Hippocampus und Hypothalamus sowie eine erhöhte Krankheitsanfälligkeit der Tiere. Dabei wiesen Ferkel, die in einer Gruppe von Wurfgeschwistern depriviert worden waren, geringere ethologische und physiologische Stressreaktionen auf als die allein isolierten Tiere. Weiterhin konnten erstmalig geschlechtsspezifische Unterschiede in den untersuchten Parametern nachgewiesen werden. Diese zeigten sich sowohl im Verhalten als auch auf neuroendokriner und immunologischer Ebene.

5.1 Auswirkungen einer wiederholten maternalen Deprivation der Ferkel auf die Mutter-Kind-Beziehung und die ethologischen und physiologischen Stressreaktionen der Nachkommen

5.1.1 Verhalten und periphere Stressreaktionen

In der vorliegenden Arbeit wurde der unmittelbare Einfluss einer wiederholten maternalen Deprivation und sozialen Isolation auf die Mutter-Kind-Interaktion untersucht. Dazu wurde an mehreren Tagen beobachtet, ob das mütterliche Verhalten bei den Sauen nach der Rückkehr der Ferkel aus der Isolation verändert war. Nach Jensen (1988) zählen zu diesen Parametern unter anderem Rufe von Sau und Ferkel (Grunzen), Nestbauverhalten (Wühlen im Stroh, Material suchen), Nase-Nase-Kontakte, Initiation und Termination von Saugakten, die Säugeintervalle sowie das Prä- und Postmassageverhalten. Im Vergleich mit Wildtypsauen (Kreuzung zwischen Wild- und Hausschwein) konnte gezeigt werden, dass domestizierte Sauen eine geringere Anzahl an Nase-Nase-Kontakten aufwiesen und ein längeres Massieren

der Zitzen durch die Ferkel zuließen. Darüber hinaus zeigten sich kaum Änderungen im mütterlichen Verhalten zwischen domestizierten und Wildtyp-Sauen (Gustafsson et al. 1999). Die Ergebnisse der vorliegenden Studie deuten darauf hin, dass das maternale Verhalten der Sauen kaum von der maternalen Deprivationsbehandlung der Ferkel beeinflusst wurde. So konnte lediglich ein Einfluss der Behandlung auf die Säugeintervalle festgestellt werden, wobei diese bei den Sauen der Deprivationswürfe im Mittel signifikant geringer waren und häufiger durch die Rufe der Ferkel eingeleitet wurden. Beide Ergebnisse können damit erklärt werden, dass die Ferkel während der 2-stündigen Deprivation keinen Zugang zu Wasser und Nahrung in Form von Muttermilch hatten und daher hungrig zur Sau zurückkehrten und den Saugakt initiierten, wohingegen die Ferkel der Kontrollgruppe jederzeit von der Sau gesäugt werden konnten. Diese These wird auch durch die Tatsache gestützt, dass nur das Säugeintervall zwischen dem 1. und dem 2. Saugakt signifikant kürzer war, nicht aber das Intervall zwischen 2. und 3. Saugakt. Daraus kann man schlussfolgern, dass das Nahrungsdefizit der deprivierten Ferkel bis einschließlich zum zweiten Saugakt ausgeglichen wurde und die Intervalle danach im normalen zeitlichen Abstand erfolgten. Für die anderen Parameter mütterlichen Verhaltens konnten keine Effekte der Deprivationsbehandlung nachgewiesen werden. Dies ist insofern überraschend, da Studien an Ratten ein verstärktes mütterliches Verhalten (Lecken, Kontakt, Fellpflege) nachweisen konnten, wenn die Jungtiere sozial isoliert bzw. gestresst worden waren (Walker et al. 2003; Kosten und Kehoe 2010). Da der Fokus dieser Arbeit jedoch nicht auf der detaillierten Aufnahme und Auswertung des mütterlichen Verhaltens lag und dieses nur für während der ersten drei Saugakte beobachtet wurde, kann nicht ausgeschlossen werden, dass die Deprivation der Ferkel sich auf andere Parameter des mütterlichen Verhaltens auswirkte. Beispielsweise konnte in Studien an Ratten gezeigt werden, dass Mütter von wiederholt isolierten Jungtieren mehr passive (Säugen) denn aktive (Nestbauverhalten) mütterliche Fürsorge zeigten (D'Amato et al. 1998). Versuche an Schweinen, die den Fokus mehr auf die Mutter-Kind-Interaktion legen, könnten daher beispielsweise den Einfluss einer wiederholten Ferkeldeprivation auf die Dauer der Zitzenmassage vor und nach dem Säugen, die Dauer des Milchflusses sowie die Terminierung der Saugakte (ob durch Sau oder Ferkel) untersuchen. So fanden Spinka und Algers (1995) unter anderem eine positive Korrelation zwischen der Dauer des Postmassage-Verhaltens und der späteren, den Ferkeln zur Verfügung stehenden Gesamtmilchmenge. Der Einfluss des

Postmassage-Verhaltens konnte aufgrund versuchstechnischer Gründe jedoch nicht berücksichtigt werden.

Zusätzlich zur Untersuchung mütterlichen Verhaltens wurde analysiert, ob die Ferkeldeprivation einen Einfluss auf die Cortisolkonzentrationen in Milch und Speichel bei den Sauen hat. Dabei zeigte sich, dass die Cortisolkonzentrationen in der Milch der Sauen der Deprivationswürfe nach der ersten Deprivationsbehandlung am 2. Laktationstag (LKT) signifikant höher waren als vor der Behandlung. An den anderen Tagen konnte für die Cortisolkonzentrationen in der Milch kein Unterschied zwischen den Sauen der Deprivations- und Kontrollwürfe nachgewiesen werden. Studien an Menschen und Rindern konnten zeigen, dass eine Stressexposition zu einem Anstieg der Cortisolkonzentrationen nicht nur im Blutplasma, sondern auch in der Milch führen kann (Bremel und Gangwer 1978; Aparicio et al. 2020). Daraus könnte geschlussfolgert werden, dass die Ferkeldeprivation auch einen Stressor für die Sauen darstellte, dies in einer Aktivierung der HPA-Achse und der Freisetzung von Cortisol in die Milch resultierte, die Sauen nachfolgend jedoch an den Stressreiz habituierten und infolgedessen keine Stressreaktion mehr auf die temporäre Entnahme der Ferkel zeigten. Dieser Prozess der Habituation an einen Stressor konnte bereits in diversen Studien mit Schweinen nachgewiesen werden. Beispielsweise zeigten Schweine, die einem wiederholten Geräuschstress ausgesetzt waren, bereits nach einer einmaligen Reizwiederholung eine verringerte Reaktion auf diesen (Otten et al. 2004; Kanitz et al. 2005). Studien an Nagern und Affen unterstützen diese Daten. Auch hier konnte in Folge einer wiederholten maternalen Deprivation der Jungtiere kein signifikanter Anstieg der Cortisolkonzentrationen bei den Muttertieren nachgewiesen werden (D'Amato et al. 1992; Smotherman et al. 1979; Moles et al. 2004). Allerdings wurden in diesen Studien die Cortisolkonzentrationen im Blutplasma bestimmt und nicht in der Milch. In der vorliegenden Arbeit wurde auf die Analyse der Cortisolkonzentrationen im Blutplasma verzichtet, da die invasive Blutentnahmemethode einen zusätzlichen Stressor für die Sauen bedeutet und somit der Einfluss der Deprivationsprozedur nicht eindeutig hätte abgeleitet werden können. Stattdessen wurden zusätzlich die Cortisolkonzentrationen im Speichel der Sauen analysiert. Zahlreiche Studien konnten zeigen, dass eine stressbedingte Sezernierung von Cortisol sich auch in einem Anstieg der Cortisolkonzentrationen im Speichel nachweisen lässt (Escribano et al. 2015; Parrott et al. 1989; Ruis 1997). In dieser Arbeit konnte zwar ein numerischer Anstieg der Cortisolkonzentrationen in Antwort auf die Ferkelseparation in den Sauen nachgewiesen

werden, dieser war jedoch statistisch nicht signifikant. Dies ist möglicherweise darin begründet, dass der Anstieg der Cortisolkonzentrationen in Antwort auf die Ferkelseparation in den Sauen zu niedrig war, um signifikante Differenzen im Speichel nachweisen zu können. So konnten diverse Studien an Schweinen zeigen, dass es infolge von Stress zwar zu einem Anstieg der Cortisolkonzentrationen kommt, die Maximalkonzentrationen im Speichel aber deutlich geringer ausfallen als im Plasma (Parrott et al. 1989; Blackshaw und Blackshaw 1989; Bushong et al. 2000). Ob die Cortisolkonzentrationen in Plasma und Muttermilch ähnliche Abweichungen zeigen, kann aktuell nicht beantwortet werden.

In Bezug auf die Stabilität der Saugordnung, welche nach etwa 3–4 Tagen erreicht wird (Puppe und Tuchscherer 1999; Newberry und Wood-Gush 1985), konnte in der vorliegenden Arbeit kein Einfluss der Behandlung nachgewiesen werden. Es zeigten sich jedoch signifikante Geschlechtsunterschiede, wobei die männlichen Ferkel häufiger die Zitze wechselten und eine geringere Stabilität der Saugordnung als bei den weiblichen Ferkeln. Hartsock et al. (1977) konnten zeigen, dass eine stabile Saugordnung eine Verminderung der Konkurrenzkämpfe zwischen den Ferkeln bewirkt, wodurch diese häufiger säugen können und die Vitalität erhöht wird. Eine verminderte Stabilität der Saugordnung kann daher negative Konsequenzen für die Gesundheit der Tiere haben, wobei männliche Ferkel nachweislich eine höhere Ferkelsterblichkeit aufweisen (Baxter et al. 2012; Knol et al. 2002).

Die Untersuchung einer wiederholten Deprivation und Isolation auf das Verhalten der Ferkel erfolgte im kombinierten OF/NO-Test. Aufgrund der unbekannten Umgebung und der sozialen Isolation, der die Tiere während des Versuches ausgesetzt sind, stellt der OF-Test zugleich einen Stressor dar, der zuverlässig Verhalten und Physiologie beeinflusst (Kanitz et al. 2004; Kanitz et al. 2009; Špinka 2006). Der ursprünglich von Hall (1934) für Studien an Ratten konzipierte OF-Test dient dazu, Verhaltensparameter wie Lokomotion, Exploration und Ängstlichkeit zu testen, während mit dem NO-Test ängstliches bzw. neugieriges Verhalten der Tiere gegenüber einem unbekannten Objekt untersucht wird (Murphy et al. 2014; Prut und Belzung 2003; Forkman et al. 2007). In Studien an Ratten konnte gezeigt werden, dass eine wiederholte maternale Deprivation zu einer verringerten Lokomotion führte (Katz et al. 1981; Jin et al. 2018). Ähnliche Ergebnisse konnten in der vorliegenden Arbeit festgestellt werden. Hier zeigten maternal deprivierte Tiere eine geringere Lokomotion bei einer gleichzeitig erhöhten Inaktivität (Stehen). Dies bestätigt die Ergebnisse aus vorherigen Versuchen an Schweinen, bei denen für wiederholt maternal deprivierte Tiere eine verringerte

Lokomotion und Vokalisationsrate nachgewiesen werden konnte (Kanitz et al. 2004). Interessanterweise zeigten sich in der vorliegenden Studie deutliche Unterschiede zwischen den beiden maternal deprivierten Gruppen, wobei die Lokomotion der Tiere der DG-Gruppe numerisch häufig denen der Kontrollgruppe glich. Diese Unterschiede waren auch für die Häufigkeit und Latenz der Vokalisation nachweisbar. Auch hier glichen die Verhaltensweisen der Tiere der DG-Gruppe denen der Kontrolltiere. Unter Berücksichtigung des Geschlechts zeigte sich allerdings, dass die Effekte bei der Latenz der Lokomotion wie auch der Vokalisation in der DA-Gruppe vor allem durch die weiblichen Ferkel verursacht wurden. Dabei zeigten die weiblichen DA-Tiere signifikant höhere Latenzen als die männlichen DA-Tiere und die weiblichen DG- und K-Tiere. Bei den männlichen Ferkeln konnte kein signifikanter Unterschied für die Latenz der Lokomotion und Vokalisation zwischen den drei Behandlungsgruppen nachgewiesen werden.

Zahlreiche Studien haben sich mit dem Vokalisationsverhalten von Schweinen unter verschiedensten Bedingungen beschäftigt, um dieses als ein nicht-invasives „Tool" zur Beurteilung des emotionalen Status des Tieres zu evaluieren (Murphy et al. 2014; Manteuffel et al. 2004). Generell wird bei Schweinen zwischen Kontaktrufen (tiefe Grunzlaute) und Rufen, die den Erregungszustand des Tieres widerspiegeln (hohe Quiek- und Schreilaute), unterschieden (Manteuffel et al. 2004). In diversen Studien konnte gezeigt werden, dass insbesondere die Häufigkeit hochfrequenter Laute zunimmt, wenn die Tiere einem Stressor ausgesetzt waren (Puppe et al. 2005; Weary et al. 1997; Reimert et al. 2013; Imfeld-Mueller et al. 2011). Demgegenüber führte die Stressbehandlung bei den Tieren der vorliegenden Studie zu einer signifikant geringeren Vokalisationsrate. Allerdings wurde aus statistischen Gründen nicht zwischen den verschiedenen Vokalisationsmustern unterschieden, sondern diese als Gesamtheit betrachtet. So verzeichneten beispielsweise Kanitz et al. (2004) eine deutlich geringere Häufigkeit von Schrei- gegenüber Grunzlauten (3 %) in wiederholt deprivierten Tieren im OF/NO-Test. Bei Leliveld et al. (2016) war die Häufigkeit der Schreilaute ebenfalls zu gering, um diese statistisch hinreichend auswerten zu können. Eine Verringerung der Vokalisationsrate in den maternal deprivierten Tieren in der vorliegenden Arbeit, die sowohl Schrei- als auch Grunzlaute beinhaltet, könnte daher auf eine Verringerung der Grunzlaute zurückzuführen sein. So konnten beispielsweise Schrader und Todt (1998) zeigen, dass die Häufigkeit der Grunzlaute mit ansteigenden Cortisolkonzentrationen abnahm. Bei der Bestimmung der Cortisolkonzentrationen zeigte sich jedoch, dass die DA-Tiere den geringsten

Anstieg in Antwort auf den OF/NO-Test am 16. LT hatten, die Kontrolltiere jedoch die höchsten Cortisolkonzentrationen aufwiesen. Wie eingangs erwähnt, stellt der OF-Test auch einen sozialen Isolationsstress für die Tiere dar (Kanitz et al. 2004; Kanitz et al. 2009). Dies impliziert, dass die DA-Tiere aufgrund der vorangegangenen und wiederholten Deprivationsbehandlung an diese habituierten und somit eine weniger stark ausgeprägte Reaktion im OF-Test zeigten. Dem gegenüber steht allerdings die bei den DA-Tieren signifikant höhere Latenz bis zum ersten Objektkontakt bzw. die geringere Dauer und Häufigkeit der Objektkontakte im NO-Test. Eine höhere Latenz oder geringere Kontakthäufigkeit kann dabei als Zeichen für ängstliches Verhalten gewertet werden (Murphy et al. 2014). Generell zeigen Studien, dass das Erkunden und Untersuchen von unbekannten Objekten ein essenzieller Bestandteil normalen Verhaltens von Schweinen ist, wobei die Explorationsmotivation extrinsischer (Suche nach Futter, Liegeplatz) oder intrinsischer (Neugierde) Art sein kann (Stolba und Wood-Gush 1989; Day et al. 1995; Studnitz et al. 2007). So konnten Jonge et al. (2008) zeigen, dass Schweine es präferierten, nach Futter zu suchen, anstatt einen freien Zugang zu nutzen. Auch im NO-Test zeigte sich, dass Schweine unbekannte Objekte bekannten vorzogen (Wood-Gush und Vestergaard 1991). Boissy (1995) postulierte, dass Unbekanntes zunächst negative Emotionen provoziert und Tiere auf diese aversiven Situationen unter anderem mit einer verringerten Aktivität reagieren können. Diese kann gemeinhin als Ausdruck eines Angstzustandes gewertet werden (Boissy 1995). Unter Berücksichtigung der geringeren Aktivität und Vokalisationsrate im OF-Test sprechen die verringerte Häufigkeit, Dauer und höhere Latenz der Objektkontakte bei den deprivierten Tieren in der vorliegenden Arbeit daher eher für eine Zunahme ängstlichen Verhaltens. Sumner et al. (2008) fanden in ihren Studien zu früh abgesetzten Ferkel ähnliche Verhaltensweisen (geringere Aktivität und Vokalisation im OF-Test) und interpretierten diese als depressive Verhaltensweisen.

In der vorliegenden Arbeit konnten im OF/NO-Test deutliche Unterschiede in den Verhaltensweisen beider Deprivationsgruppen gefunden werden. Dabei reagierten die Tiere, die zusammen mit Wurfgeschwistern depriviert worden waren, im OF/NO-Test generell ähnlich wie die Kontrolltiere. Lediglich die Latenz der Objektkontakte war bei den Tieren der DG-Gruppe wie auch bei den DA-Tieren signifikant geringer als bei den Kontrolltieren. Dabei wurde dieser Effekt vornehmlich durch die männlichen Tiere ausgelöst, wohingegen die

weiblichen Tiere der DG-Gruppe zumindest numerisch eine geringere Latenz der Objektkontakte aufwiesen als die weiblichen Tiere der DA-Gruppe.

Insgesamt zeigte sich, dass die Häufigkeit und Dauer der Objektkontakte bei den DG-Tieren zwischen der der einzeldeprivierten und der der Kontrollen lag. Dieser Effekt zeigte sich auch in den physiologischen Untersuchungen, wobei die gemessenen Cortisolkonzentrationen in Antwort auf den OF/NO-Test bei den DG-Tieren höher waren als bei den DA-Tieren, aber niedriger als bei den Kontrollen. Diese Ergebnisse sprechen dafür, dass die Anwesenheit von Wurfgeschwistern die negativen Auswirkungen einer sozialen Stressbelastung abschwächen können. Ähnliche Effekte konnten Kanitz et al. (2014) nachweisen: Hier zeigten Ferkel, die mit einem sozialen Partner depriviert worden waren, ein deutlich passiveres Verhalten (Liegen) und unternahmen weniger Fluchtversuche als einzel-isolierte Tiere. Auch im anschließenden OF/NO-Test unterschieden sich die Verhaltensweisen der Ferkel, die mit einem Wurfgeschwister depriviert worden waren, signifikant von denen der einzeldeprivierten und ähnelten eher denen der Kontrollen (Kanitz et al. 2014). Aber auch der Absetzstress kann deutlich verringert werden, wenn das Absetzen zusammen mit Wurfgeschwistern erfolgt (Friend et al. 1983). Die positiven Effekte einer solchen sozialen Unterstützung wurden von Cohen und Willis (1985) in der *„buffering hypothesis“* diskutiert und sind seither in zahlreichen Studien untersucht und bestätigt worden (Beery und Kaufer 2015; Rault 2012; Hostinar et al. 2014). Beispielweise zeigten Studien an Affen und Ratten, dass diese eine verringerte Zunahme der Cortisolkonzentrationen und ein weniger ängstliches Verhalten in Antwort auf eine Stressbelastung aufwiesen, wenn ein sozialer Partner anwesend war (Hennessy 1984, 1986; Wittig et al. 2016; Ruis et al. 1999; Westenbroek et al. 2005). Auch in Studien an Schweinen konnte gezeigt werden, dass die Anwesenheit eines Sozialpartners die negativen Effekte einer Stressbelastung dämpfen kann (Geverink et al. 1998; Arnone und Dantzer 1980). Unter Berücksichtigung der geschlechtsspezifischen Effekte bei den Latenzen der Lokomotion, Vokalisation und Objektkontakte in der vorliegenden Studie scheinen weibliche Tiere dabei stärker von den positiven Effekten einer sozialen Unterstützung zu profitieren als männliche. Solche geschlechtsspezifischen Effekte einer sozialen Unterstützung wurden unter anderem auch in Meerschweinchen und Menschen gefunden, wobei Weibchen stärker von einer sozialen Unterstützung profitierten als Männchen, selbst wenn es sich dabei nicht um den Partner handelte (Kirschbaum et al. 1995; Kaiser et al. 2003).

Darüber hinaus lassen die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit darauf schließen, dass die positiven Effekte der sozialen Unterstützung sich langfristig auf das Verhalten der Tiere auswirkten. So zeigten die einzeldeprivierten Tiere am 40. LT (25 Tage nach der letzten Deprivationsbehandlung) eine signifikant höhere Lokomotionsdauer als die DG- und Kontrolltiere und verbrachten weniger Zeit stehend im OF-Test. Generell konnte für den Lebenstag ein signifikanter Effekt auf die Dauer der Lokomotion, des Stehens und auf die Häufigkeit der Vokalisation nachgewiesen werden. Dabei war die Häufigkeit der Lokomotion bei den DG- und Kontrolltieren am 40. LT deutlich geringer als am 16. LT (unmittelbar nach dem Deprivationszeitraum), wohingegen die Dauer, die die Tiere stehend verbrachten, zunahm. Diese Ergebnisse stimmen mit denen anderer Studien überein, bei denen ebenfalls eine geringere Vokalisationsrate und eine Abnahme aktiver Verhaltensweisen mit zunehmendem Alter bzw. bei wiederholter Testung der Tiere im OF/NO-Test nachgewiesen werden konnten (Kanitz et al. 2009; Kanitz et al. 2014; Desautes et al. 1997; Rutherford et al. 2006; Fraser 1974; Donald et al. 2011). In der vorliegenden Studie konnte ebenfalls eine Verringerung der Vokalisationshäufigkeiten mit zunehmendem Alter nachgewiesen werden. Jedoch war dieser nur für die DG- und Kontrolltiere repräsentativ, die Vokalisationshäufigkeit der DA-Tiere hingegen blieb nahezu unverändert (siehe Anhang 8A). Auch im NO-Test zeigten sich signifikante Unterschiede zwischen den drei Behandlungsgruppen: Hier nahm die Latenz bis zum ersten Objektkontakt bei den DG- und Kontrolltieren am 40. LT zu, während sie bei den DA-Tieren deutlich geringer war als am 16. LT. Interessanterweise war die Latenz am 40. LT bei den DA-Tieren signifikant geringer als bei den DG-Tieren, die darüber hinaus die höchste Latenz aufwiesen. Dieses Ergebnis ist insofern überraschend, als dass die Latenz bis zum ersten Objektkontakt gemeinhin als ein Maß für ängstliches Verhalten gewertet werden kann (Murphy et al. 2014). Sowohl bei den Kontrolltieren als auch bei den DG-Tieren wäre eine kürzere Objektkontaktzeit und damit ein weniger ängstliches Verhalten zu erwarten gewesen. Die Zunahme der Latenz bei den DG- und Kontrolltieren könnte damit erklärt werden, dass mit zunehmendem Alter und wiederholter Testung der Tiere im OF/NO-Test, diese ein weniger aktives Verhalten aufweisen. Ähnliche Ergebnisse konnten auch Donald et al. (2011) zeigen. In deren Studie zeigten Ferkel, die zum zweiten Mal im NO-Test untersucht worden waren, ebenfalls eine höhere Latenz bis zum ersten Objektkontakt als beim erstmaligen Testen. Allerdings kann damit nicht erklärt werden, warum die Latenz der DA-Tiere im zweiten OF/NO-Test signifikant geringer war als im ersten Test und darüber hinaus

auch niedriger als bei den DG- und Kontrolltieren. Eine mögliche Erklärung wäre, dass die DA-Tiere eine stärkere Habituierung aufwiesen als die DG- und Kontrolltiere und der OF/NO-Test daher einen milderen Stressreiz darstellte. Ähnliche Ergebnisse konnten in Versuchen mit Ratten gezeigt werden, wobei die chronisch gestressten Tiere eine verringerte Schreckreaktion auf einen 7 Tage später folgenden akustischen Reiz zeigten (Schmeltzer et al. 2015). Auch Versuche mit Staren konnten ähnliche Ergebnisse nachweisen. Dabei konnte gezeigt werden, dass Stare, die akutem Stress ausgesetzt wurden, nicht an einen NO-Test habituierten. Die Tiere aber, die vormals chronisch gestresst worden waren, wiesen eine solche Habituation auf (Bruijn und Romero 2021). Darüber hinaus konnte bei Staren, die chronischem Stress ausgesetzt worden waren, kein Anstieg der Corticosteronkonzentrationen in Antwort auf einen erneuten akuten Stressor festgestellt werden (Rich und Romero 2005). In der vorliegenden Studie könnte eine verringerte Stressreaktion der DA-Ferkel im zweiten OF/NO-Test die reduzierte Latenz bis zum ersten Objektkontakt erklären. Eine andere Möglichkeit wäre, dass die DA-Ferkel im zweiten OF/NO-Test eine stärkere Stressreaktion aufwiesen als die anderen beiden Behandlungsgruppen. Wie bereits erwähnt, zeigen Tiere höheren Alters bzw. auch Tiere die wiederholt dem OF/NO-Test ausgesetzt waren, eine Verringerung aktiver Verhaltensweisen und eine Zunahme der Latenz bis zum ersten Objektkontakt (Kanitz et al. 2009; Kanitz et al. 2014; Desautes et al. 1997; Rutherford et al. 2006; Fraser 1974; Donald et al. 2011). Diese Ergebnisse stimmen mit denen der DG- und Kontrolltiere der vorliegenden Studie überein. Bei den DA-Tieren konnte dieser Effekt jedoch nicht nachgewiesen werden. Im Gegenteil, die Häufigkeiten der aktiven Verhaltensweisen und die Häufigkeiten der Vokalisation blieben in beiden OF/NO-Tests annähernd gleich, und die Latenz bis zum ersten Objektkontakt war beim zweiten Test sogar signifikant geringer als beim ersten. Da die Aktivitäten sich aber nicht signifikant zwischen den wiederholten Testungen unterschieden und unter Berücksichtigung, dass sich die Tiere mit zunehmendem Alter weniger bewegen, könnte man von einer erhöhten Aktivität der DA-Ferkel im zweiten OF/NO-Test ausgehen. Ähnliche Effekte konnten auch in Studien an Ratten gezeigt werden, bei denen die Tiere in Folge einer wiederholten sozialen Isolation eine Hyperlokomotion im OF-Test aufwiesen und dieser Effekt auch noch nach einem längeren Zeitraum der Resozialisierung nachweisbar war (Strekalova et al. 2005; Pijlman et al. 2003; Einon und Morgan 1978; Ouchi et al. 2013). Dabei konnten Zörner et al. (2003) zeigen, dass diese Hyperlokomotion mit einem depressiven Verhalten einherging.

Insgesamt zeigen die vorliegenden Daten, dass die wiederholte maternale Deprivation das Verhalten der Ferkel beeinflusste und diese Effekte auch langfristig nachweisbar waren. Um die unmittelbaren Effekte dieser Stressbehandlung auf neuroendokriner Ebene zu untersuchen, wurde nach Beendigung der Deprivationsprozedur bei einigen Tieren die Expression von stressassoziierten Genen in Gehirnarealen untersucht, die mit der Verarbeitung von Stress verknüpft sind.

5.1.2 Neuroendokrine Stressregulation

Eine der Hauptkomponenten des Organismus zur Verarbeitung von psychosozialem Stress ist die HPA-Achse. Dabei binden freigesetzte Stresshormone an entsprechende Rezeptoren sowohl in der Peripherie als auch im zentralen Nervensystem, wodurch eine negative Feedback-Antwort initiiert und die weitere Freisetzung von Glucocorticoiden gehemmt wird (Herman et al. 2016). Zahlreiche Studien konnten zeigen, dass psychosoziale Stressoren wie eine maternale Deprivation dieses System aus dem Gleichgewicht bringen und abhängig von der Dauer und Art der Stressexposition anhaltende Veränderungen in der Physiologie hervorgerufen werden können (Hawkley et al. 2012; Mumtaz et al. 2018; Cacioppo et al. 2011; Serra et al. 2005). Versuche an diversen Säugetierspezies zeigten, dass chronischer Isolationsstress zu veränderten Expressionen von Stresshormonen und Rezeptoren im Hypothalamus, der Amygdala, dem Hippocampus und dem PFC führen kann (Kanitz et al. 2004; Patel et al. 2008; Ladd et al. 2004; O'Malley et al. 2011). Diese Veränderungen sind oftmals mit einer Beeinträchtigung der negativen Rückkopplungsmechanismen der HPA-Achse assoziiert (Serra et al. 2005; Kloet et al. 1998; Meaney et al. 1996) und können zu einem depressiven oder ängstlichen Verhalten der Tiere führen (Mumtaz et al. 2018).

In der vorliegenden Arbeit führte die wiederholte maternale Deprivation zu einer signifikant geringeren mRNA-Genexpression von GR, MR und CRHR1 sowie einer tendenziell geringeren von CRHR2 im PFC – unabhängig davon, ob die Tiere einzeln oder in Gruppe depriviert worden waren. Der PFC spielt eine zentrale Rolle in der Verarbeitung von Informationen und der Bewertung von emotionalen Zuständen (Radley et al. 2006; Quirk und Gehlert 2003; Amat et al. 2005). Zudem belegen zahlreiche Studien seine Funktion in der Regulation der HPA-Achse (Dedovic et al. 2009; Sullivan und Gratton 1999, 2002). So konnte

unter anderem gezeigt werden, dass chronischer Stress in einer verringerten Expression von GR, MR und CRHR1 im präfrontalen Cortex von Nagern und Affen resultierte (Patel et al. 2008; Chen et al. 2008; Gądek-Michalska et al. 2013). Mizoguchi (2003) fand heraus, dass die GR-Expressionen im PFC von chronisch gestressten Ratten verringert und im Hippocampus erhöht waren und dies in einer abgeschwächten negativen Rückkopplung von Glucocorticoiden resultierte. Kanitz et al. (2004) konnten in ihrer Studie an wiederholt maternal deprivierten Schweinen eine signifikant erhöhte GR-Bindung im Hippocampus nachweisen. Dieser Effekt zeigte sich jedoch erst 45 Tage nach Beendigung der Deprivationsbehandlung und war in den Analysen unmittelbar nach der Deprivation nicht präsent. Dieses Ergebnis deckt sich mit denen der vorliegenden Studie. Auch hier konnte am 20. LT (5 Tage nach der Deprivationsbehandlung) keine veränderte GR mRNA-Expression im Hippocampus nachgewiesen werden. Allerdings wiesen die einzeldeprivierten Tiere eine höhere hippocampale MR mRNA-Expression auf. Dies ist überraschend, da zahlreiche Studien belegen, dass chronischer Stress und depressives Verhalten mit einer verringerten MR-Expression im Hippocampus korreliert sind und eine verringerte MR-Expression generell mit einer erhöhten basalen und stressinduzierten Aktivität der HPA-Achse verknüpft ist (Vázquez et al. 1996; Kloet et al. 1998; Dickens et al. 2009; Arabadzisz et al. 2010; Schmidt et al. 2010; Klok et al. 2011; Medina et al. 2013; Kanatsou et al. 2015). Warum die MR-Expressionen bei den DA-Tieren im vorliegenden Versuch erhöht waren, kann nur vermutet werden. Möglicherweise stellte der OF/NO-Test einen geringeren Stressreiz für diese Tiere dar, da sie infolge der vorherigen Deprivation bereits mehrmals von ihren Geschwistern getrennt worden waren und an diesen Stressreiz habituierten. Die Ferkel der anderen beiden Behandlungsgruppen hingegen waren durch den OF/NO-Test zugleich erstmals einer totalen Isolation in einer neuen Umgebung ausgesetzt– eine Situation, die nachweislich Stress auslösen kann (Kanitz et al. 2009; Špinka 2006). Zhe et al. (2008) konnten zeigen, dass bereits eine einmalige Stressexposition eine verringerte MR-Expression im Hippocampus verursachte. Dies könnte einen möglichen Erklärungsansatz für die hippocampal verringerte MR mRNA-Expression in den DG- und Kontrolltieren der vorliegenden Studie bieten. Darüber hinaus fanden Meyer et al. (2001) heraus, dass der MR im Hippocampus von chronisch gestressten Spitzhörnchen je nach Region unterschiedlich exprimiert vorlag. So war die MR-Expression im Bereich des anterioren Hippocampus in Antwort auf den psychosozialen Stress deutlich verringert, im Bereich des posterioren Hippocampus jedoch

erhöht (Meyer et al. 2001). Diese Unterteilung des Hippocampus in unterschiedliche Kerngebiete wurde in der vorliegenden Studie nicht vorgenommen. Es zeigte sich jedoch, dass die männlichen Ferkel der DA-Gruppe eine signifikant höhere CRHR1 mRNA-Expression im Hypothalamus hatten als die männlichen Tiere der DG- und K-Gruppe. Sowohl das CRH als auch seine Rezeptoren sind maßgeblich an der Stressregulation und der negativen Feedback-Regulation beteiligt (Spencer und Deak 2017; Aguilera 1998). Die signifikant höheren CRHR1-mRNA-Expressionen in den männlichen DA-Tieren könnten daher ein Versuch des Organismus sein, an die dauerhafte Stressexposition durch die maternale Deprivation zu adaptieren. Für die weiblichen Tiere war dieser Effekt nicht nachweisbar. Allerdings verfügten die weiblichen Kontrolltiere generell schon über eine höhere CRHR1-mRNA-Expression als die männlichen Tiere der gleichen Gruppe und unterschieden sich zudem nicht von den weiblichen Tieren der anderen beiden Gruppen. Ähnliche geschlechtsspezifische Effekte konnten auch in den anderen Hirnregionen gefunden werden. So waren die MR und TNF-α mRNA-Expressionen in der Amygdala bei den weiblichen Tieren der DA- und DG-Gruppe numerisch bzw. signifikant geringer als bei den weiblichen Kontrolltieren. Vergleichbare Ergebnisse wurden auch in Studien an Schweinen und Ratten gefunden, bei denen die MR-Expressionen in der Amygdala nach einer einzelnen Stressperiode verringert waren (Kanitz et al. 2009; Han et al. 2014). Dabei wird vermutet, dass eine verringerte MR-Expression in der Amygdala mit einer veränderten HPA-Achsen-Reaktivität und einem stärkeren Angstverhalten korreliert (Kolber et al. 2008; Gomez-Sanchez 2014; Myers und Greenwood-Van Meerveld 2007; Mitra et al. 2009). Jedoch gibt es auch Hinweise, dass eine reduzierte TNF-α-Konzentration in der Amygdala mit einer reduzierten Angstreaktion einhergehen kann (Chen et al. 2013; Ming et al. 2013). Zudem konnte in diversen Studien gezeigt werden, dass chronischer Stress auch zu einer Erhöhung der TNF-α-Konzentration in der Amygdala führen kann (Ferle et al. 2020; Mazurek et al. 2012).

Generell zeigten sich in der vorliegenden Arbeit spezifische Geschlechtsunterschiede in der mRNA-Expression, wobei diese bei den weiblichen Kontrolltieren signifikant höher war als bei den männlichen Kontrolltieren. Dies betraf die mRNA-Expression für: 1) MR und TNF-α in der Amygdala; 2) CRHR1 im Hypothalamus und 3) CRHR1, CRHR2, MR, GR und OXTR im PFC. Ob eine höhere Expression von Stresshormonrezeptoren in den verschiedenen Hirnregionen dabei gemeinhin mit einer effizienteren negativen Rückkopplung assoziiert werden kann, kann an dieser Stelle nicht beantwortet werden. Zu wenig ist über die

komplexen Interaktionen der verschiedenen Rezeptoren und Stresshormone in den einzelnen Hirnregionen bekannt. Es deutet sich aber an, dass eine höhere GR- und CRHR1-Expression mit einer höheren Stressresistenz assoziiert sind (Reichardt et al. 2000; Vuppaladhadiam et al. 2020; Ridder et al. 2005). Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass Oxytocin maßgeblich an der Steuerung von sozialem und ängstlichem Verhalten beteiligt ist und eine entscheidende Rolle bei psychischen Störungen spielt (Rault et al. 2013; Wang et al. 2014; DiBenedictis et al. 2017; Veenema und Neumann 2008; Neumann und Landgraf 2012). Beispielsweise konnten Sabihi et al. (2014; 2017) an Ratten zeigen, dass Oxytocin ängstliches Verhalten reduzieren kann und diese Reaktion über den OXT-Rezeptor im medialen PFC reguliert wird. Demgegenüber sind erhöhte OXTR-mRNA-Expressionen im dorsolateralen PFC mit Depression und bipolaren Störungen assoziiert (Lee et al. 2018).

Interessanterweise konnte in der vorliegenden Arbeit kein Einfluss der Behandlung auf den AVPR1A-Rezeptor gefunden werden, obschon in Studien gezeigt werden konnte, dass die Regulation von Vasopressin eine entscheidende Rolle bei der Aufrechterhaltung der kortikotropen Reaktionsfähigkeit der HPA-Achse zu Zeiten hoher zirkulierender Glucocorticoidkonzentrationen hat (Aguilera und Rabadan-Diehl 2000). Andererseits konnten Jezova et al. (1995) nachweisen, dass das vasopressinerge System nur bedingt auf Reize reagiert. So konnte beispielsweise in Ratten keine veränderte Vasopressin-Sekretion in Antwort auf Stressreize wie Immobilisierung, eine neue Umgebung, Kälte, erzwungenes Schwimmen, Elektroschock oder Lärm nachgewiesen werden. Zudem wurde im Rahmen dieser Arbeit nur der AVPR1A-Rezeptor untersucht, nicht aber die anderen beiden, sodass eine endgültige Aussage über die Regulation der HPA-Achse mittels Vasopressin an dieser Stelle nicht getroffen werden kann.

Ein weiterer, an der Stressregulation beteiligter Faktor ist BDNF. Studien zeigen, dass die hippocampale Expression von BDNF, die wichtig für die Steuerung von Lernverhalten, Erinnerungen und der neuronalen Plastizität ist, durch chronischen Stress gehemmt wird (Cunha et al. 2010; Suri und Vaidya 2013; Radahmadi et al. 2015; Murakami et al. 2005). Im Gegensatz dazu gibt es Hinweise darauf, dass erhöhte BDNF-Konzentrationen die negativen Auswirkungen einer Stressbelastung abschwächen und vor den damit verbundenen affektiven Störungen schützen können (Radecki et al. 2005; Taliaz et al. 2011; Angelucci et al. 2005; Chen et al. 2015). In der vorliegenden Studie konnte kein Effekt der Behandlung auf die Expression von BDNF im Hippocampus nachgewiesen werden. Allerdings verfügten die

weiblichen Tiere generell über eine höhere BDNF-mRNA-Expression im Hippocampus als die männlichen Tiere. Dies könnte implizieren, dass weibliche Tiere besser vor den negativen Effekten einer chronischen Stressbelastung während der frühen postnatalen Periode und den damit verbundenen Konsequenzen einer später auftretenden affektiven Störung geschützt sind. Geschlechtsspezifische Unterschiede in der BDNF-Konzentration wurden in diversen Studien beschrieben. Beispielsweise konnten Chan und Ye (2017) in Studien an Ratten zeigen, dass insbesondere die weiblichen Tiere über höhere BDNF-Konzentrationen verfügten. Dem gegenüber stehen jedoch Versuche an Mäusen, bei denen die männlichen Tiere generell mehr BDNF im Hippocampus aufwiesen als die weiblichen Mäuse (Szapacs et al. 2004). Eine eindeutige Aussage kann nach dem aktuellen Kenntnisstand daher noch nicht getroffen werden – zu komplex sind die Interaktionen der einzelnen Hormone, Rezeptoren und Hirnregionen, um sie im Detail zu verstehen. Einigkeit besteht jedoch bezüglich der Tatsache, dass das Gehirn einer geschlechtsspezifischen Regulation unterliegt, welche durch Geschlechtschromosomen, Geschlechtshormone, aber auch zahlreiche weitere Faktoren wie das mütterliche Verhalten determiniert werden (Ratnu et al. 2017; Gegenhuber und Tollkuhn 2020; Rubenstein et al. 2016).

Insgesamt deuten die Daten der vorliegenden Studie darauf hin, dass die Regulation der HPA-Achse maßgeblich durch die wiederholte maternale Deprivation beeinträchtigt wurde und damit verhaltensassoziierte Veränderungen (depressives/ängstliches Verhalten) hervorgerufen wurden (Diorio et al. 1993; Aihara et al. 2007; Mizoguchi et al. 2008; Belleau et al. 2019). Dabei war dieser Effekt am stärksten in der PFC-vermittelten HPA-Achsen-Regulation ausgeprägt. Darüber hinaus implizieren die Ergebnisse, dass die HPA-Achse und die Stressantwort bei den weiblichen Tieren anders reguliert wird als bei den männlichen Tieren. Hierin könnten auch die geschlechtsspezifischen Verhaltensweisen begründet sein. Jedoch lässt die vorliegende Studie keine Aussage zu den zugrundeliegenden Mechanismen zu.

5.2 Auswirkungen der frühpostnatalen Stressbelastung auf das Immunsystem der Ferkel und die neuroendokrin-immunologischen Adaptationsmechanismen

Wie in 1.2.1 erläutert, exprimieren nahezu alle Zellen des Immunsystems Glucocorticoidrezeptoren, die eine zentrale Rolle in der Reaktion auf Stress einnehmen. Durch Bindung der Glucocorticoide an die entsprechenden Rezeptoren werden Immunzellen unmittelbar beeinflusst – wie in diversen Studien gezeigt wurde, äußert sich dies bei chronischem Stress unter anderem in einer verringerten Freisetzung von Cytokinen und Antikörpern, einem veränderten Neutrophilen-Lymphozyten-Verhältnis sowie einer gehemmten Mitogen-induzierten Zellproliferation (Dhabhar 2014; Chrousos 2000; Jiang et al. 1990; Hickman 2017; Davis und Maney 2018; Davis et al. 2008).

Jedoch konnte im vorliegenden Ansatz kein unmittelbarer Einfluss der maternalen Deprivation auf die untersuchten immunologischen Parameter nachgewiesen werden. Weder die Mitogen-induzierte Proliferation der Milzzellen noch das Neutrophilen-Lymphozyten-Verhältnis, welches als Marker für eine chronische Stressbelastung gilt, unterschieden sich signifikant zwischen Kontroll- und Versuchstieren. Dies ist insofern überraschend, als dass in vorherigen Versuchen gezeigt werden konnte, dass eine soziale Isolation einen starken psychosozialen Stressor für die Tiere darstellt und daher eine veränderte Immunantwort zu erwarten gewesen wäre (Kanitz et al. 2004; Tuchscherer et al. 2004; Tuchscherer et al. 2018). In diesen Studien wurde das Immunsystem der Tiere allerdings zusätzlich mit einem Endotoxin/Erreger stimuliert. In der vorliegenden Arbeit wurden die Tiere am 20. LT jedoch nicht mit einem Endotoxin behandelt. Zudem konnte in Versuchen an Ratten gezeigt werden, dass chronischer Stress nicht immer in einer veränderten Immunantwort resultiert (Klein et al. 1992; Stefanski und Engler 1998). Dennoch konnte in der vorliegenden Arbeit gezeigt werden, dass die wiederholte Deprivation immunmodulatorisch wirkte, und zwar lange nach Beendigung dieser.

Generell wird die Immunantwort durch eine Vielzahl von komplexen Interaktionen beeinflusst – verschiedene Stressoren lösen unterschiedliche Immunantworten aus, aber auch der physiologische Zustand des Organismus beeinflusst die Reaktivität des Immunsystems (Mormède et al. 1990). Eine Möglichkeit, zuverlässig die Antwort des Immunsystems zu provozieren und somit den Einfluss von Stress untersuchen zu können, ist die Stimulation

mittels eines Erregers oder Mitogens (Tuchscherer et al. 2004; Kanitz et al. 2004; Meagher et al. 2010).

Das Endotoxin LPS wird hierfür häufig als Modell für eine bakterielle Infektion genutzt. Diverse Studien an Tier und Mensch konnten zeigen, dass die Verabreichung von LPS zu einem massiven Anstieg der proinflammatorischen Cytokinkonzentrationen führt (Hoogland et al. 2015; Webel et al. 1997; Mitchell et al. 2010). Der zentrale Mechanismus der LPS-induzierten Aktivierung des adaptiven Immunsystems ist die Erkennung der Lipid-A-Struktur des LPS-Moleküls durch TLR4-Rezeptoren, die auf der Oberfläche von Makrophagen vorhanden sind (Raetz und Whitfield 2002). Die Stimulation des TLR4-Rezeptors aktiviert den Transkriptionsfaktor NF-κB, einen Proteinkomplex, der für die Produktion von proinflammatorischen Cytokinen entscheidend ist und über die Stimulation des ZNS die typischen Symptome einer Infektion wie Fieber, Somnolenz oder eine verringerte Nahrungsaufnahme auslöst (Dantzer 2004; Elenkov und Chrousos 2002; Lu et al. 2008; Liang et al. 2004; Kluger et al. 1998).

In der vorliegenden Studie verursachte die Injektion von 50 µg LPS/kg Körpergewicht am 42. LT bei allen Schweinen starke Krankheitssymptome wie Somnolenz, Schüttelfrost und Erbrechen, und führte zu einem starken Anstieg der peripheren Cytokin- und Cortisolkonzentrationen. Diese Reaktionen waren zeitabhängig, da das Auftreten der Krankheitssymptome nach etwa 2 bis 3 Stunden seinen Höhepunkt erreichte und danach langsam wieder abnahm. Diese Befunde stimmen mit Ergebnissen aus früheren Studien überein, in denen gezeigt wurde, dass LPS die HPA-Achse aktiviert und eine Vielzahl von Krankheitszeichen hervorruft (Tuchscherer et al. 2004; Tuchscherer et al. 2006; Johnson und von Borell 1994; Wright et al. 2000). In der vorliegenden Studie verstärkte jedoch die soziale Deprivation die Krankheitssymptome bei den Tieren beider Behandlungsgruppen als Reaktion auf die LPS-Applikation im Vergleich zu den Kontrollen. Im Einklang damit zeigten die deprivierten Tiere eine geringere Aktivität im Vergleich zu den Kontrollen. Eine verringerte Bewegungsaktivität ist ein bekanntes Symptom von Infektionen und ist wichtig für die Tiere, um eine ausreichend hohe Energiebereitstellung für das Immunsystem zur Bekämpfung der Infektion zu gewährleisten (Kelley et al. 2003; Johnson und von Borell 1994; Engeland et al. 2001). Eine geringere Aktivität kann also darauf hindeuten, dass die maternal deprivierten Tiere stärker durch das Endotoxin beeinträchtigt wurden als die Kontrolltiere.

Bei der Induktion des Krankheitsverhaltens und der Reaktion des Immunsystems auf eine bakterielle Infektion spielen insbesondere die proinflammatorischen Cytokine IL-1, IL-6 und TNF-α eine zentrale Rolle (Dantzer 2004; Elenkov und Chrousos 2002). In Versuchen mit Schweinen konnte gezeigt werden, dass die Stimulation des Immunsystems mit LPS zu einer starken Erhöhung der peripheren TNF-α- und IL-6-Konzentrationen führt (Llamas Moya et al. 2006; Williams et al. 2009). Diese Ergebnisse stimmen mit denen der vorliegenden Studie überein. Die vorherige Deprivationsbehandlung verursachte jedoch einen signifikant verminderten Anstieg der peripheren TNF-α-Konzentrationen bei den Tieren beider Behandlungsgruppen. Interessanterweise konnte dieser Effekt nur bei den männlichen Ferkeln gezeigt werden, während die weiblichen Tiere unbeeinflusst blieben. Ähnliche Effekte konnten auch für die IL-10-Konzentrationen nachgewiesen werden, die sich 1 h nach LPS-Applikation signifikant zwischen männlichen K- und DG-Tieren unterschieden. Ausgehend von der Annahme, dass die mütterliche Deprivation mit vertrauten Artgenossen als weniger stressvoll empfunden werden würde, wäre eine IL-10-Konzentration ähnlich der der Kontrolltiere zu erwarten gewesen. Eine mögliche Erklärung für die niedrigeren Konzentrationen in der DG-Gruppe könnte erhöhter Stress durch die Umgruppierung sein. Die zufällige Zuordnung der Ferkel entweder zur DA- oder zur DG-Gruppe erfolgte unabhängig von Dominanzhierarchien. Dies könnte Kämpfe innerhalb der DG-Gruppe provoziert haben, um eine neue Gruppenhierarchie zu etablieren, und somit stärkeren Stress verursacht haben als die Einzeldeprivation. Die Verhaltensweisen während der Deprivationsbehandlung wurden nicht erfasst. Zur Beurteilung der angeborenen Immunantworten auf bakterielle Herausforderungen ist möglicherweise das Verhältnis von pro- und anti-inflammatorischen Cytokinen wichtiger als ihre individuellen Konzentrationen. Es wird angenommen, dass ein Ungleichgewicht dieses Verhältnisses schwerwiegende Krankheiten wie Depressionen und Burn-Out verursacht (You et al. 2011; Känel et al. 2008). In der vorliegenden Studie zeigte sich, dass die Vorbehandlung das Verhältnis des proinflammatorischen Cytokins TNF-α zu dem antiinflammatorischen Cytokin IL-10 geschlechtsspezifisch beeinflusste. Dabei hatten die männlichen Tiere der DA-Gruppe ein niedrigeres Verhältnis im Vergleich zu den Kontrollen, aber auch im Vergleich zu den DG-Tieren, bei denen ein den Kontrolltieren ähnliches Verhältnis nachweisbar war. Ein höheres Verhältnis impliziert eine stärkere Reaktion, die zur Bekämpfung einer Infektion besser

geeignet sein könnte. Somit könnte die Anwesenheit von Artgenossen die negativen Auswirkungen von sozialem Stress reduzieren, zumindest bei den männlichen Tieren.

Auffallend ist, dass sowohl die TNF-α- als auch IL-6-Konzentrationen und das TNF-α/IL-10-Verhältnis bei den weiblichen Tieren signifikant niedriger waren als bei den männlichen Tieren der Kontrollgruppe. Ähnliche Ergebnisse konnten ebenfalls in einer Humanstudie festgestellt werden, bei der Männer höhere TNF-α-, IL-6- und IL-1-Konzentrationen aufwiesen als Frauen. Die IL-10-Konzentrationen unterschieden sich jedoch nicht zwischen den Geschlechtern (Aulock et al. 2006). Generell konnte in Studien gezeigt werden, dass periphere mononukleäre Blutzellen als Reaktion auf LPS bei Männern mehr TNF-α produzieren als bei Frauen (Asai et al. 2001; Moxley et al. 2002). Unabhängig davon verursachte die vorherige Deprivationsbehandlung der Ferkel eine signifikant geringere Cytokinfreisetzung von TNF-α in Antwort auf LPS bei den männlichen, nicht aber bei den weiblichen Tieren. Ein möglicher Grund hierfür könnte eine unterschiedliche Regulation der HPA-Achse und einhergehend damit, eine unterschiedliche Anpassungsstrategie an Stresssituationen bei dem jeweiligen Geschlecht sein (Kudielka und Kirschbaum 2005; Beery und Kaufer 2015; Taylor et al. 2000). Es gibt eine Vielzahl von Studien, die sich mit den Auswirkungen des Geschlechts auf Stress- und Immunantworten beschäftigt haben. So zeigten beispielsweise Rohleder et al. (2001), dass Männer eine signifikant verringerte TNF-α- und IL-6-Sekretion als Reaktion auf LPS zeigten, wenn sie zuvor psychosozialem Stress ausgesetzt waren, wohingegen diese Reaktion bei den Frauen unverändert blieb. Die meisten dieser Studien wurden allerdings an adulten Menschen oder Tieren durchgeführt, die bereits einen voll entwickelten Geschlechtsdimorphismus aufwiesen. Demgegenüber haben nur wenige Studien geschlechtsspezifische Stress- oder Immunantworten während der Kindheit untersucht. Eine dieser seltenen Studien hat die geschlechtsspezifischen Effekte einer niedrig dosierten LPS-Behandlung auf die Cytokinkonzentrationen an 6 Wochen alten Ferkeln untersucht (Llamas Moya et al. 2006). Dabei konnte gezeigt werden, dass männliche Ferkel höhere IL-1- und TNF-α-Konzentrationen in Reaktion auf die LPS-Behandlung aufwiesen als weibliche Ferkel, was sich mit den Ergebnissen der vorliegenden Studie deckt. Wie dem auch sei, Studien, die die geschlechtsabhängigen Effekte von psychosozialem Stress auf die Immunität während der Neonatalperiode oder der juvenilen Phase berücksichtigen, fehlen bislang.

Die LPS-Applikation in der vorliegenden Studie induzierte nicht nur die vermehrte Freisetzung von Cytokinen, sondern führte auch zu einem signifikanten Anstieg der Plasmacortisol-Konzentrationen 3 h nach der LPS-Applikation. Die verstärkte Freisetzung von Glucocorticoiden nach einer Stimulation des Immunsystems ist Teil eines inhibitorischen Mechanismus, der Entzündungsreaktionen modulieren und damit eine Überreaktion des Immunsystems verhindern soll. In der vorliegenden Arbeit konnte weder ein Effekt der vorherigen Deprivationsbehandlung auf die Glucocorticoidfreisetzung als Reaktion auf LPS nachgewiesen werden, noch unterschied sie sich zwischen den männlichen und weiblichen Tieren. Auch wenn dieses Ergebnis mit denen anderer Studien übereinstimmt (Tuchscherer et al. 2004; Tuchscherer et al. 2006), gibt es Hinweise darauf, dass bereits in der Kindheit Geschlechtsunterschiede in der HPA-Regulation bestehen (Panagiotakopoulos und Neigh 2014; Cahill 2006). So fanden Llamas et al. (2006) bei weiblichen Ferkeln höhere Cortisol-Konzentrationen als Reaktion auf LPS als bei männlichen Ferkeln. Generell scheinen die Freisetzung von Glucocorticoiden als Reaktion auf Stress und die geschlechtsspezifischen Effekte besonders von der Art des Stressors abzuhängen, je nachdem, ob es sich um einen psychosozialen oder physischen Stressor handelt (Hollanders et al. 2017; Davis und Emory 1995; Stroud et al. 2002).

Wie bereits in zahlreichen Studien gezeigt werden konnte, spielt die HPA-Achse eine zentrale Rolle in der Regulation immunologischer Prozesse (Spencer und Deak 2017; Oppong und Cato 2015; Cain und Cidlowski 2017). Die HPA-Achse selbst wird durch Input aus limbischen Arealen wie der Amygdala oder dem Hippocampus sowie dem PFC beeinflusst. Aber auch zentrale Cytokine wie TNF-α, IL-1β oder IL-6 können als Mediatoren der HPA-Achse Entzündungsreaktionen, Krankheitssymptome wie verminderten Appetit und Fieber sowie die Aktivierung der HPA-Achse regulieren (Bernardini et al. 1990; Turnbull und Rivier 1995; Langhans und Hrupka 1999; Perlstein 1993). In der vorliegenden Studie zeigte sich, dass die Deprivationsbehandlung signifikant die TNF-α-mRNA-Expression in Antwort auf die LPS-Applikation im Hypothalamus der Ferkel beeinflusste. Es wurde für beide Deprivationsgruppen eine verringerte TNF-α-mRNA-Expression nachgewiesen, wobei dieser Effekt vor allem bei den männlichen Tieren beobachtet wurde und mit den niedrigeren peripheren TNF-α-Plasmakonzentrationen korrespondiert.

Darüber hinaus führte die vorherige mütterliche Deprivation zu einer signifikant niedrigeren MR-mRNA-Expression in der Amygdala als Reaktion auf LPS. Dieser Effekt

wurde allerdings nur bei den männlichen Ferkeln nachgewiesen. Mineralocorticoidrezeptoren werden insbesondere unter basalen Glucocorticoidkonzentrationen gebunden und sind für die Aufrechterhaltung der Homöostase von großer Bedeutung. Eine Veränderung der MR-Konzentrationen kann zu einer veränderten neuronalen Erregbarkeit führen, wodurch auch die Stressreaktion, die Homöostase und das Verhalten beeinflusst werden können (Kolber et al. 2008; Gomez-Sanchez 2014). Darüber hinaus war die GR-mRNA-Expression in der Amygdala beider Behandlungsgruppen tendenziell niedriger als in den Kontrollen, was auch auf eine veränderte Regulation der HPA-Achsen-Reaktivität hindeutet. Ähnliche Ergebnisse wurden in einer früheren Studie an Schweinen gefunden, wobei die Stress-Exposition eine signifikant reduzierte MR-mRNA-Expression in der Amygdala verursachte (Kanitz et al. 2009). In dieser Studie wurden die Tiere jedoch nur einmal dem psychosozialen Stressor ausgesetzt (4 h Isolation), und es wurde kein Geschlechtsunterschied deutlich. Demgegenüber konnten in der vorliegenden Studie signifikante Geschlechtsunterschiede in der MR-mRNA-Expression und dem MR/GR-Verhältnis gefunden werden, wobei diese bei den männlichen Tieren größer waren als bei weiblichen. Studien an adulten Ratten zeigten ähnliche Ergebnisse. Auch hier wurde bei männlichen Tieren eine generell höhere Konzentration von MR und GR in der Hypophyse und im Hypothalamus nachgewiesen. Diese Unterschiede führen zu einer veränderten HPA-Achsen-Reaktivität und zu einer unterschiedlichen Vulnerabilität gegenüber Stress zwischen den Geschlechtern (Kloet 2014; Turner und Debra 1985; Turner 1990). Interessanterweise wurde in der vorliegenden Studie eine höhere IL-10-mRNA-Expression in der Amygdala von weiblichen Tieren gefunden als in der von männlichen. Unter der Annahme, dass zentral produziertes IL-10 proinflammatorischen Cytokinen entgegenwirken kann (Dantzer 2004), könnte dies erklären, warum weibliche Tiere in der vorliegenden Studie als Reaktion auf LPS niedrigere proinflammatorische Cytokinkonzentrationen in der Peripherie (TNF-α und IL-6) aufwiesen als männliche. Bei Ratten wurde gezeigt, dass IL-10 eine schützende Wirkung auf Neuronen nach LPS-Behandlung, aber auch nach Hirnverletzungen hat (Kremlev und Palmer 2005; Spera et al. 1998). Die Deprivationsbehandlung in der vorliegenden Studie verursachte eine signifikante Reduktion der IL-10-mRNA-Expression in der Amygdala von weiblichen Tieren beider Deprivationsgruppen im Vergleich zu den Kontrollen. Es scheint, dass psychosozialer Stress die Geschlechter auf unterschiedliche Weise beeinflusst. Dies steht im Einklang mit Studien, die unterschiedliche Krankheitsanfälligkeiten in Abhängigkeit vom Geschlecht beschreiben

(Klein und Flanagan 2016). So zeigen Frauen beispielsweise eine höhere Resistenz gegenüber Infektionen (Aoyama et al. 2009; Barna et al. 1996; Zuk und McKean 1996), sind aber im Gegenzug anfälliger für Depressionen und Autoimmunerkrankungen (Klein und Flanagan 2016; Bangasser 2013; Voskuhl 2011).

Dazu passt, dass in der vorliegenden Studie die MR-, GR- und CRHR1-mRNA-Expressionen im PFC bei den weiblichen Tieren der Deprivationswürfe signifikant geringer waren als bei den weiblichen Kontrolltieren. In zahlreichen Studien wurde gezeigt, dass der PFC eine zentrale Rolle bei psychischen Erkrankungen wie Depression oder Schizophrenie spielt (Sullivan und Gratton 2002; Belleau et al. 2019; Palazidou 2012; Cotter et al. 2002; Webster et al. 2002). So wurde unter anderem herausgefunden, dass insbesondere eine verringerte GR-Expression im PFC mit einem verstärkten Auftreten von depressiven Verhaltensmerkmalen korreliert (Mizoguchi et al. 2003; Webster et al. 2002; McKlveen et al. 2013). Aber auch für den Hippocampus gibt es Hinweise, dass eine verringerte GR-mRNA-Expression bzw. ein verändertes MR/GR-Verhältnis mit einem erhöhten Risiko für Depressionen einhergeht (Medina et al. 2013; Webster et al. 2002; D'Alessio et al. 2020). Eine solche Verringerung der GR-mRNA-Expressionen im Hippocampus konnte auch bei den weiblichen Tieren der Deprivationsgruppen in der vorliegenden Studie nachgewiesen werden, nicht jedoch bei den männlichen Tieren. Eine Beeinflussung der Genexpression durch die vorherige LPS-Behandlung erscheint unwahrscheinlich. So konnten unter anderem Sing et al. (2004) zeigen, dass die erhöhten CRH- und GR-mRNA-Expressionen 9 h nach der LPS-Injektion wieder auf ihr basales Niveau zurückgekehrt waren. Zwar gibt es Studien, die eine langfristige Beeinflussung der Genexpression 3 Tage nach einer LPS-Injektion nachweisen konnten; diese verwendeten jedoch eine deutlich höhere LPS-Dosis (3 mg/kg Körpergewicht) und betrafen nicht die Expression HPA-Achsen-regulierender Gene (Eklind et al. 2006; Schnydrig et al. 2007). In der vorliegenden Studie war die Genexpression im PFC und im Hippocampus lediglich bei den weiblichen Tieren der Behandlungsgruppen beeinflusst. Die vorliegenden Daten zeigen, dass die chronische postnatale Stressbelastung sich unterschiedlich auf die Regulation der HPA-Achse beider Geschlechter auswirkte, wobei männliche Tiere eine höhere Anfälligkeit gegenüber einer akuten Endotoxämie zu haben scheinen. Demgegenüber waren bei den weiblichen Tieren verstärkt Anzeichen für ein depressives Verhalten nachweisbar.

Darüber hinaus konnten bei den weiblichen Kontrolltieren, wie schon am 20. LT signifikant höhere MR-, GR- und CRHR1-Expressionen im PFC nachgewiesen werden als bei den männlichen Kontrolltieren. Ähnliche Ergebnisse zeigten sich für die GR-Expression im Hippocampus, die ebenfalls bei den weiblichen Kontrolltieren höher war als bei den männlichen Kontrolltieren. Da die Kontrolltiere keiner psychosozialen Stressbelastung ausgesetzt waren bzw. männliche und weibliche Tiere die gleiche Behandlung erhielten, legen diese Daten nahe, dass bereits während der postnatalen Periode generelle Unterschiede in der Stressregulation zwischen den beiden Geschlechtern existieren. Ähnliche Ergebnisse konnten ebenfalls in einigen Studien nachgewiesen werden, die sich mit den Effekten des Geschlechts während der präpubertären Phase auf physiologische und immunologische Parameter beschäftigt haben (Gegenhuber und Tollkuhn 2020; Constantinof et al. 2019; Kight und McCarthy 2014). Aufgrund der Vielzahl von Prozessen, die bereits vor der Geschlechtsreife zu der geschlechtlichen Differenzierung des Gehirns beitragen, wie beispielsweise epigenetische Modifikationen oder neuromorphologische Veränderungen, haben die Art und der Zeitpunkt von erlebten Widrigkeiten bereits während der Kindheit das Potential, geschlechtsspezifische Langzeiteffekte auf das emotionale und kognitive Verhalten hervorzurufen und das Risiko pathologischer Erkrankungen im adulten Alter zu fördern (McEwen et al. 2016; McLaughlin et al. 2009; Murgatroyd et al. 2009; Bath 2020). Auch wenn in jüngster Zeit das Interesse gestiegen ist, die dabei zu Grunde liegenden Prozesse aufzuklären, liegen bisher nur wenige Studien vor, die die neuronalen Auswirkungen frühkindlicher Belastungen geschlechtsspezifisch beschreiben.

6 Fazit

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Auswirkungen einer sich wiederholenden psychosozialen Stressbelastung während der postnatalen Periode auf die Mutter-Kind-Interaktion sowie auf die Gesundheit und das Verhalten der Ferkel zu untersuchen. Zur Auslösung von psychosozialem Stress wurde eine maternale Deprivation und soziale Isolation genutzt. Darüber hinaus diente eine einmalige intraperitoneale Applikation von LPS als Modell für eine bakterielle Infektion.

In einem multidisziplinären Ansatz konnte gezeigt werden, dass eine wiederholte maternale Deprivation und Isolation sich nicht nur auf das neuroendokrine System und das Verhalten der Ferkel auswirkt, sondern auch auf die Mutter-Kind-Interaktion. Bei den Sauen bewirkte die erste Deprivation einen Anstieg der Cortisolkonzentrationen in der Milch, die an den darauffolgenden Tagen jedoch nicht mehr nachweisbar war. Im Verhalten konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Sauen der Deprivations- und Kontrollwürfe nachgewiesen werden. Allerdings initiierten die Ferkel der Deprivationswürfe häufiger den Saugakt und auch die Intervalldauern waren bei den deprivierten Ferkeln deutlich kürzer als bei den Kontrolltieren. Da die Ferkel während der 2-stündigen Deprivation nicht gesäugt werden konnten und auch sonst keine Nahrung während dieser Zeit erhielten, ist ein verstärktes Hungergefühl die wahrscheinlichste Ursache für die verkürzten Zeiten zwischen den Saugakten und das stärkere Einfordern des Saugaktes seitens der Ferkel. Insgesamt deuten diese Daten darauf hin, dass die Sauen der Deprivationswürfe schnell an die wiederholte und zeitweise Entnahme der Ferkel habituierten und die Mutter-Kind-Interaktion, ausgehend von den untersuchten Verhaltensparametern, nicht nachhaltig von der Behandlung beeinflusst wurde. Da die Beobachtungen sich jedoch nur auf die ersten 3 Saugakte nach Zurücksetzen der Ferkel beschränkte und nicht alle Parameter der Mutter-Kind-Interaktion umfasste, kann nicht ausgeschlossen werden, dass die Behandlung die Mutter-Kind-Interaktion anderweitig beeinflusste.

Bei den Ferkeln zeigte sich, dass die maternale Deprivation signifikant das neuroendokrine System beeinflusste. So konnte für maternal deprivierte Tiere eine geringere Zunahme der Cortisolkonzentrationen im Plasma in Antwort auf den OF/NO-Test nachgewiesen werden. Da der OF/NO-Test zugleich einen akuten Stressor für die Tiere

darstellt, können die geringeren Cortisolkonzentrationen insbesondere bei den DA-Tieren als Ergebnis der Habituation an die wiederholte Isolation während der maternalen Deprivation gewertet werden. Darüber hinaus führte die Deprivationsbehandlung zu einer drastischen Veränderung der Expression von Genen in stress- und verhaltensassoziierten Hirnarealen, die insgesamt auf eine beeinträchtigte Regulierung der HPA-Achse hindeuten. Dies zeigte sich auch im OF/NO-Test, wobei die beobachteten ethologischen Reaktionen bei den deprivierten Tieren auf eine erhöhte Ängstlichkeit und Erregbarkeit schließen lassen. Zudem zeigten die Ergebnisse des zweiten OF/NO-Tests, dass die maternale Deprivation langfristig das Adaptationsvermögen und die Verhaltensreaktivität der Ferkel beeinflusste. Hieraus kann geschlussfolgert werden, dass die wiederholte maternale Deprivation und Isolation ein geeignetes Modell für eine wiederholte psychosoziale Stressbelastung darstellt und zu einer langanhaltenden Modifizierung physiologischer und ethologischer Stressreaktionen führt.

Dies zeigte sich auch bei der Untersuchung der Immunkompetenz mittels LPS. Generell war die Immunantwort bei allen Tieren durch einen Anstieg proinflammatorischer Cytokine gekennzeichnet, sowie durch eine Aktivierung der HPA-Achse und das Auftreten typischer Krankheitssymptome. Jedoch waren die Krankheitssymptome bei den maternal deprivierten Tieren deutlich stärker ausgeprägt. Zudem wiesen maternal deprivierte Ferkel deutlich geringere Konzentrationen proinflammatorischer Cytokine im Plasma und im Hypothalamus, sowie ein geringeres Verhältnis der pro- und antiinflammatorischen Cytokine TNF-α und IL-10 auf. Dieser Effekt zeigte sich jedoch nur bei den männlichen Tieren und war bei den einzel-isolierten Tieren besonders stark ausgeprägt. Dem gegenüber zeigten die weiblichen Ferkel der Deprivationsgruppen signifikant geringere Expressionen der Stresshormonrezeptoren im PFC. Diese Ergebnisse legen nahe, dass maternal deprivierte Tiere im Falle einer Infektion einen schwereren Krankheitsverlauf zeigen würden. Diese Effekte erwiesen sich als geschlechtsspezifisch und waren von der Behandlungsgruppe abhängig.

Ferkel, die gemeinsam mit Wurfgeschwistern depriviert worden waren, setzten ebenso wie die Kontrolltiere mehr Cortisol in Antwort auf den OF/NO-Test frei als die DA-Tiere. Verglichen mit den DA-Tieren zeigten Tiere, die in Gruppe depriviert worden waren, zudem weniger starke Verhaltensänderungen im OF/NO-Test und in Antwort auf die LPS-Stimulation weniger drastisch veränderte Konzentrationen pro- und antiinflammatorischer Cytokine und glichen somit im Basalniveau und den Adaptationsmechanismen eher den Kontrolltieren. Physiologische und ethologische Stressreaktionen in Antwort auf einen

wiederholten psychosozialen Stressor können demnach durch die Anwesenheit von Wurfgeschwistern abgemildert werden, selbst wenn diese auch dem Stressor ausgesetzt sind. In dieser Arbeit wurde erstmalig nachgewiesen, dass das Geschlecht entscheidend die Regulation der physiologischen und ethologischen Stressantwort bei Ferkeln beeinflusst. Dies zeigte sich sowohl in der basalen Genexpression von Stresshormonrezeptoren, die bei den weiblichen Tieren zumeist höher war als bei den männlichen, als auch bei der Sezernierung von proinflammatorischen Cytokinen, welche bei den männlichen Kontrolltieren höher war als bei den weiblichen. In Hinblick auf die Immunstimulation zeigte sich zudem, dass die Sezernierung von Cytokinen nur bei den männlichen Ferkeln durch die vorherige Deprivationsbehandlung beeinflusst wurde. Im Gegensatz dazu war die Expression von Stresshormonrezeptoren im PFC nur bei den weiblichen Tieren von der vorherigen Deprivationsbehandlung beeinflusst. Diese Daten lassen darauf schließen, dass die langfristigen Effekte von psychosozialem Stress die Geschlechter unterschiedlich betreffen. Männliche Tiere scheinen demnach eher in ihrer funktionalen Immunantwort und der Erregerabwehr beeinträchtigt zu sein, wohingegen weibliche Tiere ein höheres Risiko für affektive Störungen zu haben scheinen.

Abschließend kann festgestellt werden, dass diese Arbeit grundlegende Erkenntnisse über die Regulation einer wiederholten psychosozialen Stressbelastung während der früh-postnatalen Periode und deren kurz- und langfristige Auswirkungen auf Neuroendokrinum, Immunsystem und Verhalten liefert. Als praktische Konsequenz dieser Arbeit sollten Haltungssysteme bevorzugt werden, die ein Verbleiben der Tiere in ihren familiären Gruppen ermöglicht, um somit auch langfristig die Gesundheit und das Wohlbefinden der Tiere zu gewährleisten.

Da wesentliche Schritte in der postnatalen Ontogenese bei Menschen und Schweinen ähnlich ablaufen, bietet diese Arbeit zudem auch eine Grundlage zur Untersuchung der geschlechtsspezifischen Stressregulation am Tiermodell Schwein. Damit stellt sie einen wichtigen Beitrag für die humanmedizinische Erforschung von affektiven Störungen infolge einer frühkindlichen psychosozialen Stressbelastung dar.

7 Literaturverzeichnis

Aguilera, G. (1994): Regulation of pituitary ACTH secretion during chronic stress. In: *Frontiers in Neuroendocrinology* 15 (4), S. 321–350. DOI: 10.1006/frne.1994.1013.

Aguilera, G. (1998): Corticotropin releasing hormone, receptor regulation and the stress response. In: *Trends in Endocrinology & Metabolism* 9 (8), S. 329–336. DOI: 10.1016/S1043-2760(98)00079-4.

Aguilera, G.; Rabadan-Diehl, C. (2000): Vasopressinergic regulation of the hypothalamic–pituitary–adrenal axis: implications for stress adaptation. In: *Regulatory Peptides* 96 (1-2), S. 23–29. DOI: 10.1016/S0167-0115(00)00196-8.

Aihara, M.; Ida, I.; Yuuki, N.; Oshima, A.; Kumano, H.; Takahashi, K. et al. (2007): HPA axis dysfunction in unmedicated major depressive disorder and its normalization by pharmacotherapy correlates with alteration of neural activity in prefrontal cortex and limbic/paralimbic regions. In: *Psychiatry Research* 155 (3), S. 245–256. DOI: 10.1016/j.pscychresns.2006.11.002.

Amat, J.; Baratta, M. V.; Paul, E.; Bland, S. T.; Watkins, L. R.; Maier, S. F. (2005): Medial prefrontal cortex determines how stressor controllability affects behavior and dorsal raphe nucleus. In: *Nature Neuroscience* 8 (3), S. 365–371. DOI: 10.1038/nn1399.

Andersen, I. L.; Nævdal, E.; Bøe, K. E. (2011): Maternal investment, sibling competition, and offspring survival with increasing litter size and parity in pigs (Sus scrofa). In: *Behavioral Ecology and Sociobiology* 65 (6), S. 1159–1167. DOI: 10.1007/s00265-010-1128-4.

Angelucci, F.; Brenè, S.; Mathé, A. A. (2005): BDNF in schizophrenia, depression and corresponding animal models. In: *Molecular Psychiatry* 10 (4), S. 345–352. DOI: 10.1038/sj.mp.4001637.

Aoyama, M.; Kotani, J.; Usami, M. (2009): Gender difference in granulocyte dynamics and apoptosis and the role of IL-18 during endotoxin-induced systemic inflammation. In: *Shock* 32 (4), S. 401–409. DOI: 10.1097/SHK.0b013e31819c358a.

Aparicio, M.; Browne, P. D.; Hechler, C.; Beijers, R.; Rodríguez, J. M.; Weerth, C.; Fernández, L. (2020): Human milk cortisol and immune factors over the first three postnatal months: Relations to maternal psychosocial distress. In: *PloS one* 15 (5), e0233554. DOI: 10.1371/journal.pone.0233554.

Arabadzisz, D.; Diaz-Heijtz, R.; Knuesel, I.; Weber, E.; Pilloud, S.; Dettling, A. C.; Feldon, J.; Law, A. J.; Harrison, P. J.; Pryce, C. R. (2010): Primate early life stress leads to long-term mild hippocampal decreases in corticosteroid receptor expression. In: *Biological Psychiatry* 67 (11), S. 1106–1109. DOI: 10.1016/j.biopsych.2009.12.016.

Arnone, M.; Dantzer, R. (1980): Does frustration induce aggression in pigs? In: *Applied Animal Ethology* 6 (4), S. 351–362. DOI: 10.1016/0304-3762(80)90135-2.

Asai, K.; Hiki, N.; Mimura, Y.; Ogawa, T.; Unou, K.; Kaminishi, M. (2001): Gender differences in cytokine secretion by human peripheral blood mononuclear cells: role of estrogen in modulating LPS-induced cytokine secretion in an ex vivo septic model. In: *Shock* 16 (5), S. 340–343. DOI: 10.1097/00024382-200116050-00003.

Aulock, S.; Deininger, S.; Draing, C.; Gueinzius, K.; Dehus, O.; Hermann, C. (2006): Gender difference in cytokine secretion on immune stimulation with LPS and LTA. In: *Journal of*

Interferon & Cytokine Research : the official journal of the International Society for Interferon and Cytokine Research 26 (12), S. 887–892. DOI: 10.1089/jir.2006.26.887.

Ballard, P. L.; Baxter, J. D.; Higgins, S. J.; Rousseau, G. G.; Tomkins, G. M. (1974): General presence of glucocorticoid receptors in mammalian tissues. In: *Endocrinology* 94 (4), S. 998–1002. DOI: 10.1210/endo-94-4-998.

Bangasser, D. A. (2013): Sex differences in stress-related receptors: "micro" differences with "macro" implications for mood and anxiety disorders. In: *Biology of Sex Differences* 4 (1), S. 2. DOI: 10.1186/2042-6410-4-2.

Barna, M.; Komatsu, T.; Bi, Z.; Reiss, C. S. (1996): Sex differences in susceptibility to viral infection of the central nervous system. In: *Journal of Neuroimmunology* 67 (1), S. 31–39. DOI: 10.1016/0165-5728(96)00022-7.

Bath, K. G. (2020): Synthesizing views to understand sex differences in response to early life adversity. In: *Trends in Neurosciences* 43 (5), S. 300–310. DOI: 10.1016/j.tins.2020.02.004.

Baxter, E. M.; Rutherford, K. M.D.; D'Eath, R. B.; Arnott, G.; Turner, S. P.; Sandøe, P.; Mousten, V. A.; Thorup, F.; Edwards, S. A.; Lawrence, A. B. (2013): The welfare implications of large litter size in the domestic pig II: management factors. In: *Animal Welfare* 22 (2), S. 219–238. DOI: 10.7120/09627286.22.2.219.

Baxter, E. M.; Jarvis, S.; Palarea-Albaladejo, J.; Edwards, S. A. (2012): The weaker sex? The propensity for male-biased piglet mortality. In: *PloS one* 7 (1), e30318. DOI: 10.1371/journal.pone.0030318.

Beery, A. K.; Kaufer, D. (2015): Stress, social behavior, and resilience: insights from rodents. In: *Neurobiology of Stress* 1, S. 116–127. DOI: 10.1016/j.ynstr.2014.10.004.

Belleau, E. L.; Treadway, M. T.; Pizzagalli, D. A. (2019): The impact of stress and major depressive disorder on hippocampal and medial prefrontal cortex morphology. In: *Biological Psychiatry* 85 (6), S. 443–453. DOI: 10.1016/j.biopsych.2018.09.031.

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. In: *Science* 238 (4826), S. 524–526. DOI: 10.1126/science.2443979.

Bernardini, R.; Kamilaris, T. C.; Calogero, A. E.; Johnson, E. O.; Gomez, M. T.; Gold, P. W.; Chrousos, G. P. (1990): Interactions between tumor necrosis factor-alpha, hypothalamic corticotropin-releasing hormone, and adrenocorticotropin secretion in the rat. In: *Endocrinology* 126 (6), S. 2876–2881. DOI: 10.1210/endo-126-6-2876.

Besedovsky, H.; Del Rey, A.; Sorkin, E.; Dinarello, C. A. (1986): Immunoregulatory feedback between interleukin-1 and glucocorticoid hormones. In: *Science* 233 (4764), S. 652–654. DOI: 10.1126/science.3014662.

Besedovsky, H. O.; del Rey, A. (2011): Central and peripheral cytokines mediate immune-brain connectivity. In: *Neurochemical Research* 36 (1), S. 1–6. DOI: 10.1007/s11064-010-0252-x.

Betancur, C.; Borrell, J.; Guaza, C. (1995): Cytokine regulation of corticosteroid receptors in the rat hippocampus: effects of interleukin-1, interleukin-6, tumor necrosis factor and lipopolysaccharide. In: *Neuroendocrinology* 62 (1), S. 47–54. DOI: 10.1159/000126987.

Blackshaw, J. K.; Blackshaw, A. W. (1989): Limitations of salivary and blood cortisol determinations in pigs. In: *Veterinary Research Communications* 13 (4), S. 265–271. DOI: 10.1007/BF00420834.

Boissy, A. (1995): Fear and fearfulness in animals. In: *The Quarterly Review of Biology* 70 (2), S. 165–191. DOI: 10.1086/418981.

Brambell, F. W. R. (1971): The transmission of passive immunity from mother to young. In: *Immunology* 20 (1), S. 119.

Bremel, R. D.; Gangwer, M. I. (1978): Effect of adrenocorticotropin injection and stress on milk cortisol content. In: *Journal of Dairy Science* 61 (8), S. 1103–1108. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(78)83693-5.

Brenmoehl, J.; Ohde, D.; Wirthgen, E.; Hoeflich, A. (2018): Cytokines in milk and the role of TGF-beta. In: *Best practice & research. Clinical Endocrinology & Metabolism* 32 (1), S. 47–56. DOI: 10.1016/j.beem.2018.01.006.

Bruijn, R.; Romero, L. M. (2021): Chronic stress reverses enhanced neophobia following an acute stressor in European starlings. In: *Journal of Experimental Zoology. Part A, Ecological and Integrative Physiology* 335 (2), S. 265–274. DOI: 10.1002/jez.2431.

Buckingham, J. C.; Loxley, H. D.; Taylor, A. D.; Flower, R. J. (1994): Cytokines, glucocorticoids and neuroendocrine function. In: *Pharmacological Research* 30 (1), S. 35–42. DOI: 10.1016/1043-6618(94)80085-5.

Bushong, D. M.; Friend, T. H.; Knabe, D. A. (2000): Salivary and plasma cortisol response to adrenocorticotropin administration in pigs. In: *Laboratory Animals* 34 (2), S. 171–181. DOI: 10.1258/002367700780457482.

Cacioppo, J. T.; Hawkley, L. C.; Norman, G. J.; Berntson, G. G. (2011): Social isolation. In: *Annals of the New York Academy of Sciences* 1231, S. 17–22. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2011.06028.x.

Cahill, L. (2006): Why sex matters for neuroscience. In: *Nature Reviews. Neuroscience* 7 (6), S. 477–484. DOI: 10.1038/nrn1909.

Cain, D. W.; Cidlowski, J. A. (2017): Immune regulation by glucocorticoids. In: *Nature Reviews. Immunology* 17 (4), S. 233–247. DOI: 10.1038/nri.2017.1.

Cannon, W. B. (1914): The emergency funtion of the adrenal medulla in pain and the major the major emotions. In: *The American Journal of Physiology* 33 (2), S. 356–372. DOI: 10.1152/ajplegacy.1914.33.2.356.

Cannon, W. B. (1932): The Wisdom of the Body. New York: W.W. Norton & Co.

Capuco, A. V.; Akers, R. M. (2009): The origin and evolution of lactation. In: *Journal of Biology* 8 (4), S. 37. DOI: 10.1186/jbiol139.

Carrasco, G. A.; van de Kar, L. D. (2003): Neuroendocrine pharmacology of stress. In: *European Journal of Pharmacology* 463 (1-3), S. 235–272. DOI: 10.1016/S0014-2999(03)01285-8.

Carter, C. S. (2003): Developmental consequences of oxytocin. In: *Physiology & Behavior* 79 (3), S. 383–397. DOI: 10.1016/S0031-9384(03)00151-3.

Chan, C. B.; Ye, K. (2017): Sex differences in brain-derived neurotrophic factor signaling and functions. In: *Journal of Neuroscience Research* 95 (1-2), S. 328–335. DOI: 10.1002/jnr.23863.

Charmandari, E.; Tsigos, C.; Chrousos, G. (2005): Endocrinology of the stress response. In: *Annual Review of Physiology* 67, S. 259–284. DOI: 10.1146/annurev.physiol.67.040403.120816.

Chen, H.-H; Zhang, N.; Li, W.-Y; Fang, M.-R; Zhang, H.; Fang, Y.-S; Ding, M.-X; Fu, X.-Y. (2015): Overexpression of brain-derived neurotrophic factor in the hippocampus protects

against post-stroke depression. In: *Neural Regeneration Research* 10 (9), S. 1427–1432. DOI: 10.4103/1673-5374.165510.

Chen, J.-X; Tang, Y.-T; Yang, J.-X (2008): Changes of glucocorticoid receptor and levels of CRF mRNA, POMC mRNA in brain of chronic immobilization stress rats. In: *Cellular and Molecular Neurobiology* 28 (2), S. 237–244. DOI: 10.1007/s10571-007-9170-0.

Chen, J.; Song, Y.; Yang, J.; Zhang, Y.; Zhao, P.; Zhu, XJ.; Su, HC. (2013): The contribution of TNF-α in the amygdala to anxiety in mice with persistent inflammatory pain. In: *Neuroscience Letters* 541, S. 275–280. DOI: 10.1016/j.neulet.2013.02.005.

Chrousos, G. P. (2000): The stress response and immune function: clinical implications. The 1999 Novera H. Spector Lecture. In: *Annals of the New York Academy of Sciences* 917, S. 38–67. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2000.tb05371.x.

Cohen, S.; Janicki-Deverts, D.; Doyle, W. J.; Miller, G. E.; Frank, E.; Rabin, B. S.; Turner, R. B. (2012): Chronic stress, glucocorticoid receptor resistance, inflammation, and disease risk. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 109 (16), S. 5995–5999. DOI: 10.1073/pnas.1118355109.

Cohen, S.; Wills, T. A. (1985): Stress, social support, and the buffering hypothesis. In: *Psychological Bulletin* 98 (2), S. 310–357. DOI: 10.1037/0033-2909.98.2.310.

Colson, V.; Orgeur, P.; Foury, A.; Mormède, P. (2006): Consequences of weaning piglets at 21 and 28 days on growth, behaviour and hormonal responses. In: *Applied Animal Behaviour Science* 98 (1-2), S. 70–88. DOI: 10.1016/j.applanim.2005.08.014.

Constantinof, A.; Moisiadis, V. G.; Kostaki, A.; Szyf, M.; Matthews, S. G. (2019): Antenatal glucocorticoid exposure results in sex-specific and transgenerational changes in prefrontal cortex gene transcription that relate to behavioural outcomes. In: *Scientific Reports* 9 (1), S. 764. DOI: 10.1038/s41598-018-37088-3.

Cotter, D.; Mackay, D.; Chana, G.; Beasley, C.; Landau, S.; Everall, I. P. (2002): Reduced neuronal size and glial cell density in area 9 of the dorsolateral prefrontal cortex in subjects with major depressive disorder. In: *Cerebral Cortex (New York, N.Y. : 1991)* 12 (4), S. 386–394. DOI: 10.1093/cercor/12.4.386.

Coutinho, A. E.; Chapman, K. E. (2011): The anti-inflammatory and immunosuppressive effects of glucocorticoids, recent developments and mechanistic insights. In: *Molecular and Cellular Endocrinology* 335 (1), S. 2–13. DOI: 10.1016/j.mce.2010.04.005.

Crane, J. W.; Ebner, K.; Day, T. A. (2003): Medial prefrontal cortex suppression of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis response to a physical stressor, systemic delivery of interleukin-1beta. In: *The European Journal of Neuroscience* 17 (7), S. 1473–1481. DOI: 10.1046/j.1460-9568.2003.02568.x.

Cronin, G. M.; Rault, J. L.; Glatz, P. C. (2014): Lessons learned from past experience with intensive livestock management systems. In: *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)* 33 (1), S. 139–151. DOI: 10.20506/rst.33.1.2256.

Cruz-Topete, D.; Cidlowski, J. A. (2015): One hormone, two actions: anti- and pro-inflammatory effects of glucocorticoids. In: *Neuroimmunomodulation* 22 (1-2), S. 20–32. DOI: 10.1159/000362724.

Cunha, C.; Brambilla, R.; Thomas, K. L. (2010): A simple role for BDNF in learning and memory? In: *Frontiers in Molecular Neuroscience* 3, S. 1. DOI: 10.3389/neuro.02.001.2010.

Cupps, T. R.; Gerrard, T. L.; Falkoff, R. J.; Whalen, G.; Fauci, A. S. (1985): Effects of in vitro corticosteroids on B cell activation, proliferation, and differentiation. In: *The Journal of Clinical Investigation* 75 (2), S. 754–761. DOI: 10.1172/JCI111757.

D'Alessio, L.; Mesarosova, L.; Anink, J. J.; Kochen, S.; Solís, P.; Oddo, S.; Konopka, H.; Iyer, M. A.; Mühlebner, A.; Lucassen, P. J.; Aronica, E.; van Vliet, E. A. (2020): Reduced expression of the glucocorticoid receptor in the hippocampus of patients with drug-resistant temporal lobe epilepsy and comorbid depression. In: *Epilepsia* 61 (8), S. 1595–1605. DOI: 10.1111/epi.16598.

D'Amato, F. R.; Cabib, S.; Puglisi-Allegra, S.; Patacchioli, F. R.; Cigliana, G.; Maccari, S.; Angelucci, L. (1992): Effects of acute and repeated exposure to stress on the hypothalamo-pituitary-adrenocortical activity in mice during postnatal development. In: *Hormones and Behavior* 26 (4), S. 474–485. DOI: 10.1016/0018-506X(92)90015-N.

D'Amato, F. R.; Cabib, S.; Ventura, R.; Orsini, C. (1998): Long-term effects of postnatal manipulation on emotionality are prevented by maternal anxiolytic treatment in mice. In: *Developmental Psychobiology* 32 (3), S. 225–234. DOI: 10.1002/(SICI)1098-2302(199804)32:3<225::AID-DEV6>3.0.CO;2-Q.

Dantzer, R. (2004): Cytokine-induced sickness behaviour: a neuroimmune response to activation of innate immunity. In: *European Journal of Pharmacology* 500 (1-3), S. 399–411. DOI: 10.1016/j.ejphar.2004.07.040.

Dantzer, R.; O'Connor, J. C.; Freund, G. G.; Johnson, R. W.; Kelley, K. W. (2008): From inflammation to sickness and depression. When the immune system subjugates the brain. In: *Nature Reviews. Neuroscience* 9 (1), S. 46–56. DOI: 10.1038/nrn2297.

Datta, S.; Maclean, R. R. (2007): Neurobiological mechanisms for the regulation of mammalian sleep-wake behavior: reinterpretation of historical evidence and inclusion of contemporary cellular and molecular evidence. In: *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 31 (5), S. 775–824. DOI: 10.1016/j.neubiorev.2007.02.004.

Davis, A. K.; Maney, D. L.; Maerz, J. C. (2008): The use of leukocyte profiles to measure stress in vertebrates: a review for ecologists. In: *Functional Ecology* 22 (5), S. 760–772. DOI: 10.1111/j.1365-2435.2008.01467.x.

Davis, A. K.; Maney, D. L. (2018): The use of glucocorticoid hormones or leucocyte profiles to measure stress in vertebrates: What's the difference? In: *Methods Ecol. Evol.* 9 (6), S. 1556–1568. DOI: 10.1111/2041-210X.13020.

Davis, M.; Emory, E. (1995): Sex differences in neonatal stress reactivity. In: *Child Development* 66 (1), S. 14–27. DOI: 10.1111/j.1467-8624.1995.tb00852.x.

Day, J. E. L.; Kyriazakis, I.; Lawrence, A. B. (1995): The effect of food deprivation on the expression of foraging and exploratory behaviour in the growing pig. In: *Applied Animal Behaviour Science* 42 (3), S. 193–206. DOI: 10.1016/0168-1591(95)93889-9.

Dedovic, K.; Duchesne, A.; Andrews, J.; Engert, V.; Pruessner, J. C. (2009): The brain and the stress axis: the neural correlates of cortisol regulation in response to stress. In: *NeuroImage* 47 (3), S. 864–871. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2009.05.074.

Del Arco, A.; Mora, F. (2009): Neurotransmitters and prefrontal cortex-limbic system interactions: implications for plasticity and psychiatric disorders. In: *Journal of Neural Transmission (Vienna, Austria : 1996)* 116 (8), S. 941–952. DOI: 10.1007/s00702-009-0243-8.

Desautes, C.; Bidanel, J.; Mormede, P. (1997): Genetic Study of Behavioral and Pituitary-Adrenocortical Reactivity in Response to an Environmental Challenge in Pigs. In: *Physiology & Behavior* 62 (2), S. 337–345. DOI: 10.1016/S0031-9384(97)00019-X.

Devillers, N.; Le Dividich, J.; Prunier, A. (2011): Influence of colostrum intake on piglet survival and immunity. In: *Animal* 5 (10), S. 1605–1612. DOI: 10.1017/S175173111100067X.

Dhabhar, F. S. (2014): Effects of stress on immune function: the good, the bad, and the beautiful. In: *Immunologic Research* 58 (2-3), S. 193–210. DOI: 10.1007/s12026-014-8517-0.

DiBenedictis, B. T.; Nussbaum, E. R.; Cheung, H. K.; Veenema, A. H. (2017): Quantitative mapping reveals age and sex differences in vasopressin, but not oxytocin, immunoreactivity in the rat social behavior neural network. In: *The Journal of Comparative Neurology* 525 (11), S. 2549–2570. DOI: 10.1002/cne.24216.

Dickens, M.; Romero, L. M.; Cyr, N. E.; Dunn, I. C.; Meddle, S. L. (2009): Chronic stress alters glucocorticoid receptor and mineralocorticoid receptor mRNA expression in the European starling (Sturnus vulgaris) brain. In: *Journal of Neuroendocrinology* 21 (10), S. 832–840. DOI: 10.1111/j.1365-2826.2009.01908.x.

Dinarello, C. A. (2000): Proinflammatory cytokines. In: *Chest* 118 (2), S. 503–508. DOI: 10.1378/chest.118.2.503.

Diorio, D.; Viau, V.; Meaney, M. J. (1993): The role of the medial prefrontal cortex (cingulate gyrus) in the regulation of hypothalamic-pituitary-adrenal responses to stress. In: *The Journal of Neuroscience* 13 (9), S. 3839–3847. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.13-09-03839.1993.

Dixon, M. L.; Thiruchselvam, R.; Todd, R.; Christoff, K. (2017): Emotion and the prefrontal cortex: An integrative review. In: *Psychological Bulletin* 143 (10), S. 1033–1081. DOI: 10.1037/bul0000096.

Dobbing, J.; Sands, J. (1979): Comparative aspects of the brain growth spurt. In: *Early Human Development* 3 (1), S. 79–83. DOI: 10.1016/0378-3782(79)90022-7.

Donald, R. D.; Healy, S. D.; Lawrence, A. B.; Rutherford, K. M. D. (2011): Emotionality in growing pigs: is the open field a valid test? In: *Physiology & Behavior* 104 (5), S. 906–913. DOI: 10.1016/j.physbeh.2011.05.031.

Donovan, T. S.; Dritz, S. S. (2000): Effect of split nursing on variation in pig growth from birth to weaning. In: *Journal of the American Veterinary Medical Association* 217 (1), S. 79–81. DOI: 10.2460/javma.2000.217.79.

Drake, A.; Fraser, D.; Weary, D. M. (2008): Parent–offspring resource allocation in domestic pigs. In: *Behavioral Ecology and Sociobiology* 62 (3), S. 309–319. DOI: 10.1007/s00265-007-0418-y.

Dunn, A. J. (2007): The HPA Axis and the Immune System. In: The Hypothalamus-Pituitary-Adrenal Axis, Bd. 7: Elsevier (NeuroImmune Biology), S. 3–15.

Dyck, G. W.; Swierstra, E. E. (1987): Causes of piglet death from birth to weaning. In: *Canadian Journal of Animal Science* 67 (2), S. 543–547. DOI: 10.4141/cjas87-053.

Einon, D. F.; Morgan, M. J. (1978): Early isolation produces enduring hyperactivity in the rat, but no effect upon spontaneous alternation. In: *The Quarterly Journal of Experimental Psychology* 30 (1), S. 151–156. DOI: 10.1080/14640747808400663.

Eklind, S.; Hagberg, H.; Wang, X.; Sävman, K.; Leverin, A.-L; Hedtjärn, M.; Mallard, C. (2006): Effect of lipopolysaccharide on global gene expression in the immature rat brain. In: *Pediatric Research* 60 (2), S. 161–168. DOI: 10.1203/01.pdr.0000228323.32445.7d.

Elenkov, I. J. (2004): Glucocorticoids and the Th1/Th2 balance. In: *Annals of the New York Academy of Sciences* 1024, S. 138–146. DOI: 10.1196/annals.1321.010.

Elenkov, I. J.; Chrousos, G. P. (2002): Stress hormones, proinflammatory and antiinflammatory cytokines, and autoimmunity. In: *Annals of the New York Academy of Sciences* 966, S. 290–303. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2002.tb04229.x.

Engeland, C. G.; Nielsen, D. V.; Kavaliers, M.; Ossenkopp, K.-P (2001): Locomotor activity changes following lipopolysaccharide treatment in mice: a multivariate assessment of behavioral tolerance. In: *Physiology & Behavior* 72 (4), S. 481–491. DOI: 10.1016/S0031-9384(00)00436-4.

Escribano, D.; Gutiérrez, A. M.; Tecles, F.; Cerón, J. J. (2015): Changes in saliva biomarkers of stress and immunity in domestic pigs exposed to a psychosocial stressor. In: *Research in Veterinary Science* 102, S. 38–44. DOI: 10.1016/j.rvsc.2015.07.013.

Euler, U. S. v. (1946): Sympathin in adrenergic nerve fibres. In: *The Journal of Physiology* 105, S. 26.

Farmer, C. (Hg.) (2015): The gestating and lactating sow. Wageningen: Wageningen Acad. Publ. Online verfügbar unter http://www.wageningenacademic.com/sowlactation-e.

Faucitano, L.; Schaefer, A. L. (Hg.) (2008): Welfare of pigs. From birth to slaughter. Wageningen, Versailles: Wageningen Academic Publishers; Éditions Quaæ.

Félix, B.; Léger, M.-E; Albe-Fessard, D.; Marcilloux, J.-C; Rampin, O.; Laplace, J.-P; Duclos, A.; Fort, F.; Gougis, S.; Costa, M.; Duclos, N. (1999): Stereotaxic atlas of the pig brain. In: *Brain Research Bulletin* 49 (1-2), S. 1–137. DOI: 10.1016/S0361-9230(99)00012-X.

Ferle, V.; Repouskou, A.; Aspiotis, G.; Raftogianni, A.; Chrousos, G.; Stylianopoulou, F.; Stamatakis, A. (2020): Synergistic effects of early life mild adversity and chronic social defeat on rat brain microglia and cytokines. In: *Physiology & Behavior* 215, S. 112791. DOI: 10.1016/j.physbeh.2019.112791.

Figueiredo, H. F.; Bruestle, A.; Bodie, B.; Dolgas, C. M.; Herman, J. P. (2003): The medial prefrontal cortex differentially regulates stress-induced c-fos expression in the forebrain depending on type of stressor. In: *The European Journal of Neuroscience* 18 (8), S. 2357–2364. DOI: 10.1046/j.1460-9568.2003.02932.x.

Fink, G. (2007): Encyclopedia of Stress, Four-Volume Set. 2nd ed. San Diego: Elsevier Science. Online verfügbar unter http://gbv.eblib.com/patron/FullRecord.aspx?p=1127743.

Forkman, B.; Boissy, A.; Meunier-Salaün, M-C; Canali, E.; Jones, R. B. (2007): A critical review of fear tests used on cattle, pigs, sheep, poultry and horses. In: *Physiology & Behavior* 92 (3), S. 340–374. DOI: 10.1016/j.physbeh.2007.03.016.

Franchimont, D. (2004): Overview of the actions of glucocorticoids on the immune response: a good model to characterize new pathways of immunosuppression for new treatment strategies. In: *Annals of the New York Academy of Sciences* 1024, S. 124–137. DOI: 10.1196/annals.1321.009.

Fraser, D. (1974): The vocalizations and other behaviour of growing pigs in an "open field" test. In: *Applied Animal Ethology* 1 (1), S. 3–16. DOI: 10.1016/0304-3762(74)90003-0.

Fraser, D. (1980): A review of the behavioural mechanism of milk ejection of the domestic pig. In: *Applied Animal Ethology* 6 (3), S. 247–255. DOI: 10.1016/0304-3762(80)90026-7.

Friedman, W. J. (2001): Cytokines regulate expression of the type 1 interleukin-1 receptor in rat hippocampal neurons and glia. In: *Experimental Neurology* 168 (1), S. 23–31. DOI: 10.1006/exnr.2000.7595.

Friend, T. H.; Knabe, D. A.; Tanksley, T. D. (1983): Behavior and performance of pigs grouped by three different methods at weaning. In: *Journal of Animal Science* 57 (6), S. 1406–1411. DOI: 10.2527/jas1983.5761406x.

Gądek-Michalska, A.; Spyrka, J.; Rachwalska, P.; Tadeusz, J.; Bugajski, J. (2013): Influence of chronic stress on brain corticosteroid receptors and HPA axis activity. In: *Pharmacological Reports : PR* 65 (5), S. 1163–1175. DOI: 10.1016/S1734-1140(13)71474-9.

Gegenhuber, B.; Tollkuhn, J. (2020): Signatures of sex: Sex differences in gene expression in the vertebrate brain. In: *Wiley interdisciplinary reviews. Developmental biology* 9 (1), e348. DOI: 10.1002/wdev.348.

Georiev, I. P. (2008): Differences in chemical composition between cow colostrum and milk. In: *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine* 11 (1), S. 3–12.

Geverink, N. A.; Bühnemann, A.; van de Burgwal, J. A.; Lambooij, E.; Blokhuis, H. J.; Wiegant, V. M. (1998): Responses of slaughter pigs to transport and lairage sounds. In: *Physiology & Behavior* 63 (4), S. 667–673. DOI: 10.1016/S0031-9384(97)00513-1.

Gibbs, D. M. (1986): Vasopressin and oxytocin. Hypothalamic modulators of the stress response: a review. In: *Psychoneuroendocrinology* 11 (2), S. 131–139. DOI: 10.1016/0306-4530(86)90048-X.

Gillis, S.; Crabtree, G. R.; Smith, K. A. (1979): Glucocorticoid-induced inhibition of T cell growth factor production. I. The effect on mitogen-induced lymphocyte proliferation. In: *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)* 123 (4), S. 1624–1631.

Gomez-Sanchez, E. P. (2014): Brain mineralocorticoid receptors in cognition and cardiovascular homeostasis. In: *Steroids* 91, S. 20–31. DOI: 10.1016/j.steroids.2014.08.014.

Gouin, J.-P; Carter, C. S.; Pournajafi-Nazarloo, H.; Glaser, R.; Malarkey, W. B.; Loving, T. J.; Stowell, J.; Kiecolt-Glaser, J. (2010): Marital behavior, oxytocin, vasopressin, and wound healing. In: *Psychoneuroendocrinology* 35 (7), S. 1082–1090. DOI: 10.1016/j.psyneuen.2010.01.009.

Goujon, E.; Parnet, P.; Layé, S.; Combe, C.; Dantzer, R. (1996): Adrenalectomy enhances pro-inflammatory cytokines gene expression, in the spleen, pituitary and brain of mice in response to lipopolysaccharide. In: *Molecular Brain Research* 36 (1), S. 53–62. DOI: 10.1016/0169-328x(95)00242-k.

Gray, T. S.; Bingaman, E. W. (1996): The amygdala: corticotropin-releasing factor, steroids, and stress. In: *Critical Reviews in Neurobiology* 10 (2), S. 155–168. DOI: 10.1615/critrevneurobiol.v10.i2.10.

Grosvenor, C. E.; Picciano, M. F.; Baumrucker, C. R. (1993): Hormones and growth factors in milk. In: *Endocrine Reviews* 14 (6), S. 710–728. DOI: 10.1210/edrv-14-6-710.

Gustafsson, M.; Jensen, P.; Jonge, F. H. de; Illmann, G.; Spinka, M. (1999): Maternal behaviour of domestic sows and crosses between domestic sows and wild boar. In: *Applied Animal Behaviour Science* 65 (1), S. 29–42. DOI: 10.1016/S0168-1591(99)00048-9.

Hadjipanayiotou, M. (1995): Composition of ewe, goat and cow milk and of colostrum of ewes and goats. In: *Small Ruminant Research* 18 (3), S. 255–262. DOI: 10.1016/0921-4488(95)00697-3.

Hagiwara, K.; Kataoka, S.; Yamanaka, H.; Kirisawa, R.; Iwai, H. (2000): Detection of cytokines in bovine colostrum. In: *Veterinary Immunology and Immunopathology* 76 (3-4), S. 183–190. DOI: 10.1016/S0165-2427(00)00213-0.

Hall, C. S. (1934): Emotional behavior in the rat. I. Defecation and urination as measures of individual differences in emotionality. In: *Journal of Comparative Psychology* 18 (3), S. 385–403. DOI: 10.1037/h0071444.

Hameister, T.; Puppe, B.; Tuchscherer, M.; Kanitz, E. (2010): Einfluss des Absetzalters von Ferkeln auf verhaltensbiologische und physiologische Reaktionen-eine Literaturübersicht. In: *Berliner und Münchener tierärztliche Wochenschrift* 123 (1-2), S. 11–19.

Han, F.; Ding, J.; Shi, Y. (2014): Expression of amygdala mineralocorticoid receptor and glucocorticoid receptor in the single-prolonged stress rats. In: *BMC Neuroscience* 15, S. 77. DOI: 10.1186/1471-2202-15-77.

Harris, A. P.; Holmes, M. C.; Kloet, E. R. de; Chapman, K. E.; Seckl, J. R. (2013): Mineralocorticoid and glucocorticoid receptor balance in control of HPA axis and behaviour. In: *Psychoneuroendocrinology* 38 (5), S. 648–658. DOI: 10.1016/j.psyneuen.2012.08.007.

Hartsock, T. G.; Graves, H. B.; Baumgardt, B. R. (1977): Agonistic Behavior and the Nursing Order in Suckling Piglets: Relationships with Survival, Growth and Body Composition. In: *Journal of Animal Science* 44 (2), S. 320–330. DOI: 10.2527/jas1977.442320x.

Hawkley, L. C.; Cole, S. W.; Capitanio, J. P.; Norman, G. J.; Cacioppo, J. T. (2012): Effects of social isolation on glucocorticoid regulation in social mammals. In: *Hormones and Behavior* 62 (3), S. 314–323. DOI: 10.1016/j.yhbeh.2012.05.011.

Hay, M.; Orgeur, P.; Lévy, F.; Le Dividich, J.; Concordet, D.; Nowak, R.; Schaal, B.; Mormède, P. (2001): Neuroendocrine consequences of very early weaning in swine. In: *Physiology & Behavior* 72 (1-2), S. 263–269. DOI: 10.1016/S0031-9384(00)00404-2.

Hennessy, M. B. (1984): Presence of companion moderates arousal of monkeys with restricted social experience. In: *Physiology & Behavior* 33 (5), S. 693–698. DOI: 10.1016/0031-9384(84)90033-7.

Hennessy, M. B. (1986): Effects of social partners on pituitary-adrenal activity during novelty exposure in adult female squirrel monkeys. In: *Physiology & Behavior* 38 (6), S. 803–807. DOI: 10.1016/0031-9384(86)90046-6.

Henry, J. P. (1993): Biological basis of the stress response. In: *Physiology* 8 (2), S. 69–73. DOI: 10.1152/physiologyonline.1993.8.2.69.

Herman, J. P.; McKlveen, J. M.; Solomon, M. B.; Carvalho-Netto, E.; Myers, B. (2012): Neural regulation of the stress response. Glucocorticoid feedback mechanisms. In: *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 45 (4), S. 292–298. DOI: 10.1590/S0100-879X2012007500041.

Herman, J. P.; Figueiredo, H.; Mueller, N. K.; Ulrich-Lai, Y.; Ostrander, M. M.; Choi, D. C.; Cullinan, W. E. (2003): Central mechanisms of stress integration: hierarchical circuitry controlling hypothalamo-pituitary-adrenocortical responsiveness. In: *Frontiers in Neuroendocrinology* 24 (3), S. 151–180. DOI: 10.1016/j.yfrne.2003.07.001.

Herman, J. P.; McKlveen, J. M.; Ghosal, S.; Kopp, B.; Wulsin, A.; Makinson, R.; Scheimann, J.; Myers, B. (2016): Regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical stress response. In: *Comprehensive Physiology* 6 (2), S. 603–621. DOI: 10.1002/cphy.c150015.

Herman, J. P.; Ostrander, M. M.; Mueller, N. K.; Figueiredo, H. (2005): Limbic system mechanisms of stress regulation: hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. In: *Progress in Neuro-psychopharmacology & Biological Psychiatry* 29 (8), S. 1201–1213. DOI: 10.1016/j.pnpbp.2005.08.006.

Hickman, D. L. (2017): Evaluation of the neutrophil:lymphocyte ratio as an indicator of chronic distress in the laboratory mouse. In: *Lab Animal* 46 (7), S. 303–307. DOI: 10.1038/laban.1298.

Hollanders, J. J.; van der Voorn, B.; Rotteveel, J.; Finken, M. J. J. (2017): Is HPA axis reactivity in childhood gender-specific? A systematic review. In: *Biology of Sex Differences* 8 (1), S. 23. DOI: 10.1186/s13293-017-0144-8.

Hoogland, I. C. M.; Houbolt, C.; van Westerloo, D. J.; van Gool, W. A.; van de Beek, D. (2015): Systemic inflammation and microglial activation: systematic review of animal experiments. In: *Journal of Neuroinflammation* 12, S. 114. DOI: 10.1186/s12974-015-0332-6.

Horrell, I.; Bennett, J. (1981): Disruption of teat preferences and retardation of growth following cross-fostering of 1-week-old pigs. In: *Animal Science* 33 (1), S. 99–106. DOI: 10.1017/S0003356100025253.

Horrell, I.; Hodgson, J. (1992): The bases of sow-piglet identification. 2. Cues used by piglets to identify their dam and home pen. In: *Applied Animal Behaviour Science* 33 (4), S. 329–343. DOI: 10.1016/S0168-1591(05)80070-X.

Hostinar, C. E.; Sullivan, R. M.; Gunnar, M. R. (2014): Psychobiological mechanisms underlying the social buffering of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis: a review of animal models and human studies across development. In: *Psychological Bulletin* 140 (1), S. 256–282. DOI: 10.1037/a0032671.

Hsieh, C. S.; Macatonia, S. E.; Tripp, C. S.; Wolf, S. F.; O'Garra, A.; Murphy, K. M. (1993): Development of TH1 CD4+ T cells through IL-12 produced by Listeria-induced macrophages. In: *Science* 260 (5107), S. 547–549. DOI: 10.1126/science.8097338.

Imfeld-Mueller, S.; van Wezemael, L.; Stauffacher, M.; Gygax, L.; Hillmann, E. (2011): Do pigs distinguish between situations of different emotional valences during anticipation? In: *Applied Animal Behaviour Science* 131 (3-4), S. 86–93. DOI: 10.1016/j.applanim.2011.02.009.

Insel, T. R.; Harbaugh, C. R. (1989): Lesions of the hypothalamic paraventricular nucleus disrupt the initiation of maternal behavior. In: *Physiology & Behavior* 45 (5), S. 1033–1041. DOI: 10.1016/0031-9384(89)90234-5.

Jacobson, L.; Sapolsky, R. (1991): The role of the hippocampus in feedback regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis. In: *Endocrine Reviews* 12 (2), S. 118–134. DOI: 10.1210/edrv-12-2-118.

Jarvis, S.; Moinard, C.; Robson, S. K.; Sumner, B. E.H.; Douglas, A. J.; Seckl, J. R.; Russel, J. A.; Lawrence, A. B. (2008): Effects of weaning age on the behavioural and neuroendocrine development of piglets. In: *Applied Animal Behaviour Science* 110 (1-2), S. 166–181. DOI: 10.1016/j.applanim.2007.03.018.

Jenness, R. (1986): Lactational performance of various mammalian species. In: *Journal of Dairy Science* 69 (3), S. 869–885. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(86)80478-7.

Jensen, P. (1988): Maternal behaviour and mother—young interactions during lactation in free-ranging domestic pigs. In: *Applied Animal Behaviour Science* 20 (3-4), S. 297–308. DOI: 10.1016/0168-1591(88)90054-8.

Jensen, P.; Recén, B. (1989): When to wean — Observations from free-ranging domestic pigs. In: *Applied Animal Behaviour Science* 23 (1-2), S. 49–60. DOI: 10.1016/0168-1591(89)90006-3.

Jezova, D.; Skultetyova, I.; Tokarev, D. I.; Bakos, P.; Vigas, M. (1995): Vasopressin and Oxytocin in Stress. In: *Annals of the New York Academy of Sciences* 771 (1 Stress), S. 192–203. DOI: 10.1111/j.1749-6632.1995.tb44681.x.

Jiang, C. G.; Morrow-Tesch, J. L.; Beller, D. I.; Levy, E. M.; Black, P. H. (1990): Immunosuppression in mice induced by cold water stress. In: *Brain, Behavior, and Immunity* 4 (4), S. 278–291. DOI: 10.1016/0889-1591(90)90032-L.

Jin, S.; Zhao, Y.; Jiang, Y.; Wang, Y.; Li, C.; Zhang, D.; Lian, B.; Du, Z.; Sun, H.; Sun, L. (2018): Anxiety-like behaviour assessments of adolescent rats after repeated maternal separation during early life. In: *Neuroreport* 29 (8), S. 643–649. DOI: 10.1097/WNR.0000000000001010.

Joëls, M.; Kloet, E. R. (2017): 30 years of the mineralocorticoid receptor. The brain mineralocorticoid receptor: a saga in three episodes. In: *The Journal of Endocrinology* 234 (1), T49-T66. DOI: 10.1530/JOE-16-0660.

Johnson, R. W.; von Borell, E. (1994): Lipopolysaccharide-induced sickness behavior in pigs is inhibited by pretreatment with indomethacin. In: *Journal of Animal Science* 72 (2), S. 309–314. DOI: 10.2527/1994.722309x.

Jonge, F. H. de; Tilly, S.-L; Baars, A. M.; Spruijt, B. M. (2008): On the rewarding nature of appetitive feeding behaviour in pigs (Sus scrofa): Do domesticated pigs contrafreeload? In: *Applied Animal Behaviour Science* 114 (3-4), S. 359–372. DOI: 10.1016/j.applanim.2008.03.006.

Kaiser, S.; Kirtzeck, M.; Hornschuh, G.; Sachser, N. (2003): Sex-specific difference in social support—a study in female guinea pigs. In: *Physiology & Behavior* 79 (2), S. 297–303. DOI: 10.1016/S0031-9384(03)00091-X.

Kanatsou, S.; Fearey, B. C.; Kuil, L. E.; Lucassen, P. J.; Harris, A. P.; Seckl, J. R.; Krugers, H.; Joels, M. (2015): Overexpression of mineralocorticoid receptors partially prevents chronic stress-induced reductions in hippocampal memory and structural plasticity. In: *PloS one* 10 (11), e0142012. DOI: 10.1371/journal.pone.0142012.

Känel, R.; Bellingrath, S.; Kudielka, B. M. (2008): Association between burnout and circulating levels of pro- and anti-inflammatory cytokines in schoolteachers. In: *Journal of Psychosomatic Research* 65 (1), S. 51–59. DOI: 10.1016/j.jpsychores.2008.02.007.

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. In: *Physiology & Behavior* 98 (1-2), S. 176–185. DOI: 10.1016/j.physbeh.2009.05.007.

Kanitz, E.; Hameister, T.; Tuchscherer, A.; Tuchscherer, M.; Puppe, B. (2016): Social support modulates stress-related gene expression in various brain regions of piglets. In: *Frontiers in Behavioral Neuroscience* 10, S. 227. DOI: 10.3389/fnbeh.2016.00227.

Kanitz, E.; Hameister, T.; Tuchscherer, M.; Tuchscherer, A.; Puppe, B. (2014): Social support attenuates the adverse consequences of social deprivation stress in domestic piglets. In: *Hormones and Behavior* 65 (3), S. 203–210. DOI: 10.1016/j.yhbeh.2014.01.007.

Kanitz, E.; Otten, W.; Tuchscherer, M. (2005): Central and peripheral effects of repeated noise stress on hypothalamic–pituitary–adrenocortical axis in pigs. In: *Livestock Production Science* 94 (3), S. 213–224. DOI: 10.1016/j.livprodsci.2004.12.002.

Kanitz, E.; Tuchscherer, M.; Otten, W.; Tuchscherer, A.; Zebunke, M.; Puppe, B. (2019): Coping style of pigs is associated with different behavioral, neurobiological and immune responses to stressful challenges. In: *Frontiers in Behavioral Neuroscience* 13, S. 173. DOI: 10.3389/fnbeh.2019.00173.

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. In: *Brain, Behavior, and Immunity* 18 (1), S. 35–45. DOI: 10.1016/S0889-1591(03)00085-0.

Kapsimalis, F.; Richardson, G.; Opp, M. R.; Kryger, M. (2005): Cytokines and normal sleep. In: *Current Opinion in Pulmonary Medicine* 11 (6), S. 481–484. DOI: 10.1097/01.mcp.0000183062.98665.6b.

Katz, R. J.; Roth, K. A.; Carroll, B. J. (1981): Acute and chronic stress effects on open field activity in the rat: Implications for a model of depression. In: *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 5 (2), S. 247–251. DOI: 10.1016/0149-7634(81)90005-1.

Kelley, K. W.; Bluthé, R.-M; Dantzer, R.; Zhou, J.-H; Shen, W.-H; Johnson, R. W.; Broussard, S. R. (2003): Cytokine-induced sickness behavior. In: *Brain, Behavior, and Immunity* 17 (1), S. 112–118. DOI: 10.1016/s0889-1591(02)00077-6.

Kidd, P. (2003): Th1/Th2 balance: the hypothesis, its limitations, and implications for health and disease. In: *Alternative medicine review* 8 (3), S. 223–246.

Kight, K. E.; McCarthy, M. M. (2014): Using sex differences in the developing brain to identify nodes of influence for seizure susceptibility and epileptogenesis. In: *Neurobiology of Disease* 72 Pt B, S. 136–143. DOI: 10.1016/j.nbd.2014.05.027.

Kirschbaum, C.; Klauer, T.; Filipp, S. H.; Hellhammer, D. H. (1995): Sex-specific effects of social support on cortisol and subjective responses to acute psychological stress. In: *Psychosomatic Medicine* 57 (1), S. 23–31. DOI: 10.1097/00006842-199501000-00004.

Klein, F.; Lemaire, V.; Sandi, C.; Vitiello, S.; van der Logt, J.; Laurent, P. E.; Neveu, P.; Le Moal, M.; Mormède, P. (1992): Prolonged increase of corticosterone secretion by chronic social stress does not necessarily impair immune funnctions. In: *Life Sciences* 50 (10), S. 723–731. DOI: 10.1016/0024-3205(92)90475-5.

Klein, S. L.; Flanagan, K. L. (2016): Sex differences in immune responses. In: *Nature Reviews. Immunology* 16 (10), S. 626–638. DOI: 10.1038/nri.2016.90.

Klobasa, F.; Werhahn, E.; Butler, J. E. (1987): Composition of Sow Milk During Lactation. In: *Journal of Animal Science* 64 (5), S. 1458–1466. DOI: 10.2527/jas1987.6451458x.

Kloet, E. R.; Vreugdenhil, E.; Oitzl, M. S.; Joëls, M. (1998): Brain corticosteroid receptor balance in health and disease. In: *Endocrine Reviews* 19 (3), S. 269–301. DOI: 10.1210/edrv.19.3.0331.

Kloet, E. R. (2014): From receptor balance to rational glucocorticoid therapy. In: *Endocrinology* 155 (8), S. 2754–2769. DOI: 10.1210/en.2014-1048.

Klok, M. D.; Alt, S. R.; Irurzun Lafitte, Alicia J. M.; Turner, J. D.; Lakke, E. A. J. F.; Huitinga, I.; Muller, C. P.; Zitman, F. G.; Kloet, E. R.; DeRijk, R. H. (2011): Decreased expression of mineralocorticoid receptor mRNA and its splice variants in postmortem brain regions of

patients with major depressive disorder. In: *Journal of Psychiatric Research* 45 (7), S. 871–878. DOI: 10.1016/j.jpsychires.2010.12.002.

Kluge, F.; Seebold, E. (2002): Etymologisches Wörterbuch der deutschen Sprache. 24., durchges. und erw. Aufl. Berlin: de Gruyter.

Kluger, M. J.; Kozak, W.; Conn, C. A.; Leon, L. R.; Soszynski, D. (1998): Role of fever in disease. In: *Annals of the New York Academy of Sciences* 856, S. 224–233. DOI: 10.1111/j.1749-6632.1998.tb08329.x.

Knol, E. F.; Ducro, B. J.; van Arendonk, J.A.M.; van der Lende, T. (2002): Direct, maternal and nurse sow genetic effects on farrowing-, pre-weaning- and total piglet survival. In: *Livestock Production Science* 73 (2-3), S. 153–164. DOI: 10.1016/S0301-6226(01)00248-2.

Kolber, B. J.; Wieczorek, L.; Muglia, L. J. (2008): Hypothalamic-pituitary-adrenal axis dysregulation and behavioral analysis of mouse mutants with altered glucocorticoid or mineralocorticoid receptor function. In: *Stress (Amsterdam, Netherlands)* 11 (5), S. 321–338. DOI: 10.1080/10253890701821081.

Korhonen, H.; Marnila, P.; Gill, H. S. (2000): Milk immunoglobulins and complement factors. In: *BJN* 84 (S1), S. 619. DOI: 10.1017/S0007114500002282.

Kosten, T. A.; Kehoe, P. (2010): Immediate and enduring effects of neonatal isolation on maternal behavior in rats. In: *International Journal of Developmental Neuroscience* 28 (1), S. 53–61. DOI: 10.1016/j.ijdevneu.2009.09.005.

Kovács, K. J.; Elenkov, I. J. (1995): Differential dependence of ACTH secretion induced by various cytokines on the integrity of the paraventricular nucleus. In: *Journal of Neuroendocrinology* 7 (1), S. 15–23. DOI: 10.1111/j.1365-2826.1995.tb00662.x.

Kremlev, S. G.; Palmer, C. (2005): Interleukin-10 inhibits endotoxin-induced pro-inflammatory cytokines in microglial cell cultures. In: *Journal of Neuroimmunology* 162 (1-2), S. 71–80. DOI: 10.1016/j.jneuroim.2005.01.010.

Krueger, J. M. (2008): The role of cytokines in sleep regulation. In: *Current Pharmaceutical Design* 14 (32), S. 3408–3416. DOI: 10.2174/138161208786549281.

Kudielka, B. M.; Kirschbaum, C. (2005): Sex differences in HPA axis responses to stress: a review. In: *Biological Psychology* 69 (1), S. 113–132. DOI: 10.1016/j.biopsycho.2004.11.009.

Kumar, B.; Manuja, A.; Aich, P. (2012): Stress and its impact on farm animals. In: *Frontiers in Bioscience (Elite edition)* 4, S. 1759–1767.

Kyriazakis, I.; Edwards, S. A. (1986): The effect of "split-suckling" on behaviour and performance of piglets. In: *Applied Animal Behaviour Science* 16 (1), S. 92. DOI: 10.1016/0168-1591(86)90045-6.

Ladd, C. O.; Huot, R. L.; Thrivikraman, K. V.; Nemeroff, C. B.; Plotsky, Paul M. (2004): Long-term adaptations in glucocorticoid receptor and mineralocorticoid receptor mRNA and negative feedback on the hypothalamo-pituitary-adrenal axis following neonatal maternal separation. In: *Biological Psychiatry* 55 (4), S. 367–375. DOI: 10.1016/j.biopsych.2003.10.007.

Landgraf, R. (1995): Mortyn Jones Memorial Lecture. Intracerebrally released vasopressin and oxytocin: measurement, mechanisms and behavioural consequences. In: *Journal of Neuroendocrinology* 7 (4), S. 243–253. DOI: 10.1111/j.1365-2826.1995.tb00754.x.

Langhans, W.; Hrupka, B. (1999): Interleukins and tumor necrosis factor as inhibitors of food intake. In: *Neuropeptides* 33 (5), S. 415–424. DOI: 10.1054/npep.1999.0048.

Laue, L.; Kawai, S.; Brandon, D. D.; Brightwell, D.; Barnes, K.; Knazek, R. A.; Loriaux, D. L.; Chrousos, G. P. (1988): Receptor-mediated effects of glucocorticoids on inflammation: enhancement of the inflammatory response with a glucocorticoid antagonist. In: *Journal of steroid biochemistry* 29 (6), S. 591–598. DOI: 10.1016/0022-4731(88)90156-2.

Le Dividich, J.; Rooke, J. A.; Herpin, P. (2005): Nutritional and immunological importance of colostrum for the new-born pig. In: *The Journal of Agricultural Science* 143 (06), S. 469. DOI: 10.1017/S0021859605005642.

Lee, M. R.; Sheskier, M. B.; Farokhnia, M.; Feng, N.; Marenco, S.; Lipska, B. K.; Leggio, L. (2018): Oxytocin receptor mRNA expression in dorsolateral prefrontal cortex in major psychiatric disorders: A human post-mortem study. In: *Psychoneuroendocrinology* 96, S. 143–147. DOI: 10.1016/j.psyneuen.2018.05.039.

Leliveld, L. M. C.; Düpjan, S.; Tuchscherer, A.; Puppe, B. (2016): Behavioural and physiological measures indicate subtle variations in the emotional valence of young pigs. In: *Physiology & Behavior* 157, S. 116–124. DOI: 10.1016/j.physbeh.2016.02.002.

Levine, S. (2005): Developmental determinants of sensitivity and resistance to stress. In: *Psychoneuroendocrinology* 30 (10), S. 939–946. DOI: 10.1016/j.psyneuen.2005.03.013.

Li, L. A.; Yang, J. J.; Li, Y.; Lv, L.; Xie, J. J.; Du, G. M.; Jin, T. M.; Qin, S. Y.; Jiao, X. L. (2016): Effect of weaning age on cortisol release in piglets. In: *Genetics and Molecular Research : GMR* 15 (2). DOI: 10.4238/gmr.15027693.

Li, Y.; Song, Z.; Kerr, K. A.; Moeser, A. J. (2017): Chronic social stress in pigs impairs intestinal barrier and nutrient transporter function, and alters neuro-immune mediator and receptor expression. In: *PloS one* 12 (2), e0171617. DOI: 10.1371/journal.pone.0171617.

Liang, Y.; Zhou, Y.; Shen, P. (2004): NF-kappaB and its regulation on the immune system. In: *Cellular & Molecular Immunology* 1 (5), S. 343–350.

Llamas M., S.; Boyle, L.; Lynch, P. B.; Arkins, S. (2006): Pro-inflammatory cytokine and acute phase protein responses to low-dose lipopolysaccharide (LPS) challenge in pigs. In: *Animal Science* 82 (4), S. 527–534. DOI: 10.1079/ASC200665.

Lu, Y.-C; Yeh, W.-C; Ohashi, P. S. (2008): LPS/TLR4 signal transduction pathway. In: *Cytokine* 42 (2), S. 145–151. DOI: 10.1016/j.cyto.2008.01.006.

M. Špinka* and G. Illmann (2015): Nursing behavior, chapter 13.

Manteuffel, G.; Puppe, B.; Schön, P. C. (2004): Vocalization of farm animals as a measure of welfare. In: *Applied Animal Behaviour Science* 88 (1-2), S. 163–182. DOI: 10.1016/j.applanim.2004.02.012.

Marchetti, B.; Morale, M. C.; Testa, N.; Tirolo, C.; Caniglia, S.; Amor, S.; Dijkstra, C. D.; Barden, N. (2001): Stress, the immune system and vulnerability to degenerative disorders of the central nervous system in transgenic mice expressing glucocorticoid receptor antisense RNA. In: *Brain research. Brain research reviews* 37 (1-3), S. 259–272.

Mazurek, B.; Haupt, H.; Klapp, B. F.; Szczepek, A. J.; Olze, H. (2012): Exposure of Wistar rats to 24-h psycho-social stress alters gene expression in the inferior colliculus. In: *Neuroscience Letters* 527 (1), S. 40–45. DOI: 10.1016/j.neulet.2012.08.019.

McClellan, H. L.; Miller, S. J.; Hartmann, P. E. (2008): Evolution of lactation: nutrition v. protection with special reference to five mammalian species. In: *Nutrition Research Reviews* 21 (2), S. 97–116. DOI: 10.1017/S0954422408100749.

McEwen, B. S. (1998): Stress, adaptation, and disease. Allostasis and allostatic load. In: *Annals of the New York Academy of Sciences* 840 (1), S. 33–44. DOI: 10.1111/j.1749-6632.1998.tb09546.x.

McEwen, B. S.; Biron, C. A.; Brunson, K. W.; Bulloch, K.; Chambers, W. H.; Dhabhar, F. S.; Goldfarb, R.H.; Kitson, R. P.; Miller, A. H.; Spencer, R. L.; Weiss, J. M. (1997): The role of adrenocorticoids as modulators of immune function in health and disease: neural, endocrine and immune interactions. In: *Brain Research Reviews* 23 (1-2), S. 79–133. DOI: 10.1016/s0165-0173(96)00012-4.

McEwen, B. S.; Nasca, C.; Gray, J. D. (2016): Stress effects on neuronal structure: hippocampus, amygdala, and prefrontal cortex. In: *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology* 41 (1), S. 3–23. DOI: 10.1038/npp.2015.171.

McEwen, B. S.; Sapolsky, R. M. (1995): Stress and cognitive function. In: *Current Opinion in Neurobiology* 5 (2), S. 205–216. DOI: 10.1016/0959-4388(95)80028-X.

McEwen, B. S.; Wingfield, J. C. (2010): What is in a name? Integrating homeostasis, allostasis and stress. In: *Hormones and Behavior* 57 (2), S. 105–111. DOI: 10.1016/j.yhbeh.2009.09.011.

McKlveen, J. M.; Myers, B.; Herman, J. P. (2015): The medial prefrontal cortex: coordinator of autonomic, neuroendocrine and behavioural responses to stress. In: *Journal of Neuroendocrinology* 27 (6), S. 446–456. DOI: 10.1111/jne.12272.

McKlveen, J. M.; Myers, B.; Flak, Jonathan N.; Bundzikova, J.; Solomon, M. B.; Seroogy, K. B.; Herman, J. P. (2013): Role of prefrontal cortex glucocorticoid receptors in stress and emotion. In: *Biological Psychiatry* 74 (9), S. 672–679. DOI: 10.1016/j.biopsych.2013.03.024.

McLaughlin, K. J.; Baran, S. E.; Conrad, C. D. (2009): Chronic stress- and sex-specific neuromorphological and functional changes in limbic structures. In: *Molecular Neurobiology* 40 (2), S. 166–182. DOI: 10.1007/s12035-009-8079-7.

Meagher, M. W.; Sieve, A. N.; Johnson, R. R.; Satterlee, D.; Belyavskyi, M.; Mi, W.; Prentice, T. W.; Welsh, T. H.; Welsh, C. J. R. (2010): Neonatal maternal separation alters immune, endocrine, and behavioral responses to acute Theiler's virus infection in adult mice. In: *Behavior genetics* 40 (2), S. 233–249. DOI: 10.1007/s10519-010-9333-5.

Meaney, M. J.; Diorio, J.; Francis, D.; Widdowson, J.; LaPlante, P.; Caldji, C.; Sharma, S.; Seckl, J. R.; Plotsky, P. M. (1996): Early environmental regulation of forebrain glucocorticoid receptor gene expression: Implications for adrenocortical responses to stress. In: *Developmental Neuroscience* 18 (1-2), S. 61–72. DOI: 10.1159/000111396.

Medina, A.; Seasholtz, A. F.; Sharma, V.; Burke, S.; Bunney, W.; Myers, R. M.; Schatzberg, A.; Akil, H.; Watson, S. J. (2013): Glucocorticoid and mineralocorticoid receptor expression in the human hippocampus in major depressive disorder. In: *Journal of Psychiatric Research* 47 (3), S. 307–314. DOI: 10.1016/j.jpsychires.2012.11.002.

Meyer, U.; van Kampen, M.; Isovich, E.; Flügge, G.; Fuchs, E. (2001): Chronic psychosocial stress regulates the expression of both GR and MR mRNA in the hippocampal formation of tree shrews. In: *Hippocampus* 11 (3), S. 329–336. DOI: 10.1002/hipo.1047.

Meynhardt, H. (1984): Schwarzwild-Report. Mein Leben unter Wildschweinen. 5. Aufl. Melsungen.

Miller, A H; Spencer, R L; Pearce, B D; Pisell, T L; Azrieli, Y; Tanapat, P; Moday, H.; Rhee, R.; McEwen, B. S. (1998): Glucocorticoid Receptors Are Differentially Expressed in the Cells and Tissues of the Immune System. In: *Cellular Immunology* (186), S. 45–54.

Miller, E. S.; Apple, Camille G.; Kannan, K. B.; Funk, Zackary M.; Plazas, J. M.; Efron, P. A.; Mohr, A. M. (2019): Chronic stress induces persistent low-grade inflammation. In: *American Journal of Surgery* 218 (4), S. 677–683. DOI: 10.1016/j.amjsurg.2019.07.006.

Ming, Z.; Criswell, H. E.; Breese, G. R. (2013): Evidence for TNFα action on excitatory and inhibitory neurotransmission in the central amygdala: a brain site influenced by stress. In: *Brain, Behavior, and Immunity* 33, S. 102–111. DOI: 10.1016/j.bbi.2013.06.001.

Mitchell, L. A.; Channell, M. M.; Royer, C. M.; Ryter, S. W.; Choi, A. M. K.; McDonald, J. D. (2010): Evaluation of inhaled carbon monoxide as an anti-inflammatory therapy in a nonhuman primate model of lung inflammation. In: *American Journal of Physiology. Lung cellular and molecular physiology* 299 (6), L891-7. DOI: 10.1152/ajplung.00366.2009.

Mitra, R.; Ferguson, D.; Sapolsky, R. M. (2009): Mineralocorticoid receptor overexpression in basolateral amygdala reduces corticosterone secretion and anxiety. In: *Biological Psychiatry* 66 (7), S. 686–690. DOI: 10.1016/j.biopsych.2009.04.016.

Mizoguchi, K.; Ishige, A.; Aburada, M.; Tabira, T. (2003): Chronic stress attenuates glucocorticoid negative feedback. Involvement of the prefrontal cortex and hippocampus. In: *Neuroscience* 119 (3), S. 887–897. DOI: 10.1016/S0306-4522(03)00105-2.

Mizoguchi, K.; Shoji, H.; Ikeda, R.; Tanaka, Y.; Tabira, T. (2008): Persistent depressive state after chronic stress in rats is accompanied by HPA axis dysregulation and reduced prefrontal dopaminergic neurotransmission. In: *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 91 (1), S. 170–175. DOI: 10.1016/j.pbb.2008.07.002.

Moeser, A. J.; Ryan, K. A.; Nighot, P. K.; Blikslager, A. T. (2007): Gastrointestinal dysfunction induced by early weaning is attenuated by delayed weaning and mast cell blockade in pigs. In: *American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology* 293 (2), G413-21. DOI: 10.1152/ajpgi.00304.2006.

Moles, A.; Rizzi, R.; D'Amato, F. R. (2004): Postnatal stress in mice. Does "stressing" the mother have the same effect as "stressing" the pups? In: *Developmental Psychobiology* 44 (4), S. 230–237. DOI: 10.1002/dev.20008.

Mormède, P.; Andanson, S.; Aupérin, B.; Beerda, B.; Guémené, D.; Malmkvist, J.; Manteca, X.; Manteuffel, G.; Prunet, P.; van Reenen, G. C.; Richard, S.; Veissier, I. (2007): Exploration of the hypothalamic-pituitary-adrenal function as a tool to evaluate animal welfare. In: *Physiology & Behavior* 92 (3), S. 317–339. DOI: 10.1016/j.physbeh.2006.12.003.

Mormède, P.; Lemaire, V.; Castanon, N.; Dulluc, J.; Laval, M.; Le Moal, M. (1990): Multiple neuroendocrine responses to chronic social stress: Interaction between individual characteristics and situational factors. In: *Physiology & Behavior* 47 (6), S. 1099–1105. DOI: 10.1016/0031-9384(90)90358-b.

Moxley, G.; Posthuma, D.; Carlson, P.; Estrada, E.; Han, J.; Benson, L. L.; Neale, M. C. (2002): Sexual dimorphism in innate immunity. In: *Arthritis & Rheumatism* 46 (1), S. 250–258. DOI: 10.1002/1529-0131(200201)46:1<250::AID-ART10064>3.0.CO;2-T.

Mumtaz, F.; Khan, M. I.; Zubair, M.; Dehpour, A. R. (2018): Neurobiology and consequences of social isolation stress in animal model-A comprehensive review. In: *Biomedicine &*

pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie 105, S. 1205–1222. DOI: 10.1016/j.biopha.2018.05.086.

Murakami, S.; Imbe, H.; Morikawa, Y.; Kubo, C.; Senba, E. (2005): Chronic stress, as well as acute stress, reduces BDNF mRNA expression in the rat hippocampus but less robustly. In: *Neuroscience Research* 53 (2), S. 129–139. DOI: 10.1016/j.neures.2005.06.008.

Murgatroyd, C.; Patchev, A. V.; Wu, Y.; Micale, V.; Bockmühl, Y.; Fischer, D.; Holsboer, F.; Wotjak, C. T.; Almeida, O. F. X.; Spengler, D. (2009): Dynamic DNA methylation programs persistent adverse effects of early-life stress. In: *Nature Neuroscience* 12 (12), S. 1559–1566. DOI: 10.1038/nn.2436.

Murphy, E.; Nordquist, R. E.; van der Staay, F. J. (2014): A review of behavioural methods to study emotion and mood in pigs, Sus scrofa. In: *Applied Animal Behaviour Science* 159, S. 9–28. DOI: 10.1016/j.applanim.2014.08.002.

Murphy, K. M.; Weaver, C. (2018): Janeway Immunologie. Unter Mitarbeit von Allan Mowat, Leslie J. Berg, David D. Chaplin, Paul Travers und Mark Walport. 9. Auflage. Berlin: Springer Spektrum (Springer Lehrbuch). Online verfügbar unter http://www.springer.com/.

Myers, B.; Greenwood-Van Meerveld, B. (2007): Corticosteroid receptor-mediated mechanisms in the amygdala regulate anxiety and colonic sensitivity. In: *American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology* 292 (6), G1622-9. DOI: 10.1152/ajpgi.00080.2007.

Myers, B.; McKlveen, J. M.; Herman, J. P. (2012): Neural regulation of the stress response: The many faces of feedback. In: *Cellular and Molecular Neurobiology*. DOI: 10.1007/s10571-012-9801-y.

Neumann, I. D.; Landgraf, R. (2012): Balance of brain oxytocin and vasopressin: implications for anxiety, depression, and social behaviors. In: *Trends in Neurosciences* 35 (11), S. 649–659. DOI: 10.1016/j.tins.2012.08.004.

Newberry, R. C.; Wood-Gush, D. G.M. (1985): The Suckling Behaviour of Domestic Pigs in a Semi-Natural Environment. In: *Behaviour* 95 (1-2), S. 11–25. DOI: 10.1163/156853985X00028.

Nordquist, R. E.; van der Staay, F. J.; van Eerdenburg, F. J. C. M.; Velkers, F. C.; Fijn, L.; Arndt, S. S. (2017): Mutilating Procedures, Management Practices, and Housing Conditions That May Affect the Welfare of Farm Animals: Implications for Welfare Research. In: *Animals : an open access journal from MDPI* 7 (2). DOI: 10.3390/ani7020012.

Nowak, R. (2000): Role of mother-young interactions in the survival of offspring in domestic mammals. In: *Reviews of Reproduction* 5 (3), S. 153–163. DOI: 10.1530/ror.0.0050153.

O'Connor, T. M. (2000): The stress response and the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. From molecule to melancholia. In: *QJM* 93 (6), S. 323–333. DOI: 10.1093/qjmed/93.6.323.

Oftedal, O. T. (2002): The origin of lactation as a water source for parchment-shelled eggs. In: *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia* 7 (3), S. 253–266.

O'Malley, D.; Dinan, T. G.; Cryan, J. F. (2011): Neonatal maternal separation in the rat impacts on the stress responsivity of central corticotropin-releasing factor receptors in adulthood. In: *Psychopharmacology* 214 (1), S. 221–229. DOI: 10.1007/s00213-010-1885-9.

Ontsouka, C. E.; Bruckmaier, R. M.; Blum, J. W. (2003): Fractionized Milk Composition During Removal of Colostrum and Mature Milk. In: *Journal of Dairy Science* 86 (6), S. 2005–2011. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(03)73789-8.

Opal, S. M.; DePalo, V. A. (2000): Anti-inflammatory cytokines. In: *Chest* 117 (4), S. 1162–1172. DOI: 10.1378/chest.117.4.1162.

Oppong, E.; Cato, A. C. B. (2015): Effects of glucocorticoids in the immune system. In: *Advances in Experimental Medicine and Biology* 872, S. 217–233. DOI: 10.1007/978-1-4939-2895-8_9.

Orgeur, P.; Hay, M.; Mormède, P.; Salmon, H.; Le Dividich, J.; Nowak, R.; Schaal, B.; Lévy, F. (2001): Behavioural, growth and immune consequences of early weaning in one-week-old large-white piglets. In: *Reproduction Nutrition Development* 41 (4), S. 321–332. DOI: 10.1051/rnd:2001134.

Otten, W.; Kanitz, E.; Puppe, B.; Tuchscherer, M.; Brüssow, K. P.; Nürnberg, G.; Stabenow, B. (2004): Acute and long term effects of chronic intermittent noise stress on hypothalamic-pituitary-adrenocortical and sympatho-adrenomedullary axis in pigs. In: *Animal Science* 78 (2), S. 271–283. DOI: 10.1017/S1357729800054060.

Ouchi, H.; Ono, K.; Murakami, Y.; Matsumoto, K. (2013): Social isolation induces deficit of latent learning performance in mice: a putative animal model of attention deficit/hyperactivity disorder. In: *Behavioural Brain Research* 238, S. 146–153. DOI: 10.1016/j.bbr.2012.10.029.

Padgett, D. A.; Glaser, R. (2003): How stress influences the immune response. In: *Trends in Immunology* 24 (8), S. 444–448. DOI: 10.1016/S1471-4906(03)00173-X.

Palazidou, E. (2012): The neurobiology of depression. In: *British Medical Bulletin* 101, S. 127–145. DOI: 10.1093/bmb/lds004.

Panagiotakopoulos, L.; Neigh, G. N. (2014): Development of the HPA axis: where and when do sex differences manifest? In: *Frontiers in Neuroendocrinology* 35 (3), S. 285–302. DOI: 10.1016/j.yfrne.2014.03.002.

Parrott, R. F.; Misson, B. H.; Baldwin, B. A. (1989): Salivary cortisol in pigs following adrenocorticotrophic hormone stimulation: Comparison with plasma levels. In: *British Veterinary Journal* 145 (4), S. 362–366. DOI: 10.1016/0007-1935(89)90034-1.

Patel, P. D.; Katz, M.; Karssen, A. M.; Lyons, D. M. (2008): Stress-induced changes in corticosteroid receptor expression in primate hippocampus and prefrontal cortex. In: *Psychoneuroendocrinology* 33 (3), S. 360–367. DOI: 10.1016/j.psyneuen.2007.12.003.

Perlstein, R. S. (1993): Synergistic roles of interleukin-6, interleukin-1, and tumor necrosis factor in the adrenocorticotropin response to bacterial lipopolysaccharide in vivo. In: *Endocrinology* 132 (3), S. 946–952. DOI: 10.1210/en.132.3.946.

Pijlman, F. T.A; Wolterink, G.; van Ree, J. M. (2003): Physical and emotional stress have differential effects on preference for saccharine and open field behaviour in rats. In: *Behavioural Brain Research* 139 (1-2), S. 131–138. DOI: 10.1016/S0166-4328(02)00124-9.

Pluske, J. R.; Le Dividich, J.; Verstegen, M.W.A. (2003): Weaning the pig. The Netherlands: Wageningen Academic Publishers.

Poindron, P.; Nowak, R.; Lévy, F.; Porter, R. H.; Schaal, B. (1993): Development of exclusive mother-young bonding in sheep and goats. In: *Oxford Reviews of Reproductive Biology* 15, S. 311–364.

Poletto, R.; Steibel, J. P.; Siegford, J. M.; Zanella, A. J. (2006): Effects of early weaning and social isolation on the expression of glucocorticoid and mineralocorticoid receptor and 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase 1 and 2 mRNAs in the frontal cortex and hippocampus of piglets. In: *Brain research* 1067 (1), S. 36–42. DOI: 10.1016/j.brainres.2005.10.001.

Pond, C. M. (1977): The Significance of Lactation in the Evolution of Mammals. In: *Evolution* 31 (1), S. 177. DOI: 10.2307/2407556.

Price, E. O.; Hutson, G. D.; Price, M. I.; Borgwardt, R. (1994): Fostering in swine as affected by age of offspring. In: *Journal of Animal Science* 72 (7), S. 1697–1701. DOI: 10.2527/1994.7271697x.

Price, J. L. (1999): Prefrontal cortical networks related to visceral function and mood. In: *Annals of the New York Academy of Sciences* 877, S. 383–396. DOI: 10.1111/j.1749-6632.1999.tb09278.x.

Proudfoot, K.; Habing, G. (2015): Social stress as a cause of diseases in farm animals: current knowledge and future directions. In: *Veterinary Journal (London, England : 1997)* 206 (1), S. 15–21. DOI: 10.1016/j.tvjl.2015.05.024.

Prut, L.; Belzung, C. (2003): The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. In: *European Journal of Pharmacology* 463 (1-3), S. 3–33. DOI: 10.1016/S0014-2999(03)01272-X.

Puppe, B. (2002): Die Entwicklung der Beziehung zwischen Sau und Ferkel beim Hausschwein – Eine soziobiologische Betrachtung. In: *Berliner und Münchener tierärztliche Wochenschrift* (115 (11-12): 445-452).

Puppe, B.; Meunier-Salaün, M. C.; Otten, W.; Orgeur, P. (2008): The welfare of piglets. In: Luigi Faucitano und Allan L. Schaefer (Hg.): Welfare of pigs. From birth to slaughter. Wageningen, Versailles: Wageningen Academic Publishers; Éditions Quaæ.

Puppe, B.; Tuchscherer, A. (1999): Developmental and territorial aspects of suckling behaviour in the domestic pig (Sus scrofa f. domestica). In: *Journal of Zoology* 249 (3), S. 307–313. DOI: 10.1111/j.1469-7998.1999.tb00767.x.

Puppe, B.; Tuchscherer, A. (2000): The development of suckling frequency in pigs from birth to weaning of their piglets: a sociobiological approach. In: *Animal Science* 71 (2), S. 273–279. DOI: 10.1017/S1357729800055119.

Puppe, B.; Tuchscherer, M.; Hoy, St.; Tuchscherer, A. (1993): Soziale Organisationsstrukturen beim intensiv gehaltenen Schwein. 1. Mitteilung: Ethologische Untersuchungen zur Saugordnung. 1. Mitteilung: Ethologische Untersuchungen zur Saugordnung. In: *Arch Tierzucht 36: 539-550* (36), S. 539–550.

Puppe, B; Ernst, K.; Schön, P. C.; Manteuffel, G. (2007): Cognitive enrichment affects behavioural reactivity in domestic pigs. In: *Applied Animal Behaviour Science* 105 (1-3), S. 75–86. DOI: 10.1016/j.applanim.2006.05.016.

Puppe, B.; Schön, P. C.; Tuchscherer, A.; Manteuffel, G. (2005): Castration-induced vocalisation in domestic piglets, Sus scrofa: Complex and specific alterations of the vocal quality. In: *Applied Animal Behaviour Science* 95 (1-2), S. 67–78. DOI: 10.1016/j.applanim.2005.05.001.

Quesnel, H. (2011): Colostrum production by sows. Variability of colostrum yield and immunoglobulin G concentrations. In: *Animal* 5 (10), S. 1546–1553. DOI: 10.1017/S175173111100070X.

Quirk, G. J.; Gehlert, D. R. (2003): Inhibition of the amygdala: key to pathological states? In: *Annals of the New York Academy of Sciences* 985, S. 263–272. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2003.tb07087.x.

Radahmadi, M.; Alaei, H.; Sharifi, M. R.; Hosseini, N. (2015): Effects of different timing of stress on corticosterone, BDNF and memory in male rats. In: *Physiology & Behavior* 139, S. 459–467. DOI: 10.1016/j.physbeh.2014.12.004.

Radecki, D. T.; Brown, L. M.; Martinez, J.; Teyler, T. J. (2005): BDNF protects against stress-induced impairments in spatial learning and memory and LTP. In: *Hippocampus* 15 (2), S. 246–253. DOI: 10.1002/hipo.20048.

Radley, J. J.; Arias, C. M.; Sawchenko, P. E. (2006): Regional differentiation of the medial prefrontal cortex in regulating adaptive responses to acute emotional stress. In: *The Journal of Neuroscience* 26 (50), S. 12967–12976. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.4297-06.2006.

Raetz, C. R. H.; Whitfield, C. (2002): Lipopolysaccharide endotoxins. In: *Annual Review of Biochemistry* 71, S. 635–700. DOI: 10.1146/annurev.biochem.71.110601.135414.

Ratnu, V. S.; Emami, M. R.; Bredy, T. W. (2017): Genetic and epigenetic factors underlying sex differences in the regulation of gene expression in the brain. In: *Journal of Neuroscience Research* 95 (1-2), S. 301–310. DOI: 10.1002/jnr.23886.

Rault, J.-L (2012): Friends with benefits. Social support and its relevance for farm animal welfare. In: *Applied Animal Behaviour Science* 136 (1), S. 1–14. DOI: 10.1016/j.applanim.2011.10.002.

Rault, J.-L; Carter, C. Sue; Garner, Joseph P.; Marchant-Forde, Jeremy N.; Richert, Brian T.; Lay, D. C. (2013): Repeated intranasal oxytocin administration in early life dysregulates the HPA axis and alters social behavior. In: *Physiology & Behavior* 112-113, S. 40–48. DOI: 10.1016/j.physbeh.2013.02.007.

Rehbein, M.; Hillers, M.; Mohr, E.; Ivell, R.; Morley, S.; Schmale, H.; Richter, D. (1986): The neurohypophyseal hormones vasopressin and oxytocin. Precursor structure, synthesis and regulation. In: *Biological Chemistry Hoppe-Seyler* 367 (8), S. 695–704. DOI: 10.1515/bchm3.1986.367.2.695.

Reichardt, H. M.; Umland, T.; Bauer, A.; Kretz, O.; Schütz, G. (2000): Mice with an increased glucocorticoid receptor gene dosage show enhanced resistance to stress and endotoxic shock. In: *Molecular and Cellular Biology* 20 (23), S. 9009–9017. DOI: 10.1128/MCB.20.23.9009-9017.2000.

Reimert, I.; Bolhuis, J. E.; Kemp, B.; Rodenburg, T. B. (2013): Indicators of positive and negative emotions and emotional contagion in pigs. In: *Physiology & Behavior* 109, S. 42–50. DOI: 10.1016/j.physbeh.2012.11.002.

Rich, E. L.; Romero, L. M. (2005): Exposure to chronic stress downregulates corticosterone responses to acute stressors. In: *American Journal of Physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology* 288 (6), R1628-36. DOI: 10.1152/ajpregu.00484.2004.

Richter-Levin, G.; Akirav, I. (2000): Amygdala-hippocampus dynamic interaction in relation to memory. In: *Molecular Neurobiology* 22 (1-3), S. 11–20. DOI: 10.1385/MN:22:1-3:011.

Ridder, S.; Chourbaji, S.; Hellweg, R.; Urani, A.; Zacher, C.; Schmid, W.; Zink, M.; Hörtnagl, H.; Flor, H.; Henn, F. A.; Schütz, G.; Gass, P. (2005): Mice with genetically altered glucocorticoid receptor expression show altered sensitivity for stress-induced depressive reactions. In: *The Journal of Neuroscience* 25 (26), S. 6243–6250. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.0736-05.2005.

Rohleder, N.; Schommer, N. C.; Hellhammer, D. H.; Engel, R.; Kirschbaum, C. (2001): Sex differences in glucocorticoid sensitivity of proinflammatory cytokine production after psychosocial stress. In: *Psychosomatic Medicine* 63 (6), S. 966–972. DOI: 10.1097/00006842-200111000-00016.

Rohleder, N. (2019): Stress and inflammation - The need to address the gap in the transition between acute and chronic stress effects. In: *Psychoneuroendocrinology* 105, S. 164–171. DOI: 10.1016/j.psyneuen.2019.02.021.

Rothwell, N. J.; Hopkins, S. J. (1995): Cytokines and the nervous system II: actions and mechanisms of action. In: *Trends in Neurosciences* 18 (3), S. 130–136. DOI: 10.1016/0166-2236(95)93890-A.

Rubenstein, D. R.; Skolnik, H.; Berrio, A.; Champagne, F. A.; Phelps, S.; Solomon, J. (2016): Sex-specific fitness effects of unpredictable early life conditions are associated with DNA methylation in the avian glucocorticoid receptor. In: *Molecular Ecology* 25 (8), S. 1714–1728. DOI: 10.1111/mec.13483.

Ruis, M. (1997): The Circadian Rhythm of Salivary Cortisol in Growing Pigs: Effects of Age, Gender, and Stress. In: *Physiology & Behavior* 62 (3), S. 623–630. DOI: 10.1016/S0031-9384(97)00177-7.

Ruis, M.A.W; te Brake, J.H.A; Buwalda, B.; Boer, S.F.; Meerlo, P.; Korte, S.M.; Blokhuis, H. J.; Kohlhaas, J. M. (1999): Housing familiar male wildtype rats together reduces the long-term adverse behavioural and physiological effects of social defeat. In: *Psychoneuroendocrinology* 24 (3), S. 285–300. DOI: 10.1016/S0306-4530(98)00050-X.

Rushen, J.; Passillé, A. M. de (2015): The importance of good stockmanship and its benefits to animals. In: T. Grandin (Hg.): Improving animal welfare: a practical approach. Wallingford: CABI, S. 125–138.

Rushen, J.; Passillé, A. M. B. (1992): The scientific assessment of the impact of housing on animal welfare: A critical review. In: *Canadian Journal of Animal Science* 72 (4), S. 721–743. DOI: 10.4141/cjas92-085.

Russo-Marie, F. (1992): Macrophages and the glucocorticoids. In: *Journal of Neuroimmunology* 40 (2-3), S. 281–286. DOI: 10.1016/0165-5728(92)90144-a.

Rutherford, K. M.D.; Baxter, E. M.; D'Eath, R. B.; Turner, S. P.; Arnott, G.; Roehe, R.; Ask, B.; Sandøe, P.; Moustsen, V. A.; Thorup, F.; Edwards, S. A.; Berg, P.; Lawrence, A. B. (2013): The welfare implications of large litter size in the domestic pig I: biological factors. In: *Animal Welfare* 22 (2), S. 199–218. DOI: 10.7120/09627286.22.2.199.

Rutherford, K. M. D.; Haskell, M. J.; Glasbey, C.; Lawrence, A. B. (2006): The responses of growing pigs to a chronic-intermittent stress treatment. In: *Physiology & Behavior* 89 (5), S. 670–680. DOI: 10.1016/j.physbeh.2006.08.006.

Sabihi, S.; Dong, S. M.; Maurer, S. D.; Post, C.; Leuner, B. (2017): Oxytocin in the medial prefrontal cortex attenuates anxiety: Anatomical and receptor specificity and mechanism of action. In: *Neuropharmacology* 125, S. 1–12. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2017.06.024.

Sabihi, S.; Durosko, N. E.; Dong, S. M.; Leuner, B. (2014): Oxytocin in the prelimbic medial prefrontal cortex reduces anxiety-like behavior in female and male rats. In: *Psychoneuroendocrinology* 45, S. 31–42. DOI: 10.1016/j.psyneuen.2014.03.009.

Salak-Johnson, J. L.; McGlone, J. J. (2007): Making sense of apparently conflicting data. Stress and immunity in swine and cattle. In: *Journal of Animal Science* 85 (13 Suppl), E81-8. DOI: 10.2527/jas.2006-538.

Sapolsky, R.; Rivier, C.; Yamamoto, G.; Plotsky, P.; Vale, W. (1987): Interleukin-1 stimulates the secretion of hypothalamic corticotropin-releasing factor. In: *Science* 238 (4826), S. 522–524. DOI: 10.1126/science.2821621.

Sapolsky, R. M.; Romero, L. M.; Munck, A. U. (2000): How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. In: *Endocrine Reviews* 21 (1), S. 55–89. DOI: 10.1210/edrv.21.1.0389.

Sapolsky, Robert M. (2004): Social status and health in humans and other animals. In: *Annual Review of Anthropology* 33 (1), S. 393–418. DOI: 10.1146/annurev.anthro.33.070203.144000.

Schmeltzer, S. N.; Vollmer, L. L.; Rush, J. E.; Weinert, M.; Dolgas, C. M.; Sah, R. (2015): History of chronic stress modifies acute stress-evoked fear memory and acoustic startle in male rats. In: *Stress (Amsterdam, Netherlands)* 18 (2), S. 244–253. DOI: 10.3109/10253890.2015.1016495.

Schmidt, M. V.; Scharf, S. H.; Sterlemann, V.; Ganea, K.; Liebl, C.; Holsboer, F.; Müller, M. B. (2010): High susceptibility to chronic social stress is associated with a depression-like phenotype. In: *Psychoneuroendocrinology* 35 (5), S. 635–643. DOI: 10.1016/j.psyneuen.2009.10.002.

Schnydrig, S.; Korner, L.; Landweer, S.; Ernst, B.; Walker, G.; Otten, U.; Kunz, D. (2007): Peripheral lipopolysaccharide administration transiently affects expression of brain-derived neurotrophic factor, corticotropin and proopiomelanocortin in mouse brain. In: *Neuroscience Letters* 429 (1), S. 69–73. DOI: 10.1016/j.neulet.2007.09.067.

Schommer, N. C.; Hellhammer, D. H.; Kirschbaum, C. (2003): Dissociation between reactivity of the hypothalamus-pituitary-adrenal axis and the sympathetic-adrenal-medullary system to repeated psychosocial stress. In: *Psychosomatic Medicine* 65 (3), S. 450–460. DOI: 10.1097/01.psy.0000035721.12441.17.

Schrader, L.; Todt, D. (1998): Vocal quality is correlated with levels of stress hormones in domestic pigs. In: *Ethology* 104 (10), S. 859–876. DOI: 10.1111/j.1439-0310.1998.tb00036.x.

Selye, H. (1936): A syndrome produced by diverse nocuous agents. In: *Nature* 138 (3479), S. 32. DOI: 10.1038/138032a0.

Serra, M.; Pisu, M. G.; Floris, I.; Biggio, G. (2005): Social isolation-induced changes in the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in the rat. In: *Stress (Amsterdam, Netherlands)* 8 (4), S. 259–264. DOI: 10.1080/10253890500495244.

Shi, P.; Raizada, M. K.; Sumners, C. (2010): Brain cytokines as neuromodulators in cardiovascular control. In: *Clinical and Experimental Pharmacology & Physiology* 37 (2), e52-7. DOI: 10.1111/j.1440-1681.2009.05234.x.

Singh, A. K.; Jiang, Y. (2004): How does peripheral lipopolysaccharide induce gene expression in the brain of rats? In: *Toxicology* 201 (1-3), S. 197–207. DOI: 10.1016/j.tox.2004.04.015.

Slattery, D. A.; Neumann, Inga D. (2008): No stress please! Mechanisms of stress hyporesponsiveness of the maternal brain. In: *The Journal of Physiology* 586 (2), S. 377–385. DOI: 10.1113/jphysiol.2007.145896.

Smith, F.; Clark, J. E.; Overman, B. L.; Tozel, C. C.; Huang, J. H.; Rivier, J. E. F.; Blisklager, A. T.; Moeser, A. J. (2010): Early weaning stress impairs development of mucosal barrier function in the porcine intestine. In: *American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology* 298 (3), G352-63. DOI: 10.1152/ajpgi.00081.2009.

Smotherman, W. P.; Hunt, L. E.; McGinnis, L. M.; Levine, S. (1979): Mother-infant separation in group-living rhesus macaques: a hormonal analysis. In: *Developmental Psychobiology* 12 (3), S. 211–217. DOI: 10.1002/dev.420120304.

Spencer, Robert L.; Deak, Terrence (2017): A users guide to HPA axis research. In: *Physiology & Behavior* 178, S. 43–65. DOI: 10.1016/j.physbeh.2016.11.014.

Spera, P. A.; Ellison, J. A.; Feuerstein, G. Z.; Barone, F. C. (1998): IL-10 reduces rat brain injury following focal stroke. In: *Neuroscience Letters* 251 (3), S. 189–192. DOI: 10.1016/S0304-3940(98)00537-0.

Špinka, M.; Algers, B. (1995): Functional view on udder massage after milk let-down in pigs. In: *Applied Animal Behaviour Science* 43 (3), S. 197–212. DOI: 10.1016/0168-1591(95)00560-F.

Špinka, M. (2006): How important is natural behaviour in animal farming systems? In: *Applied Animal Behaviour Science* 100 (1-2), S. 117–128. DOI: 10.1016/j.applanim.2006.04.006.

Špinka, M.; Maletínská, J.; Víchová, J.; Stěhulová, I. (2002): Individual recognition of piglets by sows in the early post-partum period. In: *Behaviour* 139 (7), S. 975–991. DOI: 10.1163/156853902320387927.

Stefanski, V.; Engler, H. (1998): Effects of acute and chronic social stress on blood cellular immunity in rats. In: *Physiology & Behavior* 64 (5), S. 733–741. DOI: 10.1016/S0031-9384(98)00127-9.

Stolba, A.; Wood-Gush, D. G. M. (1989): The behaviour of pigs in a semi-natural environment. In: *Animal Science* 48 (2), S. 419–425. DOI: 10.1017/S0003356100040411.

Strekalova, T.; Spanagel, R.; Dolgov, O.; Bartsch, D. (2005): Stress-induced hyperlocomotion as a confounding factor in anxiety and depression models in mice. In: *Behavioural Pharmacology* 16 (3), S. 171–180. DOI: 10.1097/00008877-200505000-00006.

Stroud, L. R.; Salovey, P.; Epel, E. S. (2002): Sex differences in stress responses: social rejection versus achievement stress. In: *Biological Psychiatry* 52 (4), S. 318–327. DOI: 10.1016/S0006-3223(02)01333-1.

Studnitz, M.; Jensen, M. B.; Pedersen, L. J. (2007): Why do pigs root and in what will they root? In: *Applied Animal Behaviour Science* 107 (3-4), S. 183–197. DOI: 10.1016/j.applanim.2006.11.013.

Sullivan, R. M.; Gratton, A. (1999): Lateralized Effects of Medial Prefrontal Cortex Lesions on Neuroendocrine and Autonomic Stress Responses in Rats. In: *The Journal of Neuroscience* 19 (7), S. 2834–2840. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.19-07-02834.1999.

Sullivan, R. M.; Gratton, A. (2002): Prefrontal cortical regulation of hypothalamic–pituitary–adrenal function in the rat and implications for psychopathology: side matters. In: *Psychoneuroendocrinology* 27 (1-2), S. 99–114. DOI: 10.1016/S0306-4530(01)00038-5.

Sumner, B. E. H.; D'Eath, R. B.; Farnworth, M. J.; Robson, S.; Russell, J. A.; Lawrence, A. B.; 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. In: *Psychoneuroendocrinology* 33 (8), S. 1077–1092. DOI: 10.1016/j.psyneuen.2008.05.004.

Suri, D.; Vaidya, V. A. (2013): Glucocorticoid regulation of brain-derived neurotrophic factor: relevance to hippocampal structural and functional plasticity. In: *Neuroscience* 239, S. 196–213. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2012.08.065.

Šustr, P.; Illmann, G.; Schrader, L.; Špinka, M. (2002): Acoustical mother-offspring recognition in pigs (sus scrofa domestica). In: *Behaviour* 139 (4), S. 487–505. DOI: 10.1163/15685390260135970.

Sutherland, M. A.; Niekamp, S. R.; Rodriguez-Zas, S. L.; Salak-Johnson, J. L. (2006): Impacts of chronic stress and social status on various physiological and performance measures in pigs of different breeds. In: *Journal of Animal Science* 84 (3), S. 588–596. DOI: 10.2527/2006.843588x.

Szapacs, M. E.; Mathews, T. A.; Tessarollo, L.; Ernest L., W.; Mamounas, L. A.; Andrews, A. M. (2004): Exploring the relationship between serotonin and brain-derived neurotrophic factor: analysis of BDNF protein and extraneuronal 5-HT in mice with reduced serotonin transporter or BDNF expression. In: *Journal of Neuroscience Methods* 140 (1-2), S. 81–92. DOI: 10.1016/j.jneumeth.2004.03.026.

Szelényi, J. (2001): Cytokines and the central nervous system. In: *Brain Research Bulletin* 54 (4), S. 329–338. DOI: 10.1016/s0361-9230(01)00428-2.

Taliaz, D.; Loya, A.; Gersner, R.; Haramati, S.; Chen, A.; Zangen, A. (2011): Resilience to chronic stress is mediated by hippocampal brain-derived neurotrophic factor. In: *The Journal of Neuroscience* 31 (12), S. 4475–4483. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.5725-10.2011.

Taylor, S. E.; Klein, L. C.; Lewis, B. P.; Gruenewald, T. L.; Gurung, R. A.; Updegraff, J. A. (2000): Biobehavioral responses to stress in females: tend-and-befriend, not fight-or-flight. In: *Psychological Review* 107 (3), S. 411–429. DOI: 10.1037//0033-295X.107.3.411.

Tian, R.; Hou, G.; Li, D.; Yuan, T.-F (2014): A possible change process of inflammatory cytokines in the prolonged chronic stress and its ultimate implications for health. In: *The Scientific World Journal* 2014, S. 780616. DOI: 10.1155/2014/780616.

Tsioulpas, A.; Grandison, A. S.; Lewis, M. J. (2007): Changes in physical properties of bovine milk from the colostrum period to early lactation. In: *Journal of Dairy Science* 90 (11), S. 5012–5017. DOI: 10.3168/jds.2007-0192.

Tuchscherer, M.; Kanitz, E.; Puppe, B.; Tuchscherer, A. (2006): Early social isolation alters behavioral and physiological responses to an endotoxin challenge in piglets. In: *Hormones and Behavior* 50 (5), S. 753–761. DOI: 10.1016/j.yhbeh.2006.06.026.

Tuchscherer, M.; Kanitz, E.; Puppe, B.; Tuchscherer, A. (2010): Altered immunomodulation by glucocorticoids in neonatal pigs exposed to a psychosocial stressor. In: *Pediatric Research* 68 (6), S. 473–478. DOI: 10.1203/PDR.0b013e3181f70f08.

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. In: *Physiology & Behavior* 82 (2-3), S. 503–511. DOI: 10.1016/j.physbeh.2004.04.056.

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. In: *Research in Veterinary Science* 87 (3), S. 380–388. DOI: 10.1016/j.rvsc.2009.04.010.

Tuchscherer, M.; Puppe, B.; Tuchscherer, A.; Kanitz, E. (2018): Psychosocial stress sensitizes neuroendocrine and inflammatory responses to Escherichia coli challenge in domestic piglets. In: *Brain, Behavior, and Immunity* 68, S. 274–287. DOI: 10.1016/j.bbi.2017.10.026.

Turnbull, A. V.; Rivier, C. (1995): Regulation of the HPA axis by cytokines. In: *Brain, Behavior, and Immunity* 9 (4), S. 253–275. DOI: 10.1006/brbi.1995.1026.

Turnbull, A. V.; Rivier, C. L. (1999): Regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis by cytokines: actions and mechanisms of action. In: *Physiological Reviews* 79 (1), S. 1–71. DOI: 10.1152/physrev.1999.79.1.1.

Turner, B. B. (1990): Sex difference in glucocorticoid binding in rat pituitary is estrogen dependent. In: *Life Sciences* 46 (19), S. 1399–1406. DOI: 10.1016/0024-3205(90)90340-W.

Turner, B. B.; Debra, W. A. (1985): Sexual dimorphism of glucocorticoid binding in rat brain. In: *Brain research* 343 (1), S. 16–23. DOI: 10.1016/0006-8993(85)91153-9.

Uruakpa, F.O; Ismond, M.A.H; Akobundu, E.N.T (2002): Colostrum and its benefits. A review. In: *Nutrition Research* 22 (6), S. 755–767. DOI: 10.1016/S0271-5317(02)00373-1.

van der Meer, M. J.; Sweep, C. G.; Pesman, G. J.; Borm, G. F.; Hermus, A. R. (1995): Synergism between IL-1 beta and TNF-alpha on the activity of the pituitary-adrenal axis and on food intake of rats. In: *The American Journal of Physiology* 268 (4 Pt 1), E551-7. DOI: 10.1152/ajpendo.1995.268.4.E551.

Vázquez, D. M.; van Oers, H.; Levine, S.; Akil, H. (1996): Regulation of glucocorticoid and mineralocorticoid receptor mRNAs in the hippocampus of the maternally deprived infant rat. In: *Brain research* 731 (1-2), S. 79–90. DOI: 10.1016/0006-8993(96)00465-9.

Vázquez, D. M. (1998): Stress and the developing Limbic-Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis. In: *Psychoneuroendocrinology* 23 (7), S. 663–700. DOI: 10.1016/S0306-4530(98)00029-8.

Veenema, A.; Neumann, I. (2008): Central vasopressin and oxytocin release: regulation of complex social behaviours. In: Advances in Vasopressin and Oxytocin — From Genes to Behaviour to Disease, Bd. 170: Elsevier (Progress in Brain Research), S. 261–276.

Vitkovic, L.; Bockaert, J.; Jacque, C. (2000): "Inflammatory" cytokines: neuromodulators in normal brain? In: *Journal of Neurochemistry* 74 (2), S. 457–471. DOI: 10.1046/j.1471-4159.2000.740457.x.

Viveros-Paredes, J. M.; Puebla-Pérez, A. M.; Gutiérrez-Coronado, O.; Sandoval-Ramírez, L.; Villaseñor-García, M. M. (2006): Dysregulation of the Th1/Th2 cytokine profile is associated with immunosuppression induced by hypothalamic-pituitary-adrenal axis activation in mice. In: *International Immunopharmacology* 6 (5), S. 774–781. DOI: 10.1016/j.intimp.2005.11.011.

Voskuhl, R. (2011): Sex differences in autoimmune diseases. In: *Biology of Sex Differences* 2 (1), S. 1. DOI: 10.1186/2042-6410-2-1.

Vuppaladhadiam, L.; Ehsan, C.; Akkati, M.; Bhargava, A. (2020): Corticotropin-Releasing Factor Family: A Stress Hormone-Receptor System's Emerging Role in Mediating Sex-Specific Signaling. In: *Cells* 9 (4). DOI: 10.3390/cells9040839.

W.L. Hurley (Hg.) (2015): Composition of sow colostrum and milk. The gestating and lactating sow. Unter Mitarbeit von Chantal (Ed.) Farmer.

Walker, C.-D; Kudreikis, K.; Sherrard, A.; Johnston, C. C. (2003): Repeated neonatal pain influences maternal behavior, but not stress responsiveness in rat offspring. In: *Developmental Brain Research* 140 (2), S. 253–261. DOI: 10.1016/S0165-3806(02)00611-9.

Wang, J.; Qin, W.; Liu, B.; Zhou, Y.; Wang, D.; Zhang, Y.; Jiang, T.; Yu, Z. (2014): Neural mechanisms of oxytocin receptor gene mediating anxiety-related temperament. In: *Brain Structure & Function* 219 (5), S. 1543–1554. DOI: 10.1007/s00429-013-0584-9.

Weary, D. M.; Ross, S.; Fraser, D. (1997): Vocalizations by isolated piglets: a reliable indicator of piglet need directed towards the sow. In: *Applied Animal Behaviour Science* 53 (4), S. 249–257. DOI: 10.1016/S0168-1591(96)01173-2.

Webel, D. M.; Finck, B. N.; Baker, D. H.; Johnson, R. W. (1997): Time course of increased plasma cytokines, cortisol, and urea nitrogen in pigs following intraperitoneal injection of lipopolysaccharide. In: *Journal of Animal Science* 75 (6), S. 1514–1520. DOI: 10.2527/1997.7561514x.

Webster, A. J. F. (1993): Animal welfare: the five freedoms and the free market. In: *BSAP Occasional Publication* 17, S. 45–49. DOI: 10.1017/S0263967X00001282.

Webster, M. J.; Knable, M. B.; O'Grady, J.; Orthmann, J.; Weickert, C. S. (2002): Regional specificity of brain glucocorticoid receptor mRNA alterations in subjects with schizophrenia and mood disorders. In: *Molecular Psychiatry* 7 (9), 985-94, 924. DOI: 10.1038/sj.mp.4001139.

Westenbroek, C.; Snijders, T. A. B.; Boer, J. A. den; Gerrits, M.; Fokkema, D. S.; Horst, G. J. ter (2005): Pair-housing of male and female rats during chronic stress exposure results in gender-specific behavioral responses. In: *Hormones and Behavior* 47 (5), S. 620–628. DOI: 10.1016/j.yhbeh.2005.01.004.

Williams, P. N.; Collier, C. T.; Carroll, J. A.; Welsh, T. H.; Laurenz, J. C. (2009): Temporal pattern and effect of sex on lipopolysaccharide-induced stress hormone and cytokine response in pigs. In: *Domestic Animal Endocrinology* 37 (3), S. 139–147. DOI: 10.1016/j.domaniend.2009.04.004.

Wittig, R. M.; Crockford, C.; Weltring, A.; Langergraber, K. E.; Deschner, T.; Zuberbühler, K. (2016): Social support reduces stress hormone levels in wild chimpanzees across stressful events and everyday affiliations. In: *Nature Communications* 7, S. 13361. DOI: 10.1038/ncomms13361.

Wood-Gush, D.G.M.; Vestergaard, K. (1991): The seeking of novelty and its relation to play. In: *Animal Behaviour* 42 (4), S. 599–606. DOI: 10.1016/S0003-3472(05)80243-X.

Worobec, E.K; Duncan, I.J.H; Widowski, T.M (1999): The effects of weaning at 7, 14 and 28 days on piglet behaviour. In: *Applied Animal Behaviour Science* 62 (2-3), S. 173–182. DOI: 10.1016/S0168-1591(98)00225-1.

Worsaae, H.; Schmidt, M. (1980): Plasma cortisol and behaviour in early weaned piglets. In: *Acta Veterinaria Scandinavica* 21 (4), S. 640–657.

Wright, K. J.; Balaji, R.; Hill, C. M.; Dritz, S. S.; Knoppel, E. L.; Minton, J. E. (2000): Integrated adrenal, somatotropic, and immune responses of growing pigs to treatment with lipopolysaccharide. In: *Journal of Animal Science* 78 (7), S. 1892–1899. DOI: 10.2527/2000.7871892x.

Xu, R. J.; Sangild, P. T.; Zhang, Y. Q.; Zhang, S. H. (2002): Chapter 5 Bioactive compounds in porcine colostrum and milk and their effects on intestinal development in neonatal pigs.

In: Biology of the Intestine in Growing Animals, Bd. 1: Elsevier (Biology of Growing Animals), S. 169–192.

You, Z.; Luo, C.; Zhang, W.; Chen, Y.; He, J.; Zhao, Q.; Zuo, R.; Wu, Y. (2011): Pro- and anti-inflammatory cytokines expression in rat's brain and spleen exposed to chronic mild stress: involvement in depression. In: *Behavioural Brain Research* 225 (1), S. 135–141. DOI: 10.1016/j.bbr.2011.07.006.

Zhe, D.; Fang, H.; Yuxiu, S. (2008): Expressions of hippocampal mineralocorticoid receptor (MR) and glucocorticoid receptor (GR) in the single-prolonged stress-rats. In: *Acta Histochemica et Cytochemica* 41 (4), S. 89–95. DOI: 10.1267/ahc.08013.

Zörner, B.; Wolfer, D. P.; Brandis, D.; Kretz, O.; Zacher, C.; Madani, R.; Grundwald, I.; Lipp, H.-P; Klein, R.; Henn, F. A.; Gass, P. (2003): Forebrain-specific trkB-receptor knockout mice: behaviorally more hyperactive than "depressive". In: *Biological Psychiatry* 54 (10), S. 972–982. DOI: 10.1016/S0006-3223(03)00418-9.

Zuk, M.; McKean, K. A. (1996): Sex differences in parasite infections: patterns and processes. In: *International Journal for Parasitology* 26 (10), S. 1009–1024. DOI: 10.1016/S0020-7519(96)80001-4.

Anhang

A Mütterlichkeit und Saugordnung

Anhang 1: Stabilität der Saugordnung der drei Behandlungsgruppen

Parameter	Behandlungsgruppe			*p*-Werte (F-Test)		
	DA	**DG**	**K**	**Behandlung**	**Geschlecht**	**Behandlung × Geschlecht**
Zitzenpräferenz (%) Zitzenpaar	79,20 ± 2,27	82,06 ± 2,33	78,32 ± 1,61	0,416	0,292	0,280
Zitzenpräferenz (%) Einzelzitze	70,45 ± 2,94	72,14 ± 2,99	63,98 ± 2,68	0,117	0,113	0,120
WHK Zitzenpaar	0,25 ± 0,02	0,22 ± 0,02	0,26 ± 0,02	0,301	0,111	0,588
WHK Einzelzitze	0,38 ± 0,03	0,34 ± 0,03	0,41 ± 0,03	0,179	**<0,05**	0,674

Zitzenpräferenz und Wechselhäufigkeitskoeffizient (WHK) der drei Behandlungsgruppen DA (Deprivation allein, n = 63), DG (Deprivation in einer Gruppe mit Wurfgeschwistern; n = 60), K (Kontrollen, keine Deprivation; n = 127). Dargestellt sind die Ergebnisse als LSM ± SE, sowie die *p-Werte*s des F-Tests.

Anhang 2: Säuge-Intervall der Sauen des Deprivations- und Kontrollwurfes von drei aufeinanderfolgenden Saugakten nach Beendigung der Deprivationsprozedur

	Behandlungsgruppe		***p*-Werte (F-Test)**		
Parameter	**Deprivation**	**Kontrolle**	**Behandlung**	**Zeit**	**Behandlung × Zeit**
durchschn. Intervalldauer (min)			0,069	0,073	0,265
02. LkT	**39,25 ± 3,95[a]**	**56,31 ± 4,02[b]**			
05. LkT	44,20 ± 3,95	43,67 ± 4,02			
07. LkT	41,61 ± 3,95	48,94 ± 4,02			
09. LkT	43,88 ± 3,95	51,08 ± 4,02			
12. LkT	46,29 ± 3,95	47,94 ± 4,02			
14. LkT	46,70 ± 3,95	51,13 ± 4,02			
19. LkT	55,34 ± 3,95	55,81 ± 4,02			
Intervalldauer zwischen 1. und 2. Saugakt (min)			**<0,05**	0,078	0,053
02. LkT	**37,26 ± 4,50[e]**	**60,23 ± 4,55[f]**			
05. LkT	44,08 ± 4,50	42,60 ± 4,55			
07. LkT	46,26 ± 4,50	50,14 ± 4,55			
09. LkT	41,26 ± 4,50	51,42 ± 4,55			
12. LkT	45,08 ± 4,50	46,23 ± 4,55			
14. LkT	**37,17 ± 4,50[a]**	**52,14 ± 4,55[b]**			
19. LkT	56,63 ± 4,50	56,33 ± 4,55			
Intervalldauer zwischen 2. und 3. Saugakt (min)			0,477	0,109	0,788
02. LkT	42,98 ± 5,71	45,23 ± 5,73			
05. LkT	44,15 ± 5,14	45,04 ± 5,22			
07. LkT	36,78 ± 5,14	48,04 ± 5,22			
09. LkT	46,33 ± 5,14	51,04 ± 5,22			
12. LkT	47,33 ± 5,14	49,95 ± 5,22			
14. LkT	56,06 ± 5,14	50,40 ± 5,22			
19. LkT	53,88 ± 5,14	55,58 ± 5,22			

Dargestellt sind die Ergebnisse als LSM ± SE der Ferkel des Deprivations- und des Kontrollwurfes an den jeweiligen Laktationstagen (LkT), sowie die *p-Werte*s aus dem F-Test. Innerhalb einer Zeile werden signifikante Unterschiede durch unterschiedliche Buchstaben angezeigt ([a,b] $p < 0,05$; [e,f] $p < 0,001$; Tukey-Kramer-Test; n = 11 Würfe/Behandlungsgruppe).

Anhang 3: Cortisol- und IgA-Konzentrationen im Speichel von Sauen der Deprivations- und Kontrollwürfe nach Beendigung der Deprivationsprozedur

Parameter	Behandlungsgruppe		*p*-Werte (F-Test)		
	Deprivation	**Kontrolle**	**Behandlung**	**Zeit**	**Behandlung × Zeit**
Speichel-Cortisol (ng/ml)			0,863	0,361	0,191
2. LkT	6,12 ± 1,35	4,34 ± 1,28			
9. LkT	5,67 ± 1,27	8,22 ± 1,28			
15 .LkT	6,15 ± 1,27	4,81 ± 1,28			
Speichel-IgA (mg/ml)			0,334	**<0,001**	0,415
2. LkT	0,47 ± 0,04	0,48 ± 0,05			
9. LkT	0,30 ± 0,04	0,24 ± 0,05			
15. LkT	0,37 ± 0,04	0,28 ± 0,05			

Dargestellt sind die Ergebnisse als LSM ± SE. n = 10 je Behandlungsgruppe und Laktationstag (LkT)

Anhang 4: Cortisol- und Oxytocin-Konzentrationen in der Milch von Sauen der Deprivations- und Kontrollwürfe nach Beendigung der Deprivationsprozedur

Parameter	Behandlungsgruppe		*p*-Werte (F-Test)		
	Deprivation	**Kontrolle**	**Behandlung**	**Zeit**	**Behandlung × Zeit**
Milch-Cortisol (ng/ml)			0,687	0,102	0,070
2. LkT	31,33 ± 2,24	26,34 ± 2,57			
9. LkT	29,01 ± 2,24	32,76 ± 2,28			
15 .LkT	31,49 ± 2,24	35,39 ± 2,28			
Milch-Oxytocin (pg/ml)			0,887	**<0,01**	0,590
2. LkT	477,14 ± 84,61	528,43 ± 99,65			
9. LkT	194,96 ± 90,31	269,32 ± 85,42			
15. LkT	223,14 ± 84,61	128,62 ± 85,42			

Dargestellt sind Ergebnisse als LSM ± SE. n = 10 je Behandlungsgruppe und Laktationstag (LkT)

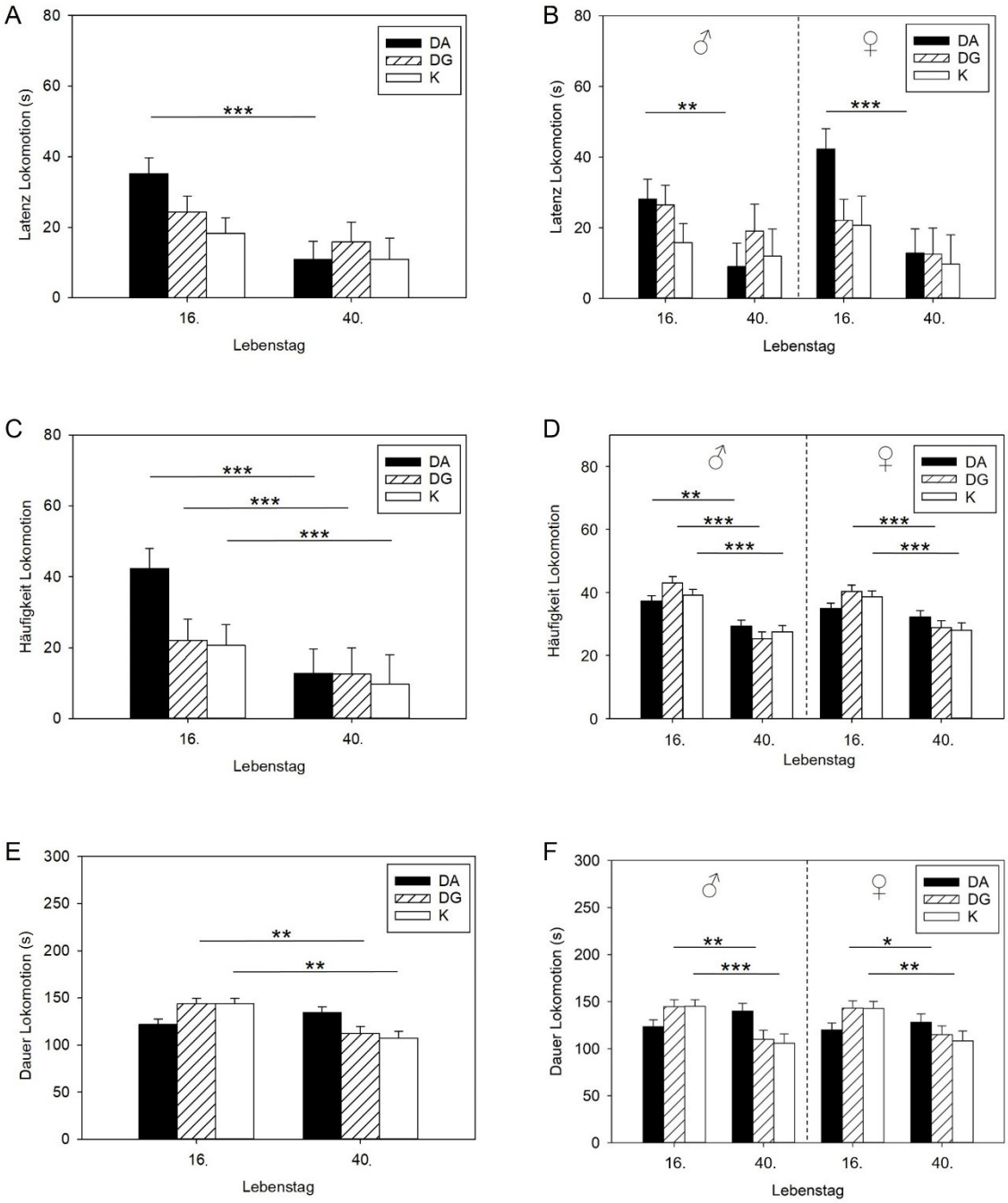
C Endokrinologische und immunologische Parameter bei den Ferkeln

Anhang 5: Cortisol-Konzentrationen und immunologische Parameter im Blut der Ferkel

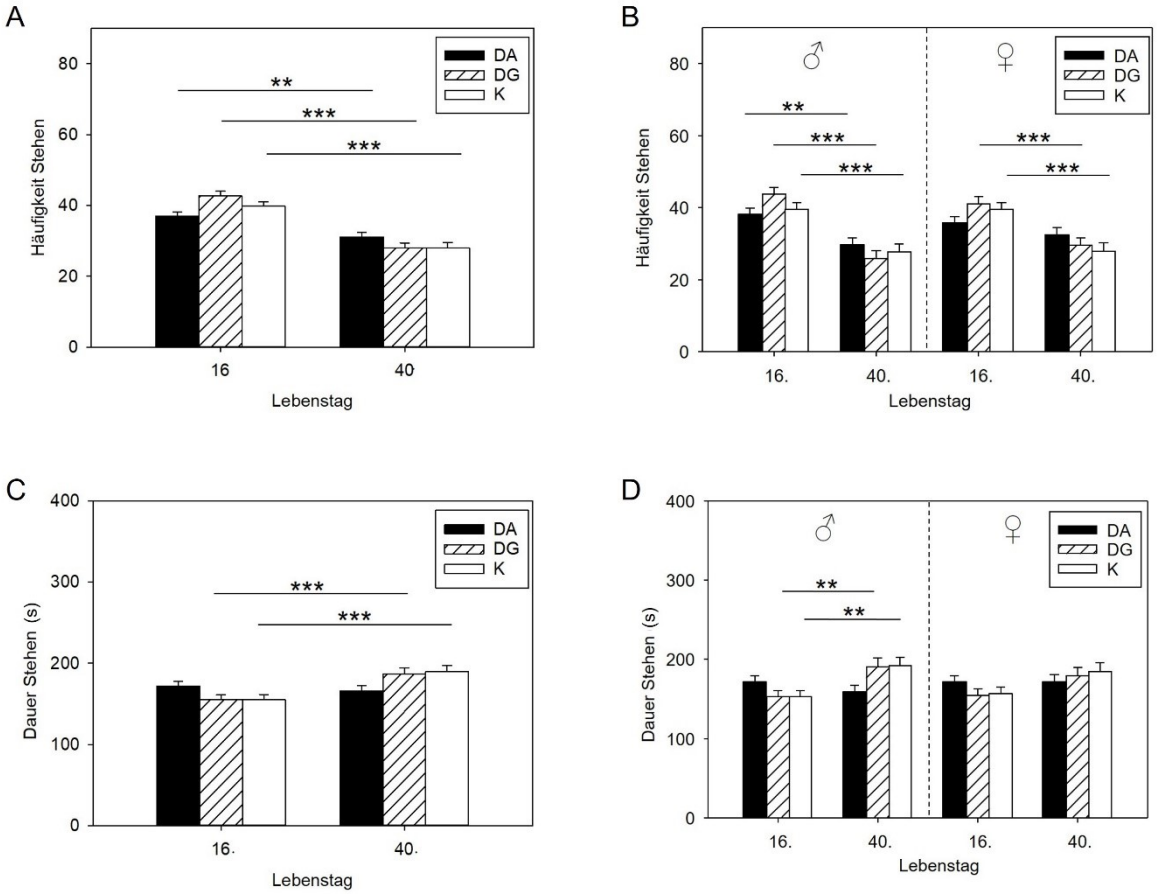
Parameter	Behandlungsgruppe			*p*-Werte (F-Test)		
	DA	DG	K	Behandlung	Geschlecht	Behandlung × Geschlecht
Cortisol (ng/ml)						
LT5	33,53 ± 3,21	33,34 ± 3,22	26,46 ± 3,15	0,234	0,725	0,155
LT16	22,78 ± 3,04	23,09 ± 3,08	17,29 ± 3,01	0,360	0,084	0,265
Δ LT16-LT5	-10,87 ± 4,31	-10,59 ± 4,36	-9,16 ± 4,22	0,958	0,411	0,265
IgA (ng/ml)						
LT5	2,23 ± 0,32	2,07 ± 0,32	2,02 ± 0,32	0,637	0,695	0,881
LT16	0,12 ± 0,02	0,10 ± 0,02	0,10 ± 0,02	0,229	0,226	0,451
Δ LT16-LT5	-2,11 ± 0,30	-1,97 ± 0,30	-1,92 ± 0,30	0,658	0,849	0,896
Neutrophilen-Lymphozyten-Quotient						
LT5	2,05 ± 0,18	1,97 ± 0,18	2,11 ± 0,18	0,835	0,900	0,925
LT16	0,82 ± 0,24	0,79 ± 0,24	0,99 ± 0,24	0,818	0,764	0,147
Δ LT16-LT5	-0,88 ± 0,25	-0,61 ± 0,25	-1,13 ± 0,25	0,298	0,763	0,141

Die Ergebnisse sind dargestellt als LSM ± SE der drei Behandlungsgruppen DA (Deprivation allein), DG (Deprivation in einer Gruppe mit Wurfgeschwistern), K (Kontrollen, keine Deprivation), sowie die *p-Werte*s des F-Tests. n = 50-55 je Behandlungsgruppe für Cortisol und IgA; n = 40 je Behandlungsgruppe für den Neutrophilen-Leukozyten-Quotienten.

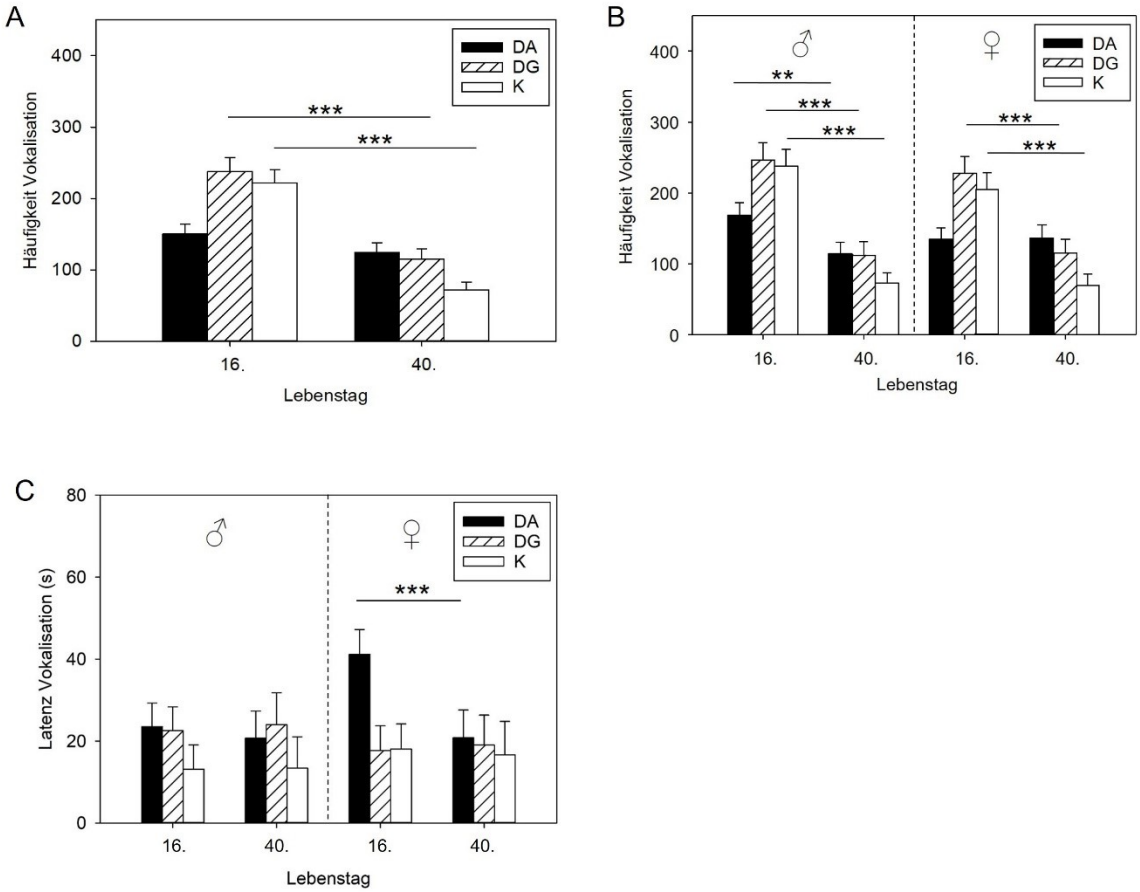
D „Open field"/„Novel object"-Test: Einfluss des Lebenstages



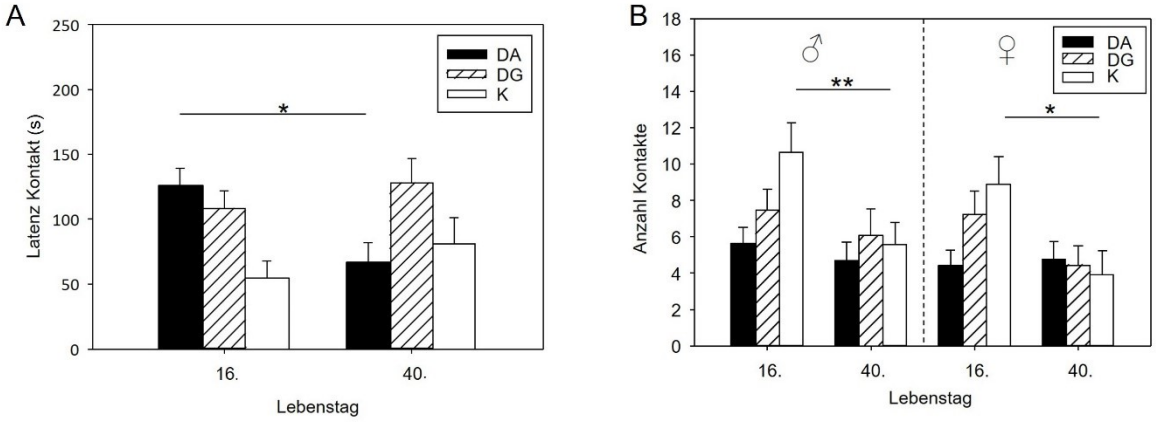
*Anhang 6: Dargestellt ist der Vergleich des im OF/NO-Test untersuchten Parameters „Lokomotion" der drei Behandlungsgruppen DA (Deprivation allein; schwarze Balken), DG (Deprivation in einer Gruppe mit Wurfgeschwistern; gestreifter Balken) und K (Kontrolle, keine Deprivation; weißer Balken) an den Lebenstagen 16 und 40 mit: A) Latenz der „Lokomotion" der drei Behandlungsgruppen; B) Latenz der „Lokomotion" bezogen auf die Geschlechter der drei Behandlungsgruppen; C) Häufigkeit der „Lokomotion" der drei Behandlungsgruppen; D) Häufigkeit der „Lokomotion" bezogen auf die Geschlechter der drei Behandlungsgruppen; E) Dauer der „Lokomotion" der drei Behandlungsgruppen; F) Dauer der „Lokomotion" bezogen auf die Geschlechter der drei Behandlungsgruppen. Die Ergebnisse sind dargestellt als LSM ± SE. Signifikante Unterschiede (Tukey-Kramer-Test) sind mit Asterisken gekennzeichnet (*p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001). n = 87 für DA (45 männlich, 42 weiblich), n = 79 für DG (41 männlich, 38 weiblich), n = 79 für K (43 männlich, 36 weiblich).*



*Anhang 7: Dargestellt ist der Vergleich des im OF/NO-Test untersuchten Parameters „Stehen" der drei Behandlungsgruppen DA (Deprivation allein; schwarze Balken), DG (Deprivation in einer Gruppe mit Wurfgeschwistern; gestreifter Balken) und K (Kontrolle, keine Deprivation; weißer Balken) an den Lebenstagen 16 und 40 mit: A) Häufigkeit des „Stehens" der drei Behandlungsgruppen; B) Häufigkeit des „Stehens" bezogen auf die Geschlechter der drei Behandlungsgruppen; C) Dauer des „Stehens" der drei Behandlungsgruppen; D) Dauer des „Stehens" bezogen auf die Geschlechter der drei Behandlungsgruppen. Die Ergebnisse sind dargestellt als LSM ± SE. Signifikante Unterschiede (Tukey-Kramer-Test) sind mit Asterisken gekennzeichnet (**p < 0,01; ***p < 0,001). n = 87 für DA (45 männlich, 42 weiblich), n = 79 für DG (41 männlich, 38 weiblich), n = 79 für K (43 männlich, 36 weiblich).*



*Anhang 8: Dargestellt ist der Vergleich des im OF/NO-Test untersuchten Parameters „Vokalisation" der drei Behandlungsgruppen DA (Deprivation allein; schwarze Balken), DG (Deprivation in einer Gruppe mit Wurfgeschwistern; gestreifter Balken) und K (Kontrolle, keine Deprivation; weißer Balken) an den Lebenstagen 16 und 40 mit: A) Häufigkeit der „Vokalisation" der drei Behandlungsgruppen; B) Häufigkeit der „Vokalisation" bezogen auf die Geschlechter der drei Behandlungsgruppen; C) Latenz der „Vokalisation" bezogen auf die Geschlechter der drei Behandlungsgruppen. Die Ergebnisse sind dargestellt als LSM ± SE. Signifikante Unterschiede (Tukey-Kramer-Test) sind mit Asterisken gekennzeichnet (*p < 0,05; ***p < 0,001). n = 87 für DA (45 männlich, 42 weiblich), n = 79 für DG (41 männlich, 38 weiblich), n = 79 für K (43 männlich, 36 weiblich).*



*Anhang 9: Dargestellt ist der Vergleich des im OF/NO-Test untersuchten Parameters „Objektkontakt" der drei Behandlungsgruppen DA (Deprivation allein; schwarze Balken), DG (Deprivation in einer Gruppe mit Wurfgeschwistern; gestreifter Balken) und K (Kontrolle, keine Deprivation; weißer Balken) an den Lebenstagen 16 und 40 mit: A) Latenz der „Objektkontakte" der drei Behandlungsgruppen; B) Häufigkeit der „Objektkontakte" bezogen auf die Geschlechter der drei Behandlungsgruppen. Die Ergebnisse sind dargestellt als LSM ± SE. Signifikante Unterschiede (Tukey-Kramer-Test) sind mit Asterisken gekennzeichnet (*p < 0,05; **p < 0,01). n = 87 für DA (45 männlich, 42 weiblich), n = 79 für DG (41 männlich, 38 weiblich), n = 79 für K (43 männlich, 36 weiblich).*

E Proliferationsvermögen der Milzzellen

Anhang 10: Einfluss der drei Behandlungsvarianten auf das Proliferationsvermögen von ConA-stimulierten Milzzellen (Anteil der Zellen in der jeweiligen Generation in %) am 20.LT.

	Behandlungsgruppe			***p*-Werte (F-Test)**		
Generation	**DA**	**DG**	**K**	**Behandlung**	**Geschlecht**	**Behandlung × Geschlecht**
G0 (%)	0,39 ± 0,09	0,39 ± 0,09	0,48 ± 0,09	0,744	0,520	0,475
G1 (%)	6,24 ± 0,92	5,67 ± 0,93	6,32 ± 0,92	0,790	0,188	0,495
G2 (%)	15,03 ± 1,25	13,26 ± 1,26	14,67 ± 1,25	0,355	0,784	0,063
G3 (%)	22,33 ± 1,48	24,09 ± 1,50	23,67 ± 1,48	0,671	0,557	0,587
G4 (%)	25,38 ± 1,69	24,45 ± 1,71	27,94 ± 1,69	0,349	0,564	0,688
G5 (%)	18,59 ± 1,57	18,05 ± 1,59	18,31 ± 1,57	0,958	0,825	0,376
G6 (%)	7,07 ± 1,20	8,67 ± 1,22	5,25 ± 1,20	0,145	0,708	0,348
G7 (%)	3,51 ± 0,67	3,82 ± 0,68	2,08 ± 0,72	0,194	0,525	0,448

DA (Deprivation allein), DG (Deprivation in einer Gruppe von Wurfgeschwistern) und K (Kontrolle, keine Deprivation). Die Daten sind dargestellt als LSM ± SE. n = 22 je Behandlungsgruppe

Anhang 11: Einfluss der drei Behandlungsvarianten auf das Proliferationsvermögen von LPS-stimulierten Milzzellen (Anteil der Zellen in der jeweiligen Generation in %) am. 20. LT.

	Behandlungsgruppe			***p*-Werte (F-Test)**		
Generation	**DA**	**DG**	**K**	**Behandlung**	**Geschlecht**	**Behandlung × Geschlecht**
G0 (%)	1,59 ± 0,40	1,46 ± 0,41	2,15 ± 0,40	0,488	0,972	0,299
G1 (%)	28,36 ± 3,38	24,27 ± 3,42	28,42 ± 3,38	0,457	0,859	0,349
G2 (%)	18,25 ± 1,52	20,07 ± 1,56	19,98 ± 1,52	0,643	0,638	0,591
G3 (%)	13,89 ± 1,21	14,72 ± 1,24	15,00 ± 1,21	0,785	0,228	0,937
G4 (%)	14,07 ± 1,63	15,41 ± 1,64	13,60 ± 1,63	0,610	0,187	0,399
G5 (%)	8,63 ± 0,81	8,02 ± 0,83	6,95 ± 0,81	0,341	0,571	0,627
G6 (%)	9,48 ± 1,08	10,98 ± 1,10	9,09 ± 1,08	0,347	0,516	0,070

DA (Deprivation allein), DG (Deprivation in einer Gruppe von Wurfgeschwistern) und K (Kontrolle, keine Deprivation). Die Daten sind dargestellt als LSM ± SE. n = 22 je Behandlungsgruppe

Anhang 12: Häufigkeit (%) des Auftretens von Krankheitsanzeichen bei den Ferkeln der drei Behandlungsgruppen nach LPS-Applikation

	Behandlungsgruppe			***p*-Werte (F-Test)**				
Krankheitsanzeichen	**DA**	**DG**	**C**	**Behandlung**	**Zeit**	**Geschlecht**	**Behandlung × Zeit × Geschlecht**	**Behandlung × Zeit**
Somnolenz				**<0,05**	**<0,001**	0,563	0,871	0,804
1h	5,45 ± 0,40	5,20 ± 0,40	4,70 ± 0,40					
2h	8,55 ± 0,40	**8,85 ± 0,40[a]**	**7,25 ± 0,40[b]**					
3h	10,85 ± 0,40	10,60 ± 0,40	10,45 ± 0,40					
4h	9,75 ± 0,40	9,95 ± 0,40	9,45 ± 0,40					
5h	11,25 ± 0,40	11,15 ± 0,40	10,75 ± 0,40					
6h	11,30 ± 0,40	10,80 ± 0,40	10,85 ± 0,40					
Dyspnoe								
1h	1,05 ± 0,66	1,05 ± 0,66	0,25 ± 0,66	**<0,05**	**<0,001**	0,242	0,635	0,060
2h	**5,95 ± 0,66[c]**	**5,15 ± 0,66[a]**	**2,70 ± 0,66[d,b]**					
3h	**7,70 ± 0,66[a]**	**7,55 ± 0,66[a]**	**4,95 ± 0,66[b]**					
4h	3,00 ± 0,66	4,60 ± 0,66	2,85 ± 0,66					
5h	1,05 ± 0,66	2,05 ± 0,66	1,15 ± 0,66					
6h	0,25 ± 0,66	1,75 ± 0,66	0,05 ± 0,66					
Kreislaufprobleme				0,393	**<0,001**	0,729	0,988	0,922
1h	2,30 ± 0,61	2,05 ± 0,61	1,25 ± 0,61					
2h	7,95 ± 0,61	8,55 ± 0,61	7,10 ± 0,61					
3h	6,85 ± 0,61	7,50 ± 0,61	7,30 ± 0,61					
4h	2,80 ± 0,61	4,00 ± 0,61	3,60 ± 0,61					
5h	0,00 ± 0,61	0,65 ± 0,61	0,35 ± 0,61					
6h	0,00 ± 0,61	0,35 ± 0,61	0,00 ± 0,61					
Zittern				0,174	**<0,001**	0,846	0,933	0,099

1h	2,65 ± 0,51	1,75 ± 0,51	1,10 ± 0,51					
2h	5,10 ± 0,51	4,10 ± 0,51	3,65 ± 0,51					
3h	4,20 ± 0,51	2,75 ± 0,51	3,70 ± 0,51					
4h	1,15 ± 0,51	1,30 ± 0,51	2,80 ± 0,51					
5h	0,75 ± 0,51	0,30 ± 0,51	1,05 ± 0,51					
6h	0,05 ± 0,51	0,00 ± 0,51	0,25 ± 0,51					
Speicheln				0,961	**<0,001**	0,250	0,959	0,991
1h	0,40 ± 0,13	0,35 ± 0,13	0,25 ± 0,13					
2h	0,65 ± 0,13	0,55 ± 0,13	0,65 ± 0,13					
3h	0,10 ± 0,13	0,25 ± 0,13	0,20 ± 0,13					
4h	0,00 ± 0,13	0,10 ± 0,13	0,00 ± 0,13					
5h	0,00 ± 0,13	0,00 ± 0,13	0,00 ± 0,13					
6h	0,00 ± 0,13	0,00 ± 0,13	0,00 ± 0,13					
Leerkauen				0,616	**<0,001**	0,936	0,293	0,924
1h	0,30 ± 0,13	0,60 ± 0,13	0,40 ± 0,13					
2h	0,50 ± 0,13	0,60 ± 0,13	0,50 ± 0,13					
3h	0,20 ± 0,13	0,35 ± 0,13	0,45 ± 0,13					
4h	0,10 ± 0,13	0,00 ± 0,13	0,00 ± 0,13					
5h	0,00 ± 0,13	0,05 ± 0,13	0,00 ± 0,13					
6h	0,00 ± 0,13	0,00 ± 0,13	0,00 ± 0,13					
Erbrechen				0,453	**<0,001**	0,920	0,186	0,947
1h	0,50 ± 0,22	0,70 ± 0,22	0,55 ± 0,22					
2h	1,20 ± 0,22	1,45 ± 0,22	1,25 ± 0,22					
3h	0,60 ± 0,22	1,05 ± 0,22	1,00 ± 0,22					
4h	0,35 ± 0,22	0,20 ± 0,22	0,05 ± 0,22					
5h	0,05 ± 0,22	0,25 ± 0,22	0,00 ± 0,22					
6h	0,00 ± 0,22	0,00 ± 0,22	0,00 ± 0,22					
Diarrhö				0,591	**<0,05**	0,408	0,723	0,848
1h	0,20 ± 0,09	0,00 ± 0,09	0,00 ± 0,09					
2h	0,25 ± 0,09	0,15 ± 0,09	0,10 ± 0,09					

3h	0,20 ± 0,09	0,35 ± 0,09	0,20 ± 0,09					
4h	0,10 ± 0,09	0,10 ± 0,09	0,00 ± 0,09					
5h	0,00 ± 0,09	0,00 ± 0,09	0,05 ± 0,09					
6h	0,00 ± 0,09	0,00 ± 0,09	0,00 ± 0,09					
Aktivität				0,128	**<0,001**	0,230	0,690	0,765
1h	**2,15 ± 0,33[a]**	3,15 ± 0,33	**3,50 ± 0,33[b]**					
2h	0,05 ± 0,33	0,20 ± 0,33	0,40 ± 0,33					
3h	0,10 ± 0,33	0,05 ± 0,33	0,20 ± 0,33					
4h	0,10 ± 0,33	0,20 ± 0,33	0,25 ± 0,33					
5h	0,65 ± 0,33	0,60 ± 0,33	1,05 ± 0,33					
6h	0,60 ± 0,33	0,45 ± 0,33	1,00 ± 0,33					
Inaktivität				0,088	**<0,001**	0,295	0,930	0,487
1h	11,20 ± 0,23	10,45 ± 0,23	10,45 ± 0,23					
2h	11,95 ± 0,23	11,95 ± 0,23	11,80 ± 0,23					
3h	11,90 ± 0,23	11,95 ± 0,23	11,80 ± 0,23					
4h	11,95 ± 0,23	11,95 ± 0,23	11,90 ± 0,23					
5h	11,75 ± 0,23	11,75 ± 0,23	11,70 ± 0,23					
6h	11,95 ± 0,23	11,15 ± 0,23	11,70 ± 0,23					
Rektaltemperatur (°C)				0,517	**<0,001**	0,073	0,760	0,359
0h	39,06 ± 0,23	39,12 ± 0,23	39,11 ± 0,23					
1h	39,46 ± 0,23	39,40 ± 0,23	39,53 ± 0,23					
3h	38,69 ± 0,23	38,77 ± 0,23	38,62 ± 0,23					
6h	39,26 ± 0,23	39,25 ± 0,23	39,85 ± 0,23					
24h	40,14 ± 0,23	39,55 ± 0,23	40,18 ± 0,23					

DA (Deprivation allein), DG (Deprivation in einer Gruppe von Wurfgeschwistern) und K (Kontrolle, keine Deprivation). Innerhalb einer Zeile werden signifikante Unterschiede durch unterschiedliche Buchstaben angezeigt ([a,b] $p < 0,05$; [c,d] $p < 0,01$; Tukey-Kramer-Test; n = 20 Tiere/Gruppe). Mittelwerte ohne gemeinsame Buchstaben unterscheiden sich

Anhang 13: Konzentrationen von Cortisol und immunologischen Parametern im Blutplasma der Ferkel der drei Behandlungsgruppen vor und zu verschiedenen Zeitpunkten nach der LPS-Applikation

Parameter	Behandlungsgruppe			*p*-Werte (F-Test)					
	DA	**DG**	**K**	**Behandlung**	**Zeit**	**Geschlecht**	**Behandlung × Zeit × Geschlecht**	**Behandlung × Zeit**	**Behandlung × Geschlecht**
Cortisol (ng/ml)				0,614	**<0,001**	0.311	0,882	0,543	0,870
0h	32,50 ± 10,41	31,79 ± 10,81	35,27 ± 10,81						
1h	92,80 ± 10,42	75,96 ± 10,81	88,16 ± 10,81						
3h	26,24 ± 10,42	20,70 ± 10,81	22,10 ± 10,81						
6h	218,61 ± 10,42	191,87 ± 10,81	186,62 ± 10,81						
24h	98,21 ± 10,42	107,90 ± 10,81	102,11 ± 10,81						
TNF-α (ng/ml)				0,127	**<0,001**	0,354	**<0,01**	**<0,05**	0,094
0h	0,11 ± 1,85	0,05 ± 1,92	0,05 ± 1,92						
1h	**15,09 ± 1,85**[e]	21,20 ± 1,92	**27,53 ± 1,92**[f]						
3h	5,30 ± 1,85	4,96 ± 1,92	5,48 ± 1,92						
6h	1,25 ± 1,85	1,18 ± 1,92	1,36 ± 1,92						
24h	0,12 ± 1,85	0,06 ± 1,92	0,07 ± 1,92						
IL-6 (ng/ml)				0,837	**<0,001**	0,575	0,920	0,998	0,600
0h	0,01 ± 0,34	0,02 ± 0,36	0,02 ± 0,36						
1h	0,09 ± 0,34	0,14 ± 0,36	0,22 ± 0,36						
3h	2,21 ± 0,34	2,35 ± 0,36	2,75 ± 0,36						
6h	0,33 ± 0,34	0,43 ± 0,36	0,43 ± 0,36						
24h	0,04 ± 0,34	0,04 ± 0,36	0,05 ± 0,36						
IL-10 (pg/ml)				0,681	**<0,001**	0,354	0,180	0,919	0,771
0h	22,99 ± 8,50	20,80 ± 8,74	26,93 ± 8,76						
1h	93,04 ± 8,50	97,12 ± 8,74	111,87 ± 8,76						
3h	23,30 ± 8,50	18,67 ± 8,74	20,09 ± 8,76						

6h	54,37 ± 8,50	47,10 ± 8,74	58,81 ± 8,76						
24h	50,85 ± 8,50	55,16 ± 8,74	56,76 ± 8,76						
TNF-α /IL-10 Quotient				0,231	**<0,001**	0,067	0,278	0,191	0,721
0h	7,87 ± 16,42	13,69 ± 17,04	10,03 ± 17,04						
1h	155,96 ± 16,42	217,86 ± 17,04	237,24 ± 17,04						
3h	10,60 ± 16,42	8,34 ± 17,04	9,33 ± 17,04						
6h	97,47 ± 16,42	123,87 ± 17,04	106,60 ± 17,04						
24h	26,90 ± 16,42	26,18 ± 17,04	27,96 ± 17,04						
IL-6/IL-10 Quotient				0,667	**<0,001**	0,676	0,997	0,892	0,917
0h	0,67 ± 5,80	1,22 ± 6,00	1,52 ± 6,01						
1h	0,95 ± 5,80	1,50 ± 6,00	1,53 ± 6,01						
3h	2,69 ± 5,80	1,98 ± 6,00	2,45 ± 6,01						
6h	34,70 ± 5,80	45,17 ± 6,00	51,44 ± 6,01						
24h	5,87 ± 5,80	7,27 ± 6,00	8,25 ± 6,01						
IgA (ng/ml)				0,341	0,292	0,456	0,805	0,862	0,902
0h	0,25 ± 0,04	0,26 ± 0,04	0,16 ± 0,04						
3h	0,19 ± 0,04	0,20 ± 0,04	0,16 ± 0,04						
6h	0,25 ± 0,04	0,23 ± 0,04	0,20 ± 0,04						

DA (Deprivation allein), DG (Deprivation in einer Gruppe von Wurfgeschwistern) und K (Kontrolle, keine Deprivation), Die Ergebnisse sind angegeben als LSM ± SE. Innerhalb einer Zeile werden signifikante Unterschiede durch unterschiedliche Buchstaben angezeigt ([e,f] $p < 0,001$; Tukey-Kramer-Test; n = 15-16 Tiere je Behandlungsgruppe).

Publikationen

R. Brückmann, M. Tuchscherer, A. Tuchscherer, U. Gimsa, E. Kanitz (2020); „Early-Life Maternal Deprivation Predicts Stronger Sickness Behaviour and Reduced Immune Responses to Acute Endotoxaemia in a Pig Model"; Int. J. Mol. Sci, 2020, 21(15), 5212" (doi.org/10.3390/ijms21155212)

Danksagung

Zunächst möchte ich mich bei meinen Betreuern – Dr. Margret Tuchscherer, Dr. Ellen Kanitz und Prof. Ulrike Gimsa – bedanken, die mir die Möglichkeit gaben, in diesem komplexen und überaus spannenden Themenbereich zu forschen und eine durchgehende fachliche Betreuung der Doktorarbeit ermöglichten, als Dr. Margret Tuchscherer diese krankheitsbedingt leider nicht mehr fortführen konnte. Dr. Ellen Kanitz möchte ich an dieser Stelle außerdem für Ihre Bereitschaft danken, mir auch während ihres wohlverdienten Ruhestandes weiter für Fragen und Anregungen zur Verfügung gestanden zu haben. Ich danke Prof. Ulrike Gimsa für die Übernahme der Dissertationsbetreuung im Namen der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen-Fakultät und die damit verbundene Betreuung des Projektes.

Besonderer Dank gilt allen Mitarbeitern des Fachbereichs Verhaltensphysiologie für ihre tatkräftige Unterstützung – sei es bei der Durchführung tierexperimenteller Versuche, bei laboranalytischen Auswertungen oder einfach für das Schaffen eines positiven Arbeitsklimas zu jeder Tageszeit, selbst am Wochenende. Ohne sie wäre eine praktische Umsetzung des Projektes nicht möglich gewesen. Ich bedanke mich bei Heinz Deike, Silvia Langhoff, Dagmar Mähling, Petra Müntzel, Evelin Normann, Martina Pohlmann und Birgit Sobczak. Dank gilt auch allen Mitarbeitern und Mitarbeiterinnen des Instituts für Verhaltensbiologie, die unter der Aufsicht von Prof. Birger Puppe eine familiäre Arbeitsatmosphäre geschaffen haben. Gleichzeitig möchte ich auch den Mitarbeitern der Experimentalanlage Schwein — Marianne Zenk, Dirk Ameling, Frank Hintze, Dr. Bernd Stabenow — die Bereitstellung und Betreuung der Versuchstiere sowie ihrer großen Hilfe bei den Versuchen danken. Sie haben die Arbeiten im Stall wesentlich erleichtert und auf humorvolle Art und Weise aufgelockert.

Großer Dank geht an Dr. Sandra Düpjan für das Bereitstellen der Technik für die bioakustischen Aufnahmen und ihrer unendlichen Geduld bei der Beantwortung meiner Fragen zu ethologischen Sachverhalten. Ebenso wie an Jutta Hoffmann, die stets für bürokratische Belange zur Verfügung stand und jederzeit ein offenes Ohr für die kleinen Probleme des wissenschaftlichen Alltags hatte.

Vielen Dank zudem an den Obst- und Weinhof Parkentin für die vielen, stärkenden Abende und die verkorkte Motivation während zäher Durststrecken.

Meiner Familie und meinen Freunden danke ich für den Beistand und den Support während der Promotion und die Geduld beim Ertragen meiner wechselnden Stimmungen, sowie für die gedankliche Abwechslung während geselliger Runden. Besonderer Dank gilt hierbei meiner Schwester Katharina Brückmann, die mir den Rücken stärkte, mir richtungsweisende Formulierungsvorschläge gab, für ihr Korrektorat und den schwarzen Humor, der mir über das ein oder andere Tief verhalf – kurz um, sie stand mir bis zum Ende bei! Danke!

Nicht vergessen werde ich auch all die Tiere, die die Grundlage dieser Arbeit bilden.

Selbstständigkeitserklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Dissertation selbstständig und ohne fremde Hilfe angefertigt, keine außer den von mir angegebenen Hilfsmitteln und Quellen dazu verwendet und die den benutzten Quellen inhaltlich und wörtlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe. Weiterhin erkläre ich, an keiner anderen Stelle ein Prüfungsverfahren beantragt zu haben bzw. die Dissertation in dieser oder anderer Form bereits anderweitig als Prüfungsarbeit verwendet oder einer anderen Fakultät als Dissertation vorgelegt zu haben.

Lübeck, 16.08.2022