

Modulation funktioneller Plastizität in der hippokampalen CA1 Region der frei beweglichen Ratte

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades

**doctor rerum naturalium
(Dr. rer. nat.)**

genehmigt durch die Fakultät für Naturwissenschaften
der Otto-von-Guerike-Universität Magdeburg

von Dipl.-Biol. Thomas Scherf

geb. am 17.08.1977 in Karl-Marx-Stadt (Chemnitz), Deutschland

Gutachter: Prof. Dr. Julietta U. Frey

Prof. Dr. Denise Manahan-Vaughan

eingereicht am: 22.10.2010

verteidigt am: 14.04.2011

Danksagung

Ich möchte mich bei allen, die mich in den letzten Jahren unterstützt haben, ganz herzlich bedanken. Mein besonderer Dank gilt Frau Prof. Dr. Juliette Frey für die Überlassung dieses sehr interessanten Themas und der Möglichkeit die Daten meiner Arbeit bei internationalen Meetings präsentieren zu dürfen.

Weiterhin danke ich besonders Frau Dr. Sabine Frey für die Unterstützung während der gesamten Promotionszeit sowie für die kritische Korrektur sämtlicher Veröffentlichungen und wichtiger Hinweise bei der Anfertigung dieser Arbeit.

Ein ganz besonderer Dank gilt ebenfalls Prof. Dr. Jorge A. Bergado für die Einführung in die experimentellen Untersuchungen zu Beginn meiner Promotion, für die Beantwortung vieler Fragen und für das gute freundschaftliche Verhältnis.

Eine große Hilfe während der gesamten Promotionszeit war die Unterstützung von Silvia Vieweg, die mich beim Erlernen der in vivo Präparationstechniken angeleitet hat, mir immer mit Rat und Tat bei den histologischen Auswertungen zur Seite stand und mich mit Ihrem Witz und Humor immer wieder aufgebaut hat. Mein weiterer Dank gilt ebenfalls den technischen Assistentinnen Diana Koch und Jeannette Maiwald für die anregenden Gespräche und Ihre Hilfe.

Ein ganz großes „Danke“ gilt meinen Eltern und Großeltern, die immer für mich da waren und mich zu jeder Zeit unterstützt haben.

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung.....	5
1.1. Lernen und Gedächtnis.....	5
1.2. Der Hippokampus.....	9
1.2.1. Anatomischer Aufbau und dessen Verbindungen.....	10
1.2.2. CA1-Pyramidenzellen.....	12
1.3. Feldpotentiale.. ..	14
1.4. Hippokampale synaptische Plastizität – LTP und LTD.....	16
1.5. Hippokampale LTP und LTD.....	19
1.5.1. Zeitliche Phaseneinteilung von LTP und LTD.....	19
1.5.2. Prozesse der hippokampalen LTP/LTD und deren molekulare Mechanismen.....	23
1.6. Synaptic Tagging.....	27
1.7. Heterosynaptische Aktivierung und neuromodulatorische Systeme.....	28
1.8. Zielstellung.....	34
2. Material und Methoden.....	36
2.1. Versuchstiere.....	36
2.2. Präparation und Elektrodenimplantationen.....	36
2.3. Experimentalablauf und Stimulationsprotokolle.....	41
2.4. Histologie.....	51
2.5. Statistik.....	52
3. Ergebnisse.....	53
3.1. Aufnahmen zur Stabilitätskontrolle von fEPSP und PS.....	53
3.2. Induktion einer early-LTP und deren Modulation durch elektrische hochfrequente Stimulation der VTA (VTAhfs).....	54

3.2.1.	Induktion einer early-LTP.....	54
3.2.2.	Verstärkung einer early-LTP in eine late-LTP durch VTAHfs.....	56
3.2.3.	Pharmakologische Untersuchungen zur Überführung einer early-LTP in eine late-LTP durch VTAHfs.....	58
3.2.3.1.	Einfluss der Applikation eines D1/D5-Rezeptorantagonisten...	58
3.2.3.2.	Einfluss der Applikation zweier Proteinsyntheseblocker.....	60
3.3.	Einfluss der VTAHfs auf die hippocampale CA1.....	62
3.3.1.	Induktion einer delayed-onset Potenzierung.....	62
3.3.2.	Abhängigkeit der delayed-onset Potenzierung von der glutamatergen Rezeptoraktivierung.....	64
3.3.3.	Pharmakologische Untersuchungen zur Induktion einer delayed-onset Potenzierung.....	66
3.3.3.1.	Einfluss der Applikation eines NMDA-Rezeptorantagonisten..	66
3.3.3.2.	Einfluss der Applikation eines D1/D5-Rezeptorantagonisten...	68
3.4.	Induktion einer early-LTD und deren Modulation durch VTAHfs.....	71
3.4.1.	Induktion einer early-LTD.....	71
3.4.2.	Einfluss der VTAHfs auf eine induzierte early-LTD.....	72
3.4.2.1.	Verstärkung einer early-LTD in eine late-LTD durch VTAHfs.....	72
3.4.3.	Einfluss der VTAHfs vor Induzierung einer LTD.....	74
3.4.4.	Unterschied der VTAHfs vor und nach Induzierung einer LTD.....	76
3.4.5.	Einfluss der Applikation eines D1/D5-Rezeptorantagonisten.....	77
4.	Diskussion.....	80
4.1.	Simultane Ableitung von fEPSP und PS in der hippocampalen CA1 Region mittels einer „Doppel“-ableitelektrode.....	80
4.2.	Early-LTP und deren Modulationsmöglichkeiten.....	81

4.2.1. Modulation einer induzierten early-LTP.....	83
4.3. Modulation der hippocampalen CA1 Basalaktivität.....	88
4.4. LTD und deren Modulationsmöglichkeiten.....	92
4.4.1. Induktion einer early-LTD.....	92
4.4.2. Modulation einer induzierten early-LTD.....	94
5. Zusammenfassung.....	99
6. Literaturverzeichnis.....	102
7. Abkürzungsverzeichnis.....	117
Anhang.....	119
I. Selbstständigkeitserklärung.....	119
II. Publikationen.....	120
III. Lebenslauf.....	122

1. Einleitung

1.1. Lernen und Gedächtnis

Eine der wichtigsten Eigenschaften, zum Beispiel bei Säugetieren, ist die Verarbeitung und Speicherung von Informationen, die zum einen zur besseren Anpassung an den jeweiligen Lebensraum, zur Orientierung und zum anderen zur Speicherung spezieller Erfahrungswerte und Fakten dienen. Lernen stellt hierbei einen Prozess dar, der für die Aufnahme und Verarbeitung von Informationen, sowie für deren spätere Erinnerung an bestimmte Vorgänge, Abläufe und Erfahrungen notwendig ist (Squire, 2004). Die ersten Erkenntnisse auf dem Gebiet der Gedächtnisforschung stammen von beobachteten Defiziten, die durch Schädigung bestimmter Bereiche des Gehirns hervorgerufen wurden. Schon 1861 entdeckte Pierre Paul Broca, dass eine Verletzung des hinteren Teils des linken Frontallappens ein spezifisches Sprachdefizit (Aphasie) hervorruft (Pierre Paul Broca, 1861). Es dauerte fast ein Jahrhundert in denen sich Forscher mit vielen Fragen im Bezug auf das Lernen und der Gedächtnisbildung beschäftigten bis es zumindest auf einen Teil der Fragen die ersten Antworten gab. So gelang es Wilder Penfield erste Belege dafür zu finden, dass Gedächtnisvorgänge in bestimmten Bereichen des Gehirns lokalisiert sind (Penfield und Rasmussen, 1950). Bereits Charles Sherrington hatte um die Jahrhundertwende die motorische Repräsentation im Cortex narkotisierter Affen kartiert, indem er die Cortexoberfläche systematisch mit Elektroden reizte und die Aktivität motorischer Neurone aufzeichnete (Sherrington, 1906). Ebenfalls Anfang des 20. Jahrhunderts brachte Cajal zur Überlegung, dass das neuronale Netzwerk nicht cytoplasmatisch kontinuierlich ist, sondern untereinander über bestimmte Verbindungen in Kontakt steht (Jones, 1994; Jones, 1999).

Einen wichtigen Aspekt für die Aufnahme von Informationen und der Formierung von Gedächtnisinhalten stellt der Hippokampus dar. Dieses Hirnareal besitzt eine fundamentale Bedeutung für Lern- und Gedächtnisprozesse bei allen Tierklassen und beim Menschen. Erste Hinweise wurden dabei in Studien von Milner et al. am Patienten „H.M.“ verdeutlicht (Milner et al., 1955). Diese Untersuchung legte dar, dass bilaterale Läsionen des Hippokampus dazu führten, dass keine Speicherung von neuen persönlichen Informationen mehr möglich war. Erinnerungen aus der Zeit vor der Läsion des Hippokampus blieben jedoch erhalten. Am Tiermodell konnte ebenfalls gezeigt werden, dass der Hippokampus in der Regel nur über einen bestimmten Zeitraum für den Abruf von neu Erlerntem erforderlich ist. Dieser Zeitraum kann sich von Wochen bis zu Monaten erstrecken (Lorenzini et al., 1996; Anagnostaras et al.,

1999; Squire et al., 2001). Weiterhin führten jedoch Überlegungen zur Rolle des Hippokampus beim Auffinden von episodischen Gedächtnisinhalten zur Entwicklung der „multiple trace theory“ (Nadel und Moscovitch, 1997; Moscovitch et al., 2006), welche darlegt, dass der Hippokampus für das Wiederauffinden genauer episodischer und räumlicher Erinnerungen benötigt wird. Dies ist unabhängig vom Alter dieser Erinnerungen, so dass der Hippokampus eine lebenslange Funktion beim Abruf von Erinnerungen inne hat. So wird nach dieser Theorie angenommen, dass hippokampale Strukturen bei der Einspeicherung und beim Abruf von deklarativen Gedächtnisinhalten mit dem Neocortex interagieren und ein hippokampales-neocorticales Netzwerk bilden, so dass für das Wiederauffinden zumindest einiger Erinnerungen eine anhaltende Kommunikation zwischen dem Hippokampus und dem Neocortex notwendig sein könnte (Nadel und Moscovitch, 1997; Moscovitch, 1998; Moscovitch, 1999). Durch jeden erneuten Abruf bilden sich nach der „multiple trace theory“ multiple Spuren im Hippokampus, die mit corticalen Netzwerken verlinkt werden. Weiterhin gehen die Vertreter dieser Theorie davon aus, dass episodische Inhalte stärker als semantische Inhalte von medialen Temporallappenstrukturen abhängig sind (Nadel und Moscovitch, 1997; Moscovitch, 1999; Nadel, 2000).

Die Rolle des Hippokampus, im Besonderen bei der Kommunikation mit den neocortikalen Arealen zur Langzeitspeicherung von Informationen und die dabei mögliche Notwendigkeit der Beteiligung des Hippokampus zum Wiederauffinden sowie der Neufestigung von Gedächtnisinhalten wird in der Literatur kontrovers diskutiert. So postuliert zum Beispiel die bereits erläuterte „multiple trace theory“ eine lebenslange Kommunikation zwischen dem Hippokampus und neocortikalen Arealen (Nadel und Moscovitch, 1997; Moscovitch et al., 2006). Wohingegen zum Beispiel das „standard consolidation model“ davon ausgeht, dass der Hippokampus tägliche Ereignisse speichert und diese dann an cortikale Areale weitergegeben werden, so dass der Hippokampus als zeitlich begrenzte Zwischenstation fungiert, die eine Gedächtnisspur speichert und nur eine temporäre Funktion besitzt (Marr, 1970, Marr, 1971, Alvarez, 1994; Squire, 1995).

Einteilung

Untersuchungen an Patienten mit Temporallappenverletzungen ließen die Vermutung zweier grundlegend unterschiedlicher Hauptgedächtnisformen zu. Zum einen handelt es sich dabei um das explizite Gedächtnis, welches erlernte Informationen über Fakten und Sachwissen beinhaltet und zum anderen das implizite Gedächtnis, welches die Informationen über

bestimmte Handlungsabläufe, zum Beispiel wie Prozesse ablaufen und diese automatisiert gesteuert werden, beinhaltet. Abbildung 1 zeigt eine schematische Einteilung der beiden genannten Gedächtnisformen im Bezug auf deren Gedächtnisbildung und deren Inhalt. (Squire, 2004).

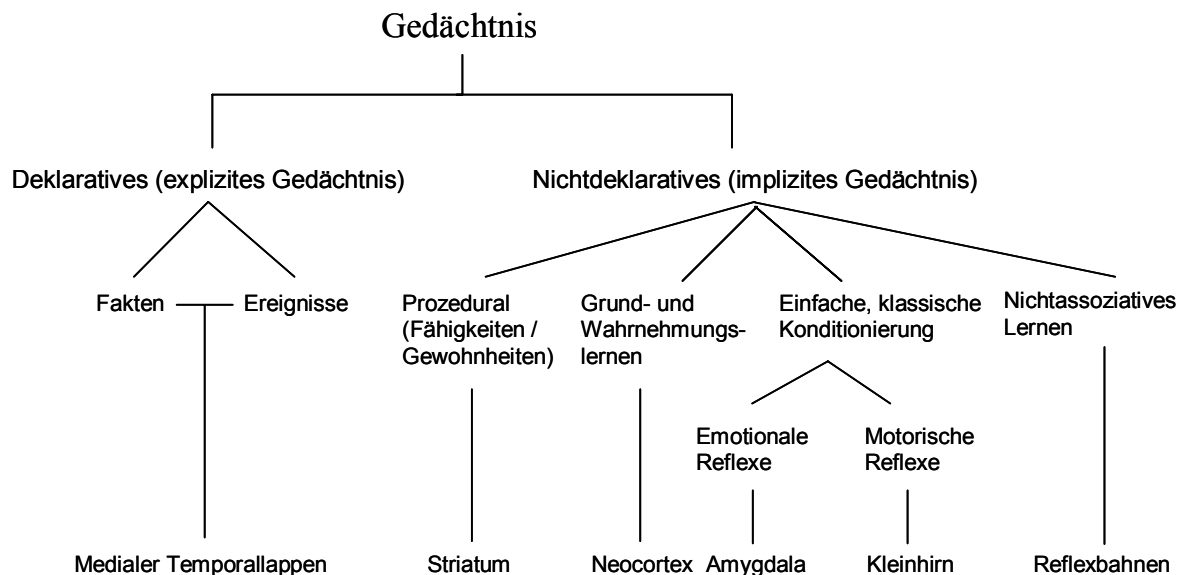


Abb.1. Taxonomie der Gedächtnisformen (modifiziert nach Larry R. Squire, 2004)

Das explizite Gedächtnis ist charakterisiert durch seine erworbenen Fakten, seine im Vergleich zum impliziten Gedächtnis schnelle Bildung, seine Flexibilität und dass dessen Gedächtnisinhalte im Vergleich zum impliziten Gedächtnis leicht zu beeinflussen ist (Cohen und Squire, 1980; Squire, 2004; Squire et al., 1993). Das implizite Gedächtnis ist unbewusst und eher automatisierter Natur, das heißt sowohl die Bildung der Gedächtnisinhalte, als auch deren Abruf ist nicht unbedingt an eine bewusste Aufmerksamkeit gekoppelt. Des Weiteren erfolgt seine Bildung langsamer und es ist unflexibler im Vergleich zum expliziten Gedächtnis (Squire, 2004).

Das explizite Gedächtnis beruht auf Strukturen des medialen Temporallappen, wie dem Hippokampus, dem entorhinalen, parahippokampalen und perirhinalen Cortices (Squire et al., 1993). Aus mehreren Studien geht hervor, dass Schädigungen innerhalb dieser Strukturen die expliziten Gedächtnisinhalte negativ beeinflussen (Scoville und Milner, 1957; Scoville und Milner, 2000; Zola-Morgan et al., 1986; Squire et al., 1993; Squire und Alvarez, 1995). Bei

Untersuchungen von Patienten mit beidseitiger Schädigung des Hippokampus und der umliegenden Bereiche, wie Subiculum, entorhinaler, parahippokampaler und perirhinaler Cortex, zeigten sich eine ausgeprägte anterograde Amnesie sowie retrograde Amnesie für explizite Gedächtnisleitungen (Scoville und Milner, 2000). Es wurde festgestellt, dass mit der Schwere der Schädigung der Temporallappen auch der Umfang der Gedächtnisdefizite für das explizite Gedächtnis zunahm. Im Gegensatz zum Ausmaß der Amnesie für neue Informationen zeigten Patienten mit Schädigung der Temporallappen nur eine begrenzte retrograde Amnesie, die hauptsächlich Ereignisse betraf, welche der Hirnschädigung zeitnah vorangegangen waren (Squire und Zola-Morgan, 1991; Squire et al., 2001; Rosenbaum et al., 2000). Das implizite Gedächtnis war hingegen nicht beeinträchtigt (Squire und Zola-Morgan, 1991; Squire et al., 2001). Dies verdeutlicht, dass der Hippokampus für die Bildung und Konsolidierung zumindest spezieller expliziter, jedoch nicht impliziter Gedächtnisinhalte notwendig und in der Regel nicht für deren permanente Speicherung verantwortlich ist. Durch Schädigungen im Temporallappenbereich ist demzufolge der Aufbau neuer expliziter Gedächtnisinhalte gestört, wohingegen bereits etablierte Fakten im expliziten Gedächtnis unbeeinflusst bleiben. Auch bei tierexperimentellen Läsionsstudien wurde diese Bedeutung des Hippokampus bei Lern- und Gedächtnisprozessen verdeutlicht (O'Keefe und Nadel, 1978; Jarrard, 1983; Jarrard et al., 1986; Jarrard und Davidson, 1991; Jarrard, 1993; Zola-Morgan et al., 1993; Moser et al., 1993) sowie ebenfalls die Unabhängigkeit von impliziten Lernparadigmen gezeigt (O'Keefe und Nadel, 1978; Squire, 1992; Jarrard, 1993; Bliss und Richter-Levin, 1993). Um Gedächtnisleistungen zu beschreiben, welche hippokampusabhängig sind und somit zur Bildung des expliziten Gedächtnisses bei Säugetieren von maßgeblicher Bedeutung sind, konnte bei tierexperimentellen Studien gezeigt werden, dass Tiere mit Läsionen des Hippokampus vorrangig Gedächtnisdefizite bei Lernaufgaben mit räumlich-zeitlicher Integration aufwiesen (Eichenbaum, 2001). Die räumliche Komponente kommt dabei besonders bei Gedächtnisaufgaben zum Tragen, die für eine adäquate interne Repräsentation eine vielfältige Assoziation verschiedener Umgebungsmerkmale erfordern, wie es zum Beispiel bei Paradigmen des räumlichen Lernens der Fall ist (Morris, 1984; Leis et al., 1984). Die zeitliche Komponente spielt grundsätzlich in Lernparadigmen eine Rolle, bei denen zeitlich versetzte Informationen miteinander assoziiert werden müssen (McEchron und Disterhoft, 1999; Clark et al., 2001).

Die Bedeutung des Hippokampus ist nach diesen Untersuchungen und Erkenntnissen vor allem für die Speicherung expliziter Gedächtnisinhalte von großer Bedeutung. Besonders in Bezug auf die synaptische Plastizität, welche die zellulären Prozesse der Erhöhung oder

Verminderung der synaptischen Effizienz beschreiben, wie bei der Langzeitpotenzierung (engl. long-term potentiation, LTP) oder Langzeitdepression (engl. long-term depression, LTD) ist der Hippokampus des Säugetierhirns in den letzten Jahrzehnten sehr intensiv untersucht worden. Dabei stellen zum Beispiel die erste Beschreibung der hippokampalen LTP durch Bliss und Lomo (Bliss und Lomo, 1973) und der LTD durch Dunwiddie und Lynch (Dunwiddie und Lynch, 1978) sowie die Aufstellung der Hypothese des „Synaptic Tagging“ (Frey und Morris, 1997; Frey und Morris, 1998a) Grundpfeiler zur Erforschung der synaptischen Plastizität innerhalb des Hippokampus dar.

1.2. Der Hippokampus

Der Hippokampus (Abb. 2) ist entwicklungsgeschichtlich betrachtet aus einer Einrollung des Archicortex bei der Neubildung des Neocortex hervorgegangen und bildet eine zentrale Struktur des Limbischen Systems. Die Lage des Hippokampus im Rattenhirn beginnt in der Nähe des Apex, zieht sich bis zur Hirnbasis und ist damit im Vergleich zum Menschen weniger temporal gelegen. Die anatomische Form des Hippokampus ähnelt einem Seepferdchen, so dass dieser Begriff, aus dem griechischen stammend, auch die Namensgebung für dieses Gebiet bildet. Besonders anhand eines Transversalschnittes lässt sich gut die charakteristische Struktur des Hippokampus verdeutlichen (Abb. 2, oberer Bereich). Diese unterschiedlichen Zellschichten und Bereiche sind durch eine Reihe von Verbindungen innerhalb des Hippokampus und zu anderen Hirnarealen gekennzeichnet. Dabei gliedern sich diese Verschaltungen in die haupthippokampalen Ein- und Ausgänge und in die intrahippokampalen Verbindungen, wie der exzitatorischen trisynaptischen Kaskade (Entorinaler Cortex-Area dentatus-CA3-CA1). Im folgenden Abschnitt wird näher auf diese Verschaltungen, sowohl innerhalb des Hippokampus, als auch zu und von anderen Hirnarealen eingegangen.

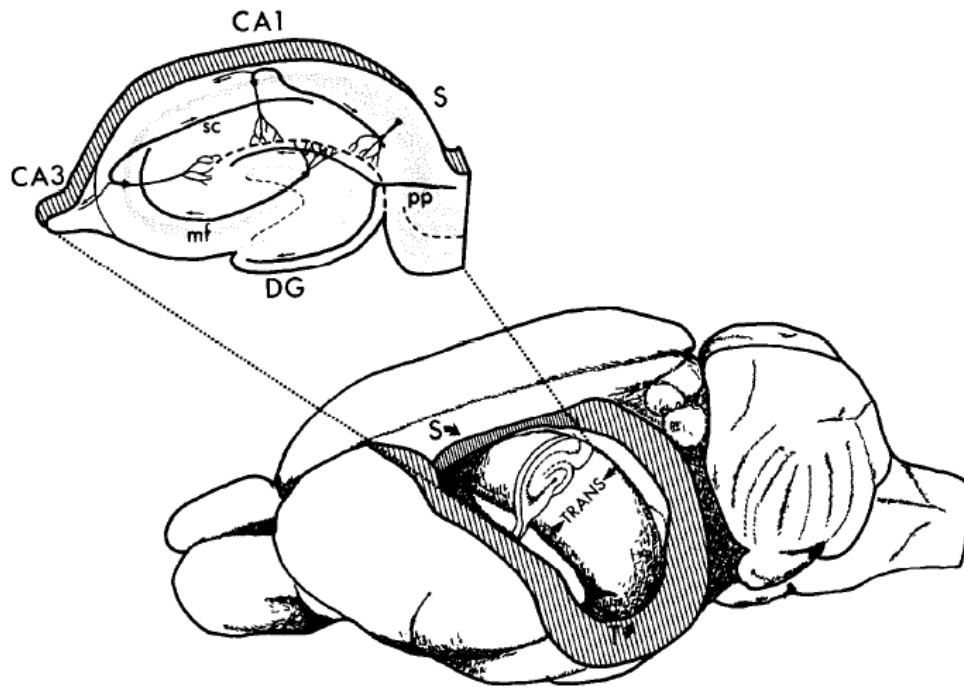


Abb.2. Schematische Darstellung der Position der hippocampalen Formation am Beispiel des Rattenhirns mit einem Transversalschnitt im oberen Bereich der Abbildung (CA1: Cornu ammonis 1; CA3; Cornu ammonis 3; DG: Gyrus dentatus; mf: Moosfasern; pp: Tractus perforans; S: Subiculum; SC: Schaffer-Kollaterale; D. G. Amaral und M. P. Witter, 1989).

1.2.1. Anatomischer Aufbau und dessen Verbindungen

Der Hippokampus oder besser gesagt das hippocampale Areal umfasst im weiteren Sinne 4 Regionen. Diese beinhalten den Gyrus dentatus (DG); die eigentlichen hippocampalen Unterstrukturen CA1, CA2, CA3 und CA4 (CA: Cornu ammonis; lat. Ammonshorn); den subicularen Komplex, welcher sich seinerseits wieder in das Subiculum, das Presubiculum und Parasubiculum unterteilt, und letztendlich den entorhinalen Cortex, welcher sich bei Nagern teilweise wieder in mediale und laterale Unterbereiche aufteilt. Die eigentliche anatomische Struktur des Hippokampus begrenzt sich im Wesentlichen auf die CA1-4 Unterstrukturen und dem sich zytoarchitektonisch davon abgrenzbaren DG. Die Hauptneuronenpopulation bilden in den CA Regionen die Pyramidenzellen und im DG die Körnerzellen. Im Hippokampus existieren drei wesentliche afferente Verbindungswege, die sich vom entorhinalen Cortex bis zur CA1 Region erstrecken. Dabei stehen die

hippokampalen Gebiete über individuelle weitgehend unidirektionale Verbindungen miteinander in Kontakt. Die Axone des Tractus perforans, welcher dem entorhinalen Cortex entspringt, enden auf den Körnerzellen im Hilus des DG und es erfolgen dabei im Speziellen synaptische Kontakte in der Dendritenschicht (Stratum moleculare) der Körnerzellen. Die Axone dieser Körnerzellen, die so genannten Moosfasern, projizieren als Faserbündel zu den Axonen der CA3 Region und von da aus ziehen die Schaffer-Kollaterale (erregende Axonkollaterale der Pyramidenzellen der CA3 Region) zu den Dendriten der Pyramidenzellen in der CA1 Region (Amaral und Witter, 1989; Amaral und Witter, 1995). Außer diesen Verbindungswegen erhält der Hippokampus Afferenzen vom kontralateralen Hippokampus und von weiteren (subkortikalen) Gebieten, worauf im Folgenden eingegangen wird (Amaral und Witter, 1995; Dutar, 1995; Lisman, 2005). In dieser hier vorgelegten Arbeit erfolgte dabei die kontralaterale elektrische Stimulation der CA3 (cCA3) und es konnten somit durch Aktivierung des kommissuralen Eingangs zur CA1, sowohl das exzitatorische postsynaptische Feldpotential (fEPSP), als auch das Summenaktionspotential (PS, engl. population spike) in dieser Region registriert werden (Scherf et al., 2010). Neben diesen glutamatergen Eingängen bestehen unter anderem subcortikale Eingänge verschiedener neuromodulatorischer Systeme, wie zum Beispiel vom Locus coeruleus (noradrenerg); Raphe nuclei (serotonerg); basolaterale Amygdala (β -adrenerg und / oder muscarinerg); Septum medialis (β -adrenerg); Tegmentum, Substantia nigra und des ventralen tegmental Areal (dopaminerg) zum Hippokampus (Amaral und Witter, 1995; Dutar, 1995; Lisman, 2005). Diese erwähnten subcortikalen Projektionen zum Hippokampus konnten auch indirekt durch elektrophysiologische Untersuchungen nachgewiesen werden (siehe zum Beispiel: Spencer und Wheal, 1990; Frey et al., 2001; Frey et al., 2003; Bergado et al., 2007; Bergado et al., 2009; Krnjevic und Ropert, 1982; Martig und Mizumori, 2010). Neben diesen elektrophysiologischen Nachweisen für subcortikale Projektionen zum Hippokampus, konnten auch intrahippokampale Verbindungen durch elektrophysiologische Untersuchungen nachgewiesen werden. So erfolgte zum Beispiel durch Stimulation der cCA3 oder der kontralateralen CA1 (cCA1) die Aktivierung des kommissuralen Einganges zur CA1 (Bliss et al., 1983; Diamond et al., 1988; Leung et al., 1992; Hassan et al., 2006; Scherf et al., 2010).

1.2.2. CA1-Pyramidenzellen

Die Pyramidenzellen gehören zur Gruppe der multipolaren Zellen, welche den häufigsten Neuronentyp im Nervensystem der Säugetiere bilden und sich im Hippokampus sowie der gesamten Großhirnrinde befinden. Sie besitzen einen pyramidenähnlichen Zellkörper mit einem Axon und mehreren Dendriten, wobei der Dendrit an der Spitze des Zellkörpers im Stratum pyramidale als so genannter „apikaler Dendrit“ entspringt und sich über das Stratum radiatum bis zum Stratum lacunosum moleculare erstreckt. An der Basis des Zellkörpers entspringen die so genannten „basalen Dendriten“, welche sich in das Stratum oriens erstrecken (Abb.3).

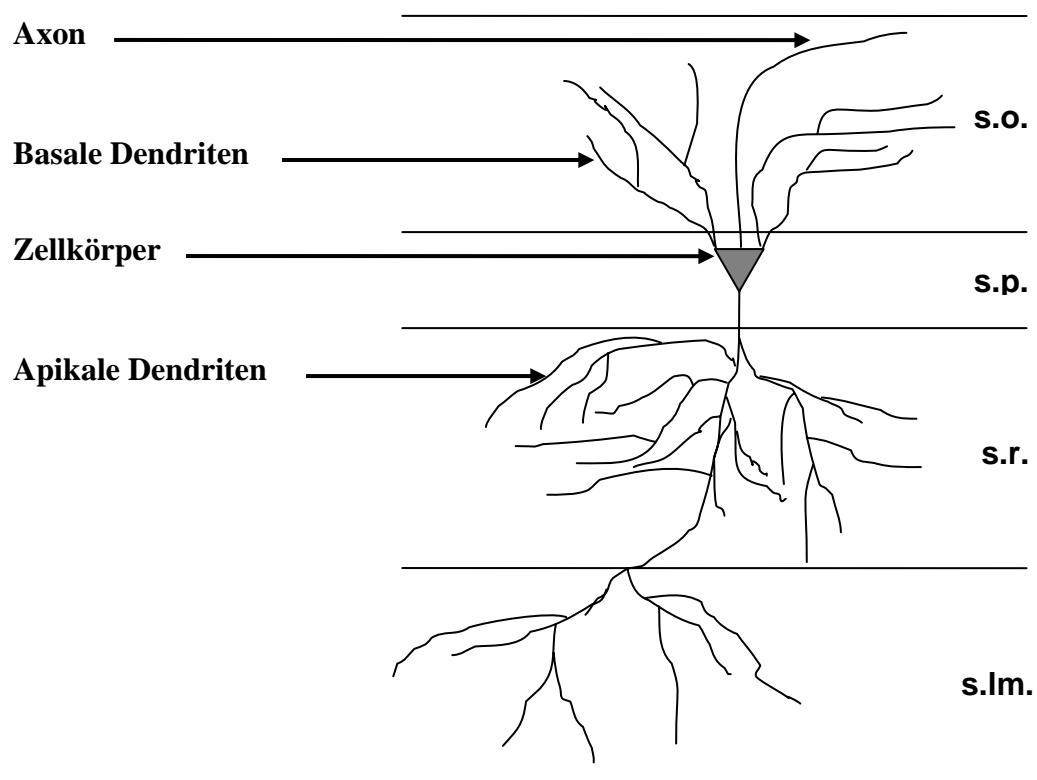


Abb.3. Schematische Darstellung einer CA1-Pyramidenzelle. (Abkürzungen: s.o. Stratum oriens; s.p. Stratum pyramidale; s.r. Stratum radiatum; s.lm. Stratum lacunosum moleculare.)

Eine Aktivierung der CA1 Region und damit deren Pyramidenzellen kann experimentell über den Eingang der Schaffer-Kollateralen von der ipsilateralen Seite, meist über elektrische Stimulation der CA3 (siehe zum Beispiel: Manahan-Vaughan, 1997) oder über die kommissuralen Fasern von der kontralateralen Seite, meist über Stimulation der CA3 oder CA1 (Bliss et al., 1983; Diamond et al., 1988; Leung et al., 1992; Hassan et al., 2006; Scherf et al., 2010) sowie über die Verbindung der Axone vom entorhinalen Cortex direkt zur CA1 erfolgen (Ramon y Cajal, 1968; Steward und Scoville, 1976; Witter et al., 1989; Empson und Heinemann, 1995).

Dabei kommt es zum Beispiel bei der Aktivierung der CA3 Neurone der ipsilateralen Seite zur Erhöhung der glutamatergen Neurotransmitterfreisetzung in den Nervenendigungen der Schaffer-Kollateralen oder bei Aktivierung der Neurone der cCA3 zur Erhöhung der glutamatergen Neurotransmitterfreisetzung in den Nervenendigungen der kommissuralen Fasern. Dadurch kommt es zur Aktivierung ionotroper und metabotroper Glutamatrezeptoren (mGluR). Die ionotropen Glutamatrezeptoren werden nach dem Ligand, der sie aktiviert in Gruppen eingeteilt. Zum einen gibt es die N-methyl-D-aspartat-Rezeptoren (NMDA-Rezeptoren), welche von dem Aminosäureanalogon NMDA aktiviert werden. Die non-N-methyl-D-aspartat-Rezeptoren (non-NMDA-Rezeptoren) werden von α -amino-3-hydroxyl-5-methyl-4-isozaol-propionsäure (AMPA), Kainat oder Quisqualat aktiviert und vermitteln ein „schnelles“ EPSP (Karnup und Stelzer, 1999), wobei im Ruhemembranpotential die Anwesenheit von Mg^{2+} das Öffnen des NMDA-Rezeptorkanals verhindert und somit die Aktivität im Ruhemembranzustand im Wesentlichen von den non-NMDA-Rezeptoren abhängt. Erst mit zunehmender Depolarisation des Neurons wird Mg^{2+} aus dem NMDA-Rezeptorkanal entfernt und damit können Na^+ und K^+ die Kanalpore passieren. Die NMDA-Rezeptoren vermitteln „langsamere“ EPSPs und daher tragen sie eher zur späten Phase des EPSP bei. Diese NMDA-Rezeptoraktivierung ist für die Formen der synaptischen Langzeitplastizität verantwortlich (Tsien et al., 1996; Kullmann et al., 1996). Die mGluR sind sowohl an der prä-, als auch an der postsynaptischen Seite vorhanden, sind für die präsynaptische Neurotransmitterausschüttung verantwortlich und modifizieren die postsynaptischen Antworten (für reviews siehe zum Beispiel: Riedel und Reymann, 1996; Riedel et al., 1996; siehe auch zum Beispiel: Manahan-Vaughan, 1997; Manahan-Vaughan, 1998; Wilsch et al., 1998; Xiao et al., 2001).

Für den spezifischen Informationsfluss innerhalb des Nervensystems und damit ebenfalls im Hippokampus ist neben der exzitatorischen Informationsweitergabe auch die Regulation durch inhibitorische Schaltkreise notwendig. Im hippokampalen Areal ist, wie auch in den

übrigen Arealen des Gehirns und des Rückenmarks, die γ -Aminobuttersäure (GABA) der wichtigste inhibitorische Neurotransmitter. Dieser hemmende Informationsfluss, welcher über GABA-Ausschüttung induziert wird, erfolgt dabei über inhibitorische Interneurone in Form einer negativen Rückkopplung (Feedback-Hemmung) oder einer vorwärtsgerichteten Hemmung (Feedforward-Hemmung). Dabei spielen die GABA_A- und GABA_B-Rezeptoren eine entscheidende Rolle. Durch diese GABA Freisetzung werden 2 Arten inhibitorischer Antworten unterschieden, ein schnelles inhibitorisches postsynaptisches Potential (IPSP), welches durch die GABA_A-Rezeptoren und ein langsames IPSP, welches durch die GABA_B-Rezeptoren vermittelt wird.

1.3. Feldpotentiale

Die Messung der neuronalen Aktivität kann sowohl extrazellulär, als auch intrazellulär erfolgen. Bei der Betrachtung der Feldpotentiale handelt es sich um eine Möglichkeit der extrazellulären Ableitung. Im Folgenden wird die Bildung von Feldpotentialen anhand des Beispiels der hippocampalen CA1 dargelegt, wobei in dieser hier vorgelegten Arbeit zwei Haupttypen von Feldpotentialen untersucht wurden, das fEPSP (Abb. 4A) und der PS (Abb. 4B). Dabei handelt es sich, bei diesem Beispiel um monosynaptisch evozierte Feldpotentiale, welche bei Reizung definierter monosynaptischer Bahnen an Neuronen oder Neuronenpopulationen erzeugt werden.

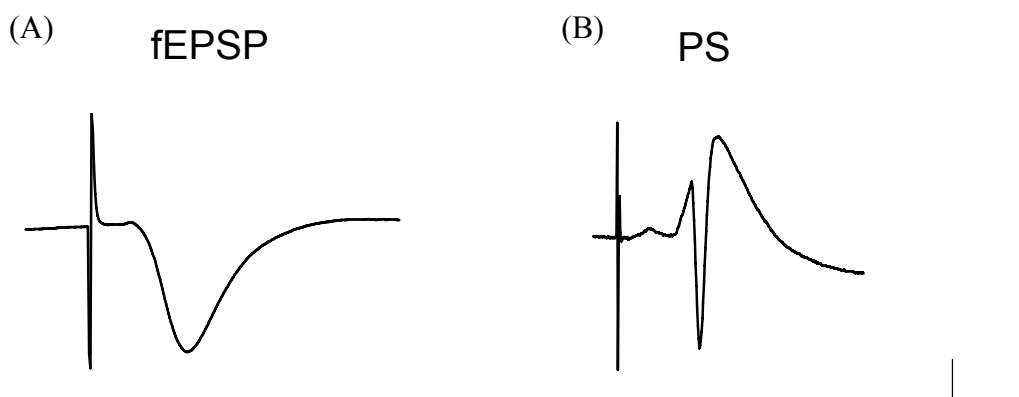


Abb. 4. Darstellung von Feldpotentialen der hippocampalen CA1 (A) fEPSP im Stratum radiatum und (B) PS im Stratum pyramidale. Kalibrierung: 2 mV/10 ms.

Durch die glutamaterge Aktivierung der CA1 Neurone über den Schaffer-Kollateralen oder kommissuralen Eingang kommt es zu einer Potentialänderung an der postsynaptischen Membran, welche durch das Öffnen von Kationenkanälen und dem damit stattfindenden Einstrom von Na^+ in das Zellinnere hervorgerufen wird. Das Zelläußere ist dadurch im Vergleich zum Zellinneren negativ geladen. Die sich extrazellulär ausbildenden Feldlinien, die am Beispiel der CA1 Region im Stratum radiatum im Bereich der apikalen Dendriten eine negative Polarität in Form einer Stromsenke („sink“) aufweisen, können als fEPSP registriert werden. Das Potential, welches im Bereich der Zellkörper extrazellulär über die Feldlinien registriert werden kann, ist durch eine positive Polarität gekennzeichnet. Dieser passive zellauswärts gerichtete Ausgleichstrom wird als „source“ bezeichnet (Bliss and Gardner-Medwin, 1971; Bliss und Richards, 1971). Wenn eine Stimulation stark genug ist, um die Entladungsschwelle der Neurone zu übersteigen, dass heißt, dass es durch die erhöhte Leitfähigkeit für Na^+ zum Einstrom von Na^+ -Ionen in das Zellsoma und damit zur Depolarisation der Membran kommt, wird das synaptisch generierte fEPSP durch einen PS, welcher die Summation synchron hervorgerufener Aktionspotentiale und damit die aktive Entladung der Neurone darstellt, überlagert. Dieser PS weist zum fEPSP eine inverse Polarität auf, da der Stromfluss im Bereich des Zellkörpers entgegengesetzt erfolgt „source“ (positiv und „sink“ (negativ) im Bereich der Dendritenschicht). Dies verdeutlicht den Dipolcharakter der sich dabei ausbildenden Feldlinien (Abb. 5).

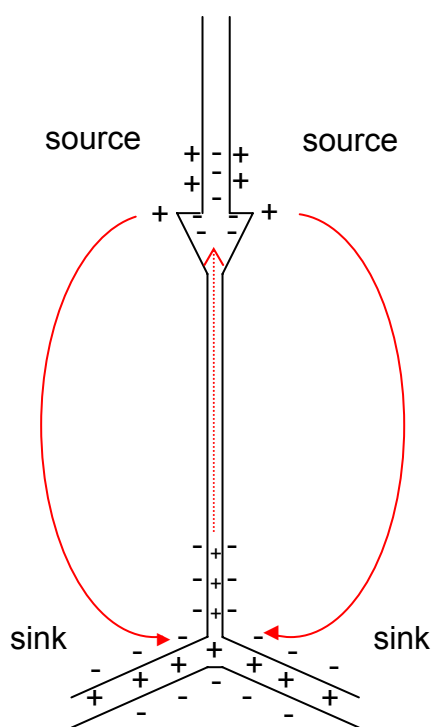


Abb. 5. Darstellung des Feldlinienverlaufs. Es ist der schematische Aufbau eines Neurons gezeigt, wobei dies den entgegengesetzten Verlauf der intra- und extrazellulären Polarität und im Besonderen den Verlauf der extrazellulären Feldlinien verdeutlicht. Nähere Angaben sind, dem obigen Text zu entnehmen.

Die Registrierung von Feldpotentialen, zum Beispiel innerhalb eines hippocampalen Areals, beruht auf der extrazellulären Messung der Potentialdifferenz zwischen zwei Elektroden. Eine der beiden Elektroden befindet sich dabei in dem Gewebe, zum Beispiel in der hippocampalen CA1 Region, wo die Registrierung der neuronalen Aktivität von Interesse ist und die andere Elektrode befindet sich außerhalb dieser Region und dient damit als Referenzelektrode. Für die Messung der elektrischen Spannung sind demzufolge immer zwei Punkte, in diesem Fall zwei Elektroden, notwendig. Die Bezugselektrode (Referenzelektrode) stellt dabei die Elektrode mit bekanntem Potential, elektrochemischen Zustand dar, wobei die Spannung dieser Referenzelektrode mit 0 festgesetzt wird. Während der Aktivität des neuronalen Gewebes, zum Beispiel der Neurone in der hippocampalen CA1 Region, erfolgt die Erzeugung einer Potentialdifferenz, welche durch den Stromfluss zwischen Abschnitten einer Zelle durch Ionenbewegungen und demzufolge durch den externen Widerstand hervorgerufen wird. Somit kann die Änderung des Potentials gegen die Zeit registriert werden. Da die extrazellulär festgestellte Potentialdifferenz bei Betrachtung eines Neurons sehr gering ist, erfolgt bei der Feldpotentialbestimmung eine Summation der Potentialänderungen mehrerer Neurone. Dabei erlaubt die spezielle Schichtstruktur des Hippokampus mit seiner großen Anzahl dicht gepackter Neurone in derselben Orientierung die Registrierung relativ großer neuronaler Antworten und somit die Aufzeichnung summierter, gut messbarer Potentialdifferenzen durch die simultane Aktivierung mehrerer Neurone.

1.4. Hippokampale synaptische Plastizität – LTP und LTD

Bevor der Psychologe Donald Hebb seine bedeutenden Thesen 1949 postulierte, welche die grundlegenden Überlegungen zum Verständnis der Gedächtnisbildung über die Verstärkung der Kontakte zwischen den Neuronen bilden, schlug bereits Ramon y Cajal vor, dass die Kontaktstellen zwischen den Neuronen plastische Strukturen darstellen, welche abhängig von Art und Stärke ihrer Aktivierung eine variable Effizienz ihrer Reizweiterleitung aufzeigen (Ramon y Cahal, 1896: in Fuster, 1999).

Donald Hebb postulierte 1949 Folgendes:

„When an axon of cell A is near enough to excite cell B and repeatedly or persistently takes part in firing it, some growth process or metabolic change takes place in one or both cells such that A's efficiency, as one of the cells firing B, is increased." (Hebb, 1949, S.62)

“...any two cells or systems of cells that are repeatedly active at the same time will tend to become “associated”, so that activity in one facilitates activity in the other... what I am proposing is a possible basis of association of two afferent fibres of the same order-in principle, a sensory-sensory association” (Hebb, 1949, S.70)

Diese ersten Postulate, im weitestgehenden Bezug auf die synaptische Übertragung, stimmen im Wesentlichen mit den später festgestellten Prozessen der LTP überein. Als erstes beschrieben 1973 Bliss und Lomo das Phänomen der LTP (Bliss und Lomo, 1973). Diese *in vivo* Arbeit an anästhesierten Kaninchen zeigte, dass eine kurzzeitige, hochfrequente Stimulation (Tetanisierung) des Tractus perforans zu einer lang anhaltenden Potenzierung der synaptischen Transmission führt, wobei dies durch den Vergleich der Stärke von evozierten Feldpotentialen vor und nach der Tetanisierung an den Körnerzellen des DG festgestellt wurde. Diese erhöhte Effizienz kann bei gesunden Tieren einige Tage oder sogar Wochen anhalten. In der Folgezeit wurden durch eine Vielzahl von Untersuchungen die lang anhaltende Erhöhung der synaptischen Effizienz im DG eines Tieres durch kurzzeitige hochfrequente Stimulation des Tractus perforans bestätigt (Abraham, 2003; Abraham et al., 1995; Abraham et al., 2006; Abraham und Williams, 2008; Bekenstein und Lothman, 1991; Lynch et al., 1990; Manahan-Vaughan et al., 2003). Die LTP wurde dabei zum beststudierten Modell für zelluläre Prozesse, welche dem Lernen und der Gedächtnisbildung zu Grunde liegen. Neben den Hauptuntersuchungen der LTP im Hippokampus zur Charakterisierung von Gedächtnisprozessen, ist das Phänomen der LTP auch in andern Hirnstrukturen, wie in der Amygdala (Yaniv et al., 2001), dem Septum (Racine et al., 1983) oder dem Neocortex (Heynen und Bear, 2001) nachgewiesen worden. Außer bei Säugetieren wurden auch Vorgänge, die der Charakterisierung der LTP entsprechen, bei weiteren Spezies, wie zum Beispiel bei *Aplysia* (Walters und Byrne, 1985) nachgewiesen. Dabei erfolgten Untersuchungen an sensorischen Neuronen durch intra- und extrazelluläre Stimulation, wobei

zum Beispiel festgestellt wurde, dass es durch Paarung hochfrequenter monosynaptischer Aktivierung mit heterosynaptischer Modulation zu einer Verstärkung des monosynaptischen EPSPs kam. Neben den Untersuchungen an *Aplysia* wurden ebenfalls *in vitro* Untersuchungen im Hinblick auf LTP zum Beispiel am Goldfisch durchgeführt (Lewis und Teyler, 1986), wobei durch Stimulation des Sehnervs bei den Frequenzen von 1 und 5 Hz die Induktion einer LTP bei den Feldpotentialen im optischen Tectum registriert werden konnte.

Zur Untersuchung von unterschiedlichen Formen der synaptischen Plastizität in der CA1 Region des Hippokampus im intakten Säugetierorganismus erfolgt in der Regel die Aufzeichnung der evozierten Potentiale im Stratum radiatum in der CA1, der Registrierung des fEPSPs, wobei die Stimulation über die ipsilaterale CA3 zum Beispiel bei *in vivo* Arbeiten an frei beweglichen Ratten (siehe zum Beispiel: Manahan-Vaughan, 1997) oder über die cCA1 / cCA3 zur Aktivierung des kommissuralen Eingangs zur ipsilateralen CA1 bei *in vivo* Studien (Bliss et al., 1983; Diamond et al., 1988; Leung et al., 1992; Hassan et al., 2006; Scherf et al., 2010) erfolgte. Das registrierte fEPSP im Stratum radiatum der CA1 Region ist durch eine typische Form charakterisiert, welche abhängig von der Position der Stimulationselektrode ist. So kann zum Beispiel ipsi- oder kontralateral die Stimulation des direkt verbindenden oder des kommissuralen Weges erfolgen. Diese Art der Präparation mit den unterschiedlichen Stimulationsmöglichkeiten fand in vielen Studien zur Erforschung der synaptischen Plastizität, wie LTP und LTD ihre Anwendung (Bliss et al., 1983; Diamond et al., 1988; Doralp und Leung, 2008; Kaibara und Leung, 1993; Kemp und Manahan-Vaughan, 2004; Kemp und Manahan-Vaughan, 2008; Leung et al., 1992; Manahan-Vaughan, 1997; Staubli und Lynch, 1987).

Neben der LTP gibt es noch weitere Formen der synaptischen Plastizität, wie die bereits erwähnte LTD. Das Phänomen der LTD wurde von Dunwiddie und Lynch bei auftretenden Prozessen an den Synapsen zwischen den Schaffer-Kollateralen und den CA1-Pyramidenzellen im Hippokampus entdeckt (Dunwiddie und Lynch, 1978). Die LTD ist dabei definiert durch eine andauernde Erniedrigung der synaptischen Effizienz nach einer relativ kurzen Episode einer niedrigfrequenten Stimulation (LFS; engl. low-frequency stimulation), wobei die LTD im Hippokampus von Vertebraten untersucht wurde (Bear und Malenka, 1994; Braunewell und Manahan-Vaughan, 2001; Sajikumar et al., 2007; Sajikumar und Frey, 2003).

Eine hippokampale LTD ist vor allem in der CA1 Region *in vitro* gut und zuverlässig induzierbar. So konnte zum Beispiel in der Arbeit von Sajikumar und Frey gezeigt werden, dass durch die Applikation eines spezifischen Stimulationsprotokolls, sowohl eine early-LTD

durch eine einzelnes LFS-Protokoll (900 Impulse bei einer Frequenz von 1 Hz), als auch eine proteinsyntheseabhängige late-LTD durch ein wiederholtes LFS-Protokoll (900 kurze Signalfolgen, bestehend jeweils aus 3 Impulsen bei einer Frequenz von 20 Hz) im hippocampalen CA1 Schnitt induziert werden kann (Sajikumar und Frey, 2003). Weitere Studien zeigten auch eine gute LTD Induzierbarkeit bei in vivo Versuchen. So konnte zum Beispiel in einer Arbeit von Ursula Staubli und Joey Scafidi dargestellt werden, dass es möglich ist, sowohl eine LTD über einen Schaffer-Kollateralen Eingang, als auch über kommissurale Projektionen zur CA1 bei sich frei beweglichen Ratten hervorzurufen (Staubli und Scafidi, 1997). Eine Induzierbarkeit einer LTD in der hippocampalen CA1 Region über den Schaffer-Kollateralen Eingang bei freibeweglichen Ratten konnte ebenfalls in Arbeiten von Manahan-Vaughan gezeigt werden (siehe zum Beispiel: Manahan-Vaughan, 1997; Manahan-Vaughan, 2000). Weiterhin wurde bei Verhaltensstudien, zum Beispiel anhand einer Arbeit von Manahan-Vaughan und Braunewell verdeutlicht, dass die Induktion einer sogenannten Kurzzeitdepression (STD) erreicht wird, wenn bei den verwendeten Ratten (Wistar und Hooded Lister) eine Neuigkeitserkundung mit der Präsentation von Teststimulationen gekoppelt wird (Manahan-Vaughan und Braunewell, 1999). Es war dabei keine Präsentation einer LFS notwendig, jedoch die Gabe von Teststimulationen.

1.5. Hippokampale LTP und LTD

1.5.1. Zeitliche Phaseneinteilung von LTP und LTD

Die Stärke der Induktion und die Dauer einer LTP/LTD werden durch die Aktivierung verschiedener molekularer Prozesse bestimmt. Diese Aktivierung ist experimentell für die LTP von verschiedenen Tetanisierungsprotokollen und für die LTD von dem Aufbau des LFS Protokolls abhängig, wobei neben dem speziellen Muster der Stimulationsprotokolle, auch dessen Frequenz und die Anzahl der Stimuli sowie die Stimulusintensität eine wesentliche Rolle spielen. So konnte zum Beispiel bei in vitro Untersuchungen von Sajikumar und Frey am hippocampalen CA1 Schnitt gezeigt werden, dass eine early-LTP durch ein schwaches Tetanisierungsprotokoll mit 21 Impulsen bei einer Frequenz von 100 Hz im Stratum radiatum induziert werden konnte, wohingegen die Tetanisierung durch ein stärkeres Stimulationsprotokoll von 3 Stimulationsfolgen mit 100 Impulsen bei einer Frequenz von

100 Hz zur Induktion einer late-LTP führte (Sajikumar und Frey, 2004; Sajikumar et al., 2007). Bei in vitro Untersuchungen zur Induktion einer LTD in hippocampalen CA1 Schnitten konnte ebenfalls gezeigt werden, dass die Induktion einer early-LTD oder late-LTD vom Stimulationsprotokoll abhängig war (Sajikumar und Frey, 2003; Sajikumar und Frey, 2004). Bei in vivo Untersuchungen an Ratten konnte ebenfalls die Abhängigkeit der Induktion einer LTP vom Stimulationsprotokoll nachgewiesen werden. So ist es zum Beispiel möglich eine early-LTP in der hippocampalen CA1 Region für fEPSP und PS durch Applikation, zum Beispiel in der cCA3, eines so genannten Primed burst Stimulationsprotokoll mit einem einzelnen Initialimpuls gefolgt von einer Reizfolge von 10 Impulsen präsentiert 190 ms später bei einer Frequenz von 100 Hz zu induzieren (Leung et al., 1992; Scherf et al., 2010). Die Applikation eines stärkeren Stimulationsprotokolls in der cCA1 oder cCA3 mit 2 x 50 Impulsen bei einer Frequenz von 100 Hz, bei frei beweglichen Ratten, führte zur Induktion einer late-LTP für das fEPSP in der ipsilateralen CA1, wobei deren genauer Zeitverlauf von der Simulationsintensität abhängig war (Hassan et al., 2006). Zusammenfassend kann gesagt werden, dass in der CA1 Region des Hippokampus bei Säugetieren verschiedene Formen von LTP und LTD induziert werden können. Dies kann sowohl über die CA3 Aktivierung des ipsilateralen Hippokampus (Manahan-Vaughan, 1997), als auch über die CA1 oder die CA3 Aktivierung des kontralateralen Hippokampus (Bliss et al., 1983; Diamond et al., 1988; Leung et al., 1992; Hassan et al., 2006; Scherf et al., 2010) erfolgen.

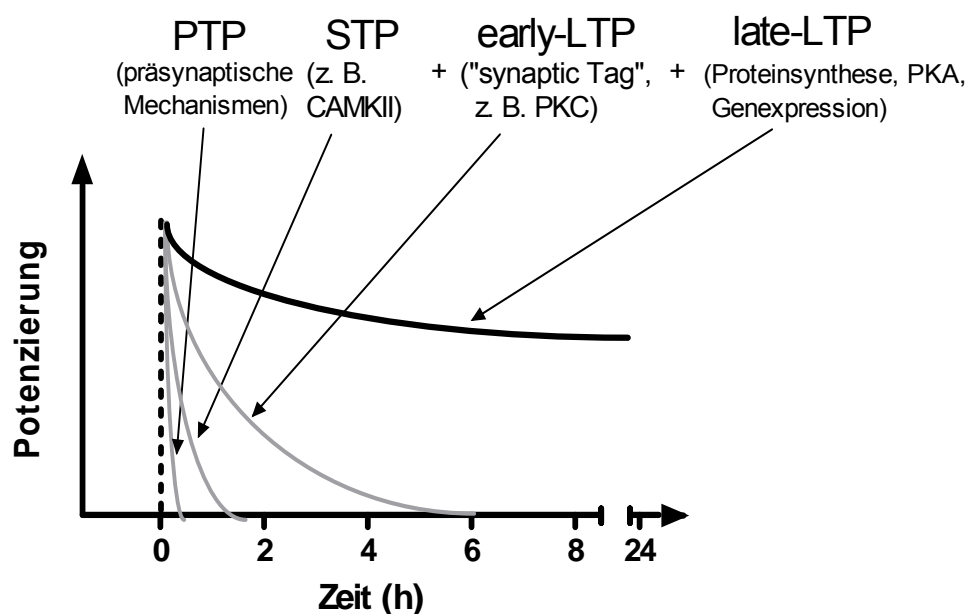


Abb.6. Schematische Darstellung der Phasen der LTP. PTP + STP + early-LTP + late-LTP. Die genaueren Erklärungen und Abkürzungen sind dem Text zu entnehmen.

Generell unterscheidet man hinsichtlich der Dauer der hippokampalen LTP die posttetanische Potenzierung (PTP; engl. posttetanic potentiation), die Kurzzeitpotenzierung (STP; engl. short-term potentiation), die early-LTP (frühe LTP) und die late-LTP (späte LTP) (Abb. 6). Die so genannte PTP, die initiale Phase der LTP, mit einer Zeitdauer von Sekunden bis zu Minuten ist gekennzeichnet durch präsynaptische Mechanismen, einer kurzzeitigen und vorübergehenden Erhöhung der Transmitterfreisetzung. Dieser Form der Potenzierung (PTP) folgt die STP, welche durch eine Aufrechterhaltung der Potenzierung bis zu 1-2 Stunden charakterisiert ist. Dabei kommt es zu einer initialen NMDAR- und auch zum Teil mGluR-Aktivierung, welche bereits bei der Tetanisierung einsetzt, und dem damit verbundenen Ca^{2+} Einstrom. Postsynaptische Abläufe, wie die Aktivierung von Rezeptoren durch lokale Proteinkinasen, wie CaMKII und der Tyrosinkinase, kaum jedoch von Proteinkinase A (PKA) oder Proteinkinase C (PKC) sind zuständig für die Verstärkung dieser Phase (Huang, 1998; Dobrunz et al., 1997). Der STP schließen sich 2 weitere Phasen der Potenzierung an, die LTP-Phasen (Matthies et al., 1990b; Reymann et al., 1988b; Reymann und Frey, 2007), welche die STP mit einschließen. Dies sind zum einen die early-LTP, welche die transiente Form der LTP darstellt und eine maximale Dauer von 3-4 h in vitro sowie in vivo von maximal 3-6 h zeigt und zum anderen die late-LTP, welche eine Verstärkung der synaptischen Aktivität in vitro für 8-10 h und in vivo bis zu Tagen oder sogar Monaten aufweist (Krug et al., 1984; Krug et al., 1989; Frey et al., 1988; Otani und Abraham, 1989; Matthies et al., 1990b). Die early-LTP ist neben dem bereits erwähnten transienten Zeitverlauf weiterhin charakterisiert durch den Ca^{2+} Einstrom, der Aktivierung der CaMKII, der Tyrosinkinase und der Proteinkinase C sowie der Unabhängigkeit von Proteinsynthese (Malenka und Nicoll, 1999; Soderling und Derkach, 2000). Die late-LTP unterscheidet sich von der early-LTP, neben dem charakteristischen Zeitverlauf, weiterhin durch ihre Abhängigkeit von Proteinsynthese (engl. plasticity-related proteins, PRPs), wobei diese bereits in der frühen Phase der LTP einsetzt, sowie von der PKA-Aktivität (Krug et al., 1984; Frey et al., 1988; Frey et al., 1989; Frey et al., 1991b; Frey et al., 1993a; Otani et al., 1989; Matthies et al., 1990b; Matthies und Reymann, 1993; Frey und Morris, 1997; Abel et al., 1997).

Generell wird zu Beginn der frühen Phase einer LTP nach der Theorie des „Synaptic Tagging“ bei der synaptischen Aktivierung ein „Synaptic Tag“ gesetzt, wobei zum Beispiel bei in vivo Untersuchungen im DG an frei beweglichen Ratten eine Halbwertszeit von etwa 30 min postuliert wurde (Frey et al., 2001). Die Stimulation des Tractus perforans erfolgte dabei mit einem schwachen Tetanus zur Induktion einer early-LTP im DG. Die zusätzliche heterosynaptische Aktivierung erfolgte durch die hochfrequente Stimulation der basolateralen

Amygdala innerhalb eines Zeitfensters von 30 min nach Induktion der LTP. Bei einer solchen heterosynaptischen Aktivierung handelt es sich um eine zusätzliche Rezeptoraktivierung mittels modulatorischer Neurotransmitter an den bereits aktivierten Neuronen, welche für die Aktivierung der späten Phase einer LTP notwendig ist. In diesem bereits beschriebenen Zeitraum muss es zur Synthese von PRPs gekommen sein, damit diese mit den „Tags“ an den aktivierten Synapsen interagieren können und somit eine späte Phase der LTP (late-LTP) induziert wird. Diese beginnt allmählich während der ersten 2-3 h Stunden und dauert bei hippokampalen Schnitten *in vitro* 6-10 h, sowie bei *in vivo* Untersuchungen für Tage bis sogar Monate an (Krug et al., 1984; Krug et al., 1989; Frey et al., 1988; Reymann et al., 1985; Otani und Abraham, 1989; Frey et al., 1995; Kandel, 2001). Im Abschnitt 1.7. wird genauer auf eine solche heterosynaptische Aktivierung am Beispiel der CA1 und der dopaminergen Aktivierung der D1/D5-Rezeptoren eingegangen.

Es konnte ebenfalls in einigen Studien gezeigt werden, dass die Applikation von Translationshemmern während oder kurz nach der LTP Induktion die Ausbildung einer late-LTP verhindert und es lediglich zur Ausbildung einer early-LTP kommt (Krug et al., 1984; Stanton und Sarvey, 1984; Deadwyler et al., 1987; Abraham und Kairiss, 1988; Frey et al., 1988; Frey et al., 1996; Mochida et al., 2001).

Neben den Untersuchungen der LTP erfolgten in den letzten Jahrzehnten nach ihrer ersten Beschreibung von Lynch et al. ebenfalls Untersuchungen zur LTD (Lynch et al., 1977). Nach aktuellen Erkenntnissen besitzt der zeitliche Verlauf der LTD ebenfalls einen phasenhaften Charakter und deren molekulare Eigenschaften sind ähnlich zu denen der LTP (Manahan-Vaughan et al., 2000; Sajikumar und Frey, 2003; Sajikumar und Frey, 2004; Navakkode et al., 2005; Sajikumar et al., 2007). Auch zur Induktion der hier betrachteten NMDA-Rezeptorabhängigen LTD ist ein postsynaptischer Ca^{2+} Einstrom und die NMDA-Rezeptoraktivierung notwendig (Mulkey und Malenka, 1992). Diesen Studien zu folge ist der Zeitverlauf der intrazellulären Ca^{2+} Konzentrationserhöhung und deren intrazelluläre Konzentration selbst verantwortlich für die Auslösung einer LTP oder einer LTD. Weiterhin zeigte sich, dass ein geringer Einstrom von Ca^{2+} und demzufolge eine geringe intrazelluläre Ca^{2+} Konzentration mit selektiver Aktivierung von Proteinphosphatasen zur Induktion einer LTD führt (Lisman, 1989).

Bei der LTD konnte ebenfalls gezeigt werden, dass deren unterschiedliche Formen vom Induktionsprotokoll abhängig sind. Wie schon beschrieben kann eine LTD zum Beispiel durch Applikation von LFS Protokollen induziert werden. Bei *in vitro* Arbeiten wurde gezeigt, dass eine early-LTD mit einem Stimulationsprotokoll von 900 Impulsen bei einer

Frequenz von 1 Hz und eine late-LTD mit einer Stimulation von 900 kurzen Signalfolgen, bestehend aus jeweils 3 Impulsen bei einer Frequenz von 20 Hz mit einer sich daraus ergebenden Gesamtanzahl von 2700 Impulsen in der hippocampalen CA1 Region sehr effektiv induziert werden konnte (Sajikumar und Frey, 2003; Sajikumar und Frey, 2004; Dudek und Bear, 1992; Staubli und Ji, 1996). In vivo Untersuchungen zur LTD Induktion in der CA1 Region, nach Studien von Ursula Staubli und Joey Scafidi zeigten, dass eine Stimulation mit 900 Impulsen bei einer Frequenz von 1 Hz nicht zu einer Induktion einer LTD führte. Auch eine Erhöhung der Frequenz auf 5 Hz und die Erhöhung der Anzahl der Stimuli auf 3000 könnte keine LTD induzieren, erst die Stimulation mit 3000 Impulsen bei einer Frequenz von 10 Hz führte zur Ausbildung einer early-LTD (Staubli und Scafidi, 1997).

1.5.2. Prozesse der hippocampalen LTP /LTD und deren molekulare Mechanismen

Die Prozesse von LTP und LTD sind momentan die einzigen zellulär identifizierten Korrelate, welche der Gedächtnisbildung zu Grunde liegen. Die Vorgänge beim Lernen und der Gedächtnisbildung sind weit reichende und komplexe Prozesse, welche nicht nur auf der lokalen Betrachtung synaptischer Vorgänge beruhen. Bei der am besten untersuchten Form der LTP, welche auch im tierischen Organismus induziert werden kann, handelt es sich um eine assoziative, NMDA-Rezeptorabhängige LTP. Im Folgenden wird speziell auf diese Form eingegangen.

Bei den bereits erwähnten NMDA-Rezeptoren handelt es sich um einen Untertyp ionotroper spannungsabhängiger Glutamaterezeptoren. Der Aufbau von NMDA-Rezeptoren beruht auf dem Zusammenspiel von den NR1 und NR2 Untereinheiten (Gomperts et al., 2000; Racca et al., 2000; Robert et al., 2000), wobei deren Expression für die Funktionalität der NMDA-Rezeptorkanäle notwendig ist. Dabei erfolgt der korrekte Aufbau der glutamatergen Bindungsdomäne über die Verbindung der beiden erwähnten Untereinheiten NR1 und NR2 (Yamakura und Shimoji, 1999), wobei die NR1 Untereinheit eine Bindungsstelle für Glycin aufweist, welches für die volle Funktionalität (Öffnen) des NMDA-Rezeptorkanals notwendig ist. Die für die Auslösung einer LTP notwendige Depolarisierung wird dabei durch eine summierte Erregung von exzitatorischen Synapsen über die glutamatinduzierte Aktivierung der AMPA- und Kainat-Rezeptoren erreicht. Durch die Lösung der Mg^{2+} Blockade des NMDAR gekoppelten Kanals strömt Ca^{2+} aus dem Extrazellularraum in die Zelle ein, welches

die LTP relevanten, intrazellulären, enzymatischen Abläufe auslöst. Ca^{2+} aktiviert seinerseits eine Reihe von Ca^{2+} sensitiven second-messenger Prozessen. So kann neben dieser Erhöhung der intrazellulären Ca^{2+} Konzentration durch den Einstrom über die geöffneten NMDAR Kanäle, die intrazelluläre Konzentration auch über spannungsabhängige Ca^{2+} -Kanäle und dem intrazellulären Ca^{2+} -Speicher erhöht werden. Bei Betrachtung der Proteinkinasen im Hinblick auf ihre Beteiligung an den Phasen einer LTP zeigte sich, dass nicht nur die NMDA-Rezeptoraktivierung für die Induktion einer LTP, sondern auch die Aktivierung von calmodulin-abhängigen Enzymen, sowohl für eine early-, als auch eine late-LTP notwendig sind. So konnte zum Beispiel gezeigt werden, dass eine alleinige Aktivierung der NMDA-Rezeptoren nur zur Bildung einer dekrementalen LTP führte (Collingridge, 1985; Kauer et al., 1988). Auch die Hemmung der PKC führte zu einem Verlust der LTP in hippokampalen CA1 Schnitten (in vitro) bereits in der frühen Phase nach 1-2 h (Reymann et al., 1988a; Reymann et al., 1988b). Weiterhin konnte anhand intrazellulärer Untersuchungen die Notwendigkeit der postsynaptischen PKC und von CaMKII für die Ausbildung der frühen Phase der LTP nachgewiesen werden (Malinow et al., 1989). Für die Induktion und Ausbildung einer early-LTP sind demzufolge eine NMDA-Rezeptoraktivierung, die Phosphorylierung von PKC und CaMK Substrate notwendig.

Die bereits erwähnte LTD unterliegt ähnlichen Mechanismen, wie die LTP. Für deren Induktion sind ebenfalls die Aktivierung der NMDA-Rezeptoren und der postsynaptische Ca^{2+} Einstrom notwendig. So konnte bei Untersuchungen von Mulkey und Malenka gezeigt werden, dass bei einer Injektion von BAPTA (Calcium Chelator) oder einer Unterdrückung der NMDA Ströme bei intrazellulärer Hyperpolarisation die Induktion einer LTD verhindert wird (Mulkey und Malenka, 1992). Dabei wurde festgestellt, dass die NMDA-Rezeptoraktivierung sowie der Ca^{2+} Einstrom notwendig für die LTP/LTD Induktion sind. Die intrazelluläre Ca^{2+} Konzentration bestimmt, ob eine LTP oder LTD induziert wird. So führt ein geringer Ca^{2+} Einstrom zu einer Aktivierung bestimmter Proteinphosphatasen, wobei deren Aktivierung zur Induktion einer LTD führt (Lisman, 1989).

An der Aktivierung der späten Phase der LTP sind bestimmte Proteinkinasen und vor allem die Proteinsynthese sowie die dabei gebildeten PRPs notwendig. Zuerst wird auf die Beteiligung der Proteinsynthese bei der späten Phase der LTP und die Rolle der Transkription eingegangen. Als erstes wurde die Notwendigkeit der Proteinsynthese zur Ausbildung einer late-LTP durch Arbeiten von Manfred Krug und Kollegen 1984 beschrieben (Krug et al., 1984). Dabei konnte die Verstärkung der hippokampalen transienten LTP zu einer late-LTP in vivo am DG durch die Applikation eines reversiblen Translationshemmers (Anisomycin)

verhindert werden. Diese Rolle der Proteinsynthese wurde in den darauf folgenden Jahren von vielen Laboren ebenfalls festgestellt und untersucht (zum Beispiel: Frey et al., 1988; Otani und Abraham, 1989; Fazeli et al., 1993; Osten et al., 1996; Nayak et al., 1998). Auch in vitro Untersuchungen zum Beispiel von Frey et al. bestätigten, dass die Aktivierung der späten Phase der LTP von Proteinsynthese abhängig war (zum Beispiel: Frey et al., 1989). Dabei wurde die Zellkörperschicht von den apikalen Dendriten im hippocampalen CA1 Schnitt abgetrennt, da der Zellkörper den Hauptort der Proteinsynthese darstellt. Es zeigte sich eine normale Ausbildung der early-LTP, jedoch kam es nicht zur Ausbildung einer late-LTP. Dies deckt sich mit den Ergebnissen nach Applikation des reversiblen Proteinsynthesehemmers Anisomycin und verdeutlicht, dass die Mechanismen der Proteinsynthese und damit die Zellkörperbeteiligung notwendig zur Ausbildung einer NMDA-Rezeptorabhängigen late-LTP in der hippocampalen CA1 Region sind.

Im Hinblick auf die Beteiligung der Transkription bei der Verstärkung der LTP wurde festgestellt, dass die Synthese von Boten-Ribonukleinsäure (engl. messenger ribonucleic acid, mRNA) an der Etablierung des Langzeitgedächtnisses bei Säugetieren beteiligt ist (Alkon et al., 1991; Matthies, 1974; Matthies et al., 1990a). Wobei Studien von Otani et al. keinen Einfluss des mRNA-Synthesehemmers Actinomycin D feststellen konnten (Otani und Abraham, 1989). Spätere in vitro Studien des Labors von Kandel an hippocampalen CA1 Schnitten mit verschiedenen Inhibitoren zeigten, dass die Induktion einer LTP, die normalerweise sowohl die frühe, als auch die späte Phase ausbildet, nach 1-3 h unterdrückt wurde, wenn die Transkription unmittelbar nach der Tetanisierung verhindert wird (Nguyen et al., 1994). Dabei konnten pharmakologische Nebeneffekte auf die Mechanismen der LTP Generierung jedoch nicht ausgeschlossen werden. Für das Verständnis der Beteiligung der mRNA-Synthese bei den Mechanismen der LTP, late-LTP, erfolgten eine Reihe weiterer Untersuchungen. So zeigten sowohl in vitro Studien in der hippocampalen CA1 Region, als auch in vivo Studien im DG der Ratte, dass die Applikation von Actinomycin D oder von 5,6-dichloro-1- β -D-ribofuranosyl benzimidazole (DRB) vor der Tetanisierung zu einer Beeinflussung des fEPSPs und des PS führte, wobei sich für das fEPSP, welches entscheidender für die synaptische Effizienz ist, nur ein verzögerter schwacher Effekt nach etwa 6-8 h zeigte (Frey et al., 1993b; Frey et al., 1996). Die Resultate konnten auch bei in vivo Studien in der hippocampalen CA1 Region bestätigt werden (Manahan-Vaughan et al., 2000). Diese Studien belegen, dass sowohl im normalen physiologisch intakten Säugetierorganismus, als auch bei in vitro Schnitten, eine LTP, bei normal funktionierender Proteinsynthese, zumindest für die ersten 8 h aufrechterhalten werden kann, wenn die mRNA

Synthese gehemmt ist (Sajikumar et al., 2005b). Daraus lässt sich ableiten, dass die Proteinsynthese abhängigen ersten 8 h durch vorheriges Vorhandensein von mRNA aufrecht erhalten werden, wohingegen spätere Abschnitte der LTP zusätzlich die Regulation von PRPs durch Genexpression benötigen. In Übereinstimmung mit diesen Studien zeigten Vicker et al., dass die Ausbildung einer late-LTP in hippocampalen CA1 Schnitten durch einen Translationshemmer nach etwa 1-2 h verhindert wurde, wohingegen die Hemmung der mRNA-Synthese die LTP erst nach etwa 4-6 h blockierte (Vickers et al., 2005). Dies legt den Schluss nahe, dass Genexpression notwendig für die Aufrechterhaltung von Plastizitätsevents, wie die vollständige Ausbildung einer late-LTP ist.

Eine wesentliche Rolle bei der Ausbildung einer late-LTP spielt die cAMP-abhängige PKA. Generell werden Proteinphosphorylierungen durch Proteinkinasen vermittelt. Es handelt sich dabei um einen entscheidenden regulatorischen Mechanismus in Neuronen, wie die Auslösung und Modulation von einer Vielzahl wichtiger zellulärer Prozesse, welche die neuronale Entwicklung, das Wachstum und Plastizitätsprozesse beinhalten (Walaas und Greengard, 1991). Eine große Anzahl von Neurotransmittern, Hormonen etc. benutzen das zyklische Adenosin-3', 5-monophosphat (cAMP) als einen intrazellulären „second messenger“ (Nguyen and Woo, 2003). Ein wesentliches Ziel des cAMP ist dabei die cAMP-abhängige PKA, welche intrazelluläre Signaltransduktion und Signaltransmission bei Invertebraten und Vertebraten übermittelt (Frey et al., 1993a; Nguyen und Kandel, 1996; Brandon et al., 1995). Die Aktivierung dieser cAMP-abhängigen PKA während der LTP Induktion ist notwendig für die Ausbildung einer late-LTP (Frey et al., 1993a; Huang und Kandel, 1994; Abel et al., 1997; Nguyen und Kandel, 1997; Nguyen und Woo, 2003). Letztendlich führt die gesteigerte Synthese von cAMP-Molekülen, die dadurch bedingte Aktivierung der PKA und die Phosphorylierung von Substratproteinen (Transkriptionsfaktoren) zur Synthese von PRPs und damit zur Interaktion dieser PRPs mit den gesetzten „Tags“ an den aktivierten Synapsen, demzufolge zur Bildung einer late-LTP. In den folgenden beiden Abschnitten wird genauer auf diese Vorgänge eingegangen. Des Weiteren konnte nach der Entdeckung eines Isozyms der PKC, Proteinkinase M-Zeta (PKM ζ) (Sacktor et al., 1993), auch dessen Beteiligung an der Verstärkung einer early-LTP in eine late-LTP nachgewiesen werden (Ling et al., 2002). Damit konnte ein weiteres Enzym, was in die späte Phase der LTP involviert ist festgestellt werden. In neueren Studien wurde aufgezeigt, dass PKM ζ spezifisch an der LTP Verstärkung und am LTP-Tagging beteiligt ist, jedoch nicht bei der LTD-Verstärkung und beim LTD-Tagging (Sajikumar et al., 2005b).

1.6. Synaptic-Tagging

Wie schon in den vorangegangenen Abschnitten erläutert, ist die Thematik des Lernens und der Gedächtnisbildung an viele komplexe Vorgänge gekoppelt. Dabei stellen die hippokampalen Prozesse von LTP und LTD wesentliche Bestandteile dar. Diese Prozesse sind mit der Erhöhung oder Erniedrigung der synaptischen Aktivität verbunden. Dabei sind Modulationen von transienten Formen der LTP im Bezug auf dessen längerfristige Verstärkung zu einer late-LTP mit Prozessen der Genexpression und Proteinsynthese verbunden. Diese Prozesse der Genexpression und Proteinsynthese finden im Zellkörper / Zellkern oder für die Proteinsynthese in den dendritischen Kompartimenten statt, in der Regel weit entfernt von denen, durch zum Beispiel elektrische Stimulationen, aktivierten Synapsen. Diesen dabei synthetisierten PRPs muss es jedoch möglich sein nur mit den aktivierten Synapsen zu interagieren. Prozesse, wie LTP und LTD sind durch eine Eingangsspezifität gekennzeichnet, so dass deren Ausbildung nur an den, durch zum Beispiel ein spezifisches Stimulationsprotokoll, aktivierten Synapsen nachweisbar ist. Eine mögliche Erklärung für diese Vorgänge bildet die Hypothese des „Synaptic Tagging“ (Frey und Morris, 1997; Frey und Morris, 1998a), wobei die Verstärkung und damit die Aktivierung der späten Phase einer LTP von 2 Faktoren abhängig sind. Zum einen wird nur an den aktivierten Synapsen während der Induktion einer LTP ein lokaler „synaptischer Tag“ gesetzt und zum anderen erfolgt die Synthese von PRPs, welche dann ausschließlich mit den an den aktivierten Synapsen gesetzten „Tags“ interagieren. Diese Hypothese beschreibt demzufolge die Vorgänge, welche zur spezifischen Aktivierung von Synapsen notwendig und für die proteinsyntheseabhängige späte Phase einer LTP verantwortlich sind sowie die spezifische Interaktion der „Tags“ mit den PRPs (Frey und Morris, 1997; Frey und Morris, 1998a; Frey und Morris, 1998b; Martin und Kosik, 2002). In dieser Studie zum „Synaptic Tagging“ wurde bei in vitro Schnitten in der hippokampalen CA1 Region über den einen Eingang (S1) eine proteinsyntheseabhängige late-LTP induziert ohne Applikation eines Proteinsyntheseblockers. Kurz bevor ein weiterer unabhängiger Eingang (S2) derselben Neuronenpopulation tetanisiert (3 Serien von 100 Impulsen bei einer Frequenz von 100 Hz) wurde, erfolgte die Applikation eines Proteinsyntheseblockers (in diesem Fall: Anisomycin). Normalerweise würde hier nur eine early-LTP induziert werden, da die Anwesenheit von Anisomycin die Proteinsynthese blockiert, aber diese induzierte LTP in S2 war über einen Zeitraum von 8 h stabil potenziert (Frey und Morris, 1997). Diese Etablierung einer late-LTP über den S2 Eingang suggerierte, dass die ausgelöste Proteinsynthese durch die Induktion einer late-LTP in S1 ebenfalls die

Induktion einer late-LTP in S2 erlaubt. Dies verdeutlicht, dass ein „Synaptic Tag“ bereits in der frühen Phase der LTP gesetzt wird und dieser „Tag“ der über den S2 Eingang gesetzt wurde, kann demzufolge mit den PRPs interagieren, welche durch die Aktivierung über den S1 Eingang derselben Neuronenpopulation synthetisiert wurden.

1.7. Heterosynaptische Aktivierung und neuromodulatorische Systeme

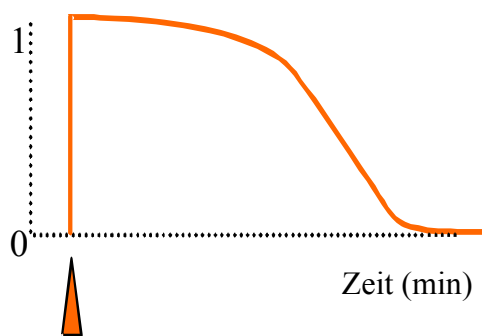
Im Verlauf der letzten Jahrzehnte und aktuell wurden/werden die hippokampalen, zellulären Hauptprozesse, die entscheidend für das Lernen und der Gedächtnisbildung sind, immer intensiver erforscht und in vielen Punkten besser aufgeklärt. Ein wichtiger Aspekt bei den Vorgängen der hippokampalen LTP ist nicht nur deren Induzierbarkeit, sondern sind vor allem die Prozesse und Bestandteile, die zu deren dauerhaften oder zumindest deutlich längerfristigen Aufrechterhaltung notwendig sind. Bei der Induktion einer NMDA-Rezeptorabhängigen LTP erfolgt mittels einer Serie von kurzen hochfrequenten Stimulationen eine Erhöhung der synaptischen Aktivität, wobei für deren Verstärkung heterosynaptische Aktivierungen notwendig sind (Frey, 1997; Frey and Morris, 1998a). Die nicht glutamatergen heterosynaptischen Eingänge spielen dabei eine wesentliche Rolle. Dabei ist nicht nur diese heterosynaptische Aktivierung essentiell, sondern ebenfalls die stattfindende Proteinsynthese, die für die späte Phase der LTP/LTD eine grundlegende Voraussetzung darstellt (Abb. 7; Krug et al., 1984; Frey et al., 1988; Frey et al., 1993a; Frey et al., 1996; Reymann, 1988, Reymann et al., 1988b; Matthies et al., 1990b; Nguyen et al., 1994; Frey und Morris, 1997). Im Gehirn von Säugetieren sind neuromodulatorische Systeme bekannt, die einen Einfluss auf die sich entwickelnde Plastizität, auf funktionelle Plastizitätsprozesse und im Generellen auf die Bildung von Gedächtnisinhalten haben (Izquierdo und Medina, 1997; Izquierdo und McGaugh, 2000). Im Besonderen soll in diesem Abschnitt auf den Einfluss der Aktivierung von modulatorischen Gehirnarealen und deren plastizitätsrelevanten Vorgänge bei der Modulation einer hippokampal induzierten LTP eingegangen werden. Das Hauptaugenmerk soll dabei auf die Modulation der evozierten Potentiale in der hippokampalen CA1 Region gelegt werden.

Die Verstärkung einer transienten LTP in eine late-LTP durch Aktivierung modulatorischer Gehirnareale in einem spezifischen Zeitfenster, in Bezug auf den Zeitpunkt der Induktion der LTP, konnte bei in vivo Untersuchungen am DG der Ratte bereits gezeigt werden (siehe zum

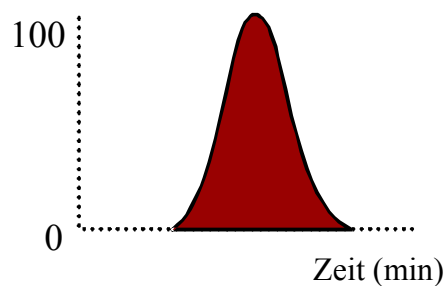
Beispiel: Seidenbecher et al., 1997; Frey et al., 2001; Frey et al., 2003; Bergado et al., 2007). Ein weiterer charakteristischer Faktor bei der Überführung einer early-LTP/LTD in eine late-LTP /LTD ist die Aktivierung der cAMP abhängigen PKA (Brandon et al., 1995; Frey et al., 1993a; Kameyama et al., 1998; Nguyen und Kandel, 1996). Für die Aktivierung einer late-LTP in der hippocampalen CA1 Region ist demzufolge die Aktivierung des dopaminergen D1/D5-Rezeptors bei adulten Tieren notwendig (Frey et al., 1991a; Frey et al., 1991b; Huang und Kandel, 1995; Matthies et al., 1997; Swanson-Park et al., 1999). Bei dieser dopaminergen Aktivierung des D1/D5-Rezeptors und den darauf folgenden Prozessen, die zur Verstärkung einer LTP/LTD führen, ist zuerst die Bindung von Dopamin an die D1/D5-Rezeptoren notwendig. Diese Neurotransmitter-Rezeptor Interaktion führt zur Aktivierung eines stimulatorischen G-Proteins (Gs), welches im Ruhezustand an Guanosin-3',5'-diphosphat (GDP) gebunden ist. Durch dessen Aktivierung wird dieses GDP-Molekül mittels Phosphorylierung durch ein Guanosin-3',5'-triphosphat (GTP)-Molekül ersetzt. Dieses nun aktivierte Gs stimuliert seinerseits das Enzym Adenylatcyclase. Dieses Membranprotein katalysiert darauf die Umwandlung von Adenosintriphosphat (ATP) zu cAMP, dabei ist die katalytische Untereinheit der Adenylatcyclase nur im Komplex mit dem G-Protein und GTP aktiv. Gs wirkt dabei in Verbindung mit der Cyclase als GTPase und hydrolysiert sein gebundenes GTP zu GDP und Gs fällt von der Adenylatcyclase ab und die Synthese von cAMP-Molekülen stoppt. Das nun wieder zur Verfügung stehende Gs kann erneut einen Transmitter-Rezeptor Komplex binden und daraufhin wieder erneut die Adenylatcyclase aktivieren. Dieser Prozess wiederholt sich dabei solange wie der Transmitter-Rezeptor Komplex vorhanden ist. Diese synthetisierten cAMP-Moleküle aktivieren die cAMP abhängige PKA, was eine notwendige Grundlage für die Verstärkung einer early-LTP in eine late-LTP darstellt (Frey et al., 1993a; Huang und Kandel, 1994; Abel et al., 1997; Nguyen und Kandel, 1997; Nguyen und Woo, 2003). Diese Aktivierung der PKA erfolgt, indem sich cAMP-Moleküle an die regulatorischen Untereinheiten der Proteinkinase binden und die beiden katalytischen Untereinheiten freigeben. Die aktiven katalytischen Untereinheiten können mit der Phosphorylierung bestimmter Substratproteine beginnen, dem so genannten „cAMP response element-binding protein“ (CREB). Diese CREBs sind Transkriptionsfaktoren, welche die Transkription bestimmter Gene, durch Bindung an einen spezifischen Desoxyribonukleinsäure-Promotor (DNA-Promotor; cAMP response element, CRE) regulieren (Brindle und Montminy, 1992; Mayr und Montminy, 2001). Das CREB kann neben der cAMP Signalkaskade noch über weitere neuronale Signalwege aktiviert werden, welche an der Gedächtnisbildung beteiligt sind (West et al., 2001; Deisseroth et al., 1998).

Durch die Aktivierung spezifischer Promotoren werden letztendlich PRPs produziert, welche zur Aktivierung der späten, Proteinsynthese abhängigen Phase der LTP/LTD notwendig sind (Krug et al., 1984; Frey et al., 1988; Reymann et al., 1988a; Reymann et al., 1988b; Otani et al., 1989; Matthies et al., 1990b; Bliss und Collingridge, 1993). Diese synthetisierten PRPs interagieren mit den „Tag“ Molekülen an den aktivierten Synapsen (Frey und Morris, 1997; Frey und Morris, 1998a; Frey und Morris, 1998b). Die beschriebenen biochemischen Vorgänge über die Aktivierung der NMDA- und D1/D5-Rezeptoren und der daraus folgenden Aktivierung des cAMP/PKA Kaskade bis hin zur Produktion von PRPs und der Interaktion mit den aktivierten Synapsen sind notwendige Vorgänge, die zu einer Verstärkung von LTP/LTD führen (Abel et al., 1997; Frey, 1997; Frey, 2001; Frey et al., 1993a; Frey und Morris, 1998a; Swanson-Park et al., 1999). Dabei ist eine solche Interaktion zwischen einem gesetzten „Tags“ und den gebildeten PRPs in Abhängigkeit von einem spezifischen Zeitfenster in Abbildung 7 dargestellt.

Eine Glutamatrezeptor-abhängige LTP / LTD setzt einen spezifischen „synaptic tag“



Ein verstärkender heterosynaptischer Input führt zur Synthese von „plastizitätsrelevanten Proteinen“



Auswirkungen der Interaktion von „Synaptic Tags“ und den synthetisierten Proteinen

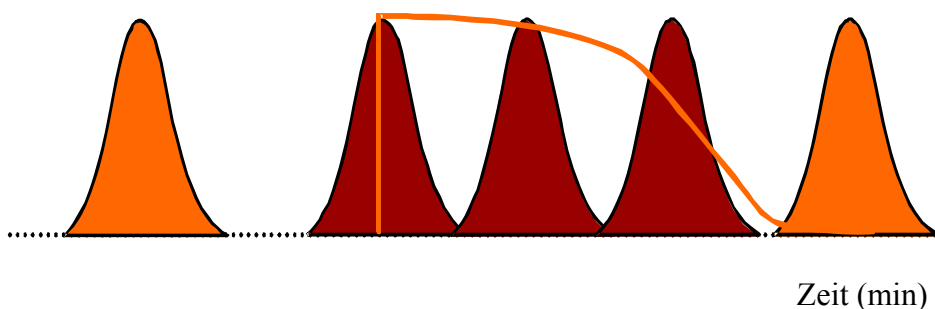


Abb.7. Schematische Darstellung der Notwendigkeit und Dynamik von „Synaptic Tags“ und der Interaktion mit den synthetisierten plastizitätsrelevanten Proteinen. Dabei verdeutlicht die linke obere Darstellung den durch LTP/LTD an den aktivierten glutamatergen Synapsen gesetzten „Tag“ und die rechte obere Darstellung die synthetisierten PRPs. Der untere Teil der Abbildung verdeutlicht die Interaktion zwischen den „Tags“ und den PRPs in Abhängigkeit vom Zeitverlauf. Daraus wird ersichtlich, dass es nur zu einer Interaktion kommen kann, wenn sowohl die „Tags“ an den aktivierten Synapsen, als auch die synthetisierten PRPs in einem spezifischen Zeitfenster vorhanden sind. Eine spätere Synthese der PRPs führt durch das nicht mehr Vorhandensein des „Tags“ zu keiner Interaktion (modifizierte Darstellung nach Frey und Morris 1998b).

←

Neben in vitro Studien die zeigten, dass die dopaminerge Rezeptoraktivierung notwendig für die Auslösung einer späten Phase der LTP ist (Frey et al., 1990; Frey et al., 1991a; Frey et al., 1991b; Frey und Morris, 1998a; Huang und Kandel, 1995; Sajikumar und Frey, 2004), konnten auch andere Studien verdeutlichen, dass die dopaminerge Rezeptoraktivierung ebenfalls einen Einfluss auf die LTD hat und deren Stärke in der CA1 modulieren kann (Chen et al., 1995; Chen und Tonegawa, 1997). Im Speziellen konnten Huang und Kandel zeigen, dass eine Applikation eines D1/D5-Rezeptoragonisten zu einer LTP-Induktion bei dem fEPSP in einem hippocampalen CA1 Schnitt führt (Huang und Kandel, 1995). Ähnliche Ergebnisse wurden teilweise auch in anderen in vitro Arbeiten gezeigt (Sajikumar und Frey, 2004; Navakkode et al., 2007). So konnte bei den Arbeiten von Sheeja Navakkode et al. die Abhängigkeit dieser induzierten so genannten delayed-onset Potenzierung von der dopaminergen Aktivierung des D1/D5-Rezeptors mittels der Applikation des D1/D5-Rezeptorantagonisten R (+)-SCH23390-Hydrochlorid (SCH23390) und die Abhängigkeit von Proteinsynthese durch die Applikation eines Proteinsyntheseblockers Anisomycin pharmakologisch gezeigt werden (Navakkode et al., 2007). Ebenfalls wurde in dieser Studie die Notwendigkeit der NMDA-Rezeptoraktivierung in Zusammenhang mit der D1/D5-Rezeptoraktivierung durch pharmakologische Applikation des NMDA-Rezeptorantagonisten AP5 oder durch Ausbleiben der glutamatergen-Rezeptoraktivierung für 3 h nach Aktivierung des D1/D5-Rezeptors untersucht und bestätigt. So konnte festgestellt werden, dass eine Induktion einer delayed-onset Potenzierung nur durch eine gemeinsame Aktivierung von

NMDA- und D1/D5-Rezeptoren möglich war, sowie dass diese Form der Potenzierung proteinsyntheseabhängig war (Navakkode et al., 2007). Zur genauen Untersuchung der molekularen Vorgänge beim Lernen und der Gedächtnisbildung sind in vitro Untersuchungen sehr gut geeignet. Um jedoch die eigentliche physiologische Relevanz im gesamten Säugetierorganismus zu studieren, sind in vivo Untersuchungen von essentieller Bedeutung, um zum Beispiel den Einfluss modulatorischer Eingänge zur hippocampalen CA1 Region auf die Prozesse der LTP/LTD im Säugetiergehirn zu untersuchen und letztendlich den Komplex des Lernens und der Gedächtnisbildung besser zu verstehen. Das mesolimbische dopaminerge System scheint eine bedeutende physiologische Relevanz für die Vorgänge, welche beim Lernen und der Gedächtnisbildung beteiligt sind, zu besitzen. Es scheint, dass die Aktivierung dopaminergischer Neurone, induzierte Prozesse während Lernvorgängen verstärken kann (Bischoff, 1986; Kemp und Manahan-Vaughan, 2004; Lemon und Manahan-Vaughan, 2006). Auch Beobachtungen von Packard und White zeigten die Bedeutung der dopaminergen Verstärkung von Lernprozessen, indem Sie die wichtige Funktion von dopaminergen Rezeptoren bei der Gedächtnisverstärkung bei Lernvorgängen verdeutlichten (Packard and White, 1989).

Für die Untersuchung der Verstärkung von LTP und LTD in der hippocampalen CA1 Region durch Aktivierung bestimmter Hirnstrukturen waren vorangegangene Erkenntnisse zu Eingängen möglicher plastizitätsrelevanter Gehirnareale in die hippocampale CA1 Region notwendig. Ein potentiell wichtiges Gebiet ist dabei das ventrale tegmentale Areal (VTA), welches aus einer heterogenen Gruppe dopaminergischer Zellen besteht und einen Hauptbestandteil des mesolimbischen dopaminergen Systems bildet, wobei diese dopaminergen Verbindungen auf den D1/D5-Rezeptoren in der hippocampalen CA1 Region enden (Cooper, 1991; Parfitt KD et al., 1992). In weiteren Studien, welche auf der Basis der „retrograden fluoreszente Tracer“-Technik beruhten, konnten Projektionen der dopaminergen Fasern von der VTA zur CA1 Region festgestellt werden (Verney et al., 1985) und zum anderen wurden Verbindungen von der VTA zum Hilus sowie zur CA1 – Subiculum Region festgestellt (Scatton et al., 1980; Verney et al., 1985). Untersuchungen, die auf einer Kombination von verschiedenen Techniken, wie retrograde Markierung, retrograde Fluoro-Gold Tracer und Immunfärbungen beruhen verdeutlichten, dass die temporale hippocampale Formation, hauptsächlich das Subiculum mit angrenzender CA1, die hauptdopaminergen Afferenzen von der VTA empfangen. Die septale hippocampale Formation, teilweise mit CA1, erhält hingegen ihre dopaminergen Eingänge von Neuronen der ventralen Hälfte sowie von den oberen und unteren Randgebieten der VTA (Gasbarri et al., 1994). Mit einem Anteil von 85% bilden

innerhalb der VTA die dopaminergen Neurone den größten Anteil der in dieser Region lokalisierten Zellen (Swanson, 1982). Diese Erkenntnisse zu den Verbindungswegen der afferenten Fasern der VTA zum Hippokampus und im Speziellen zur CA1 verdeutlichen das starke Interesse an dieser Region, als wichtiges Areal zur Beteiligung am Lernen und der Gedächtnisbildung durch Modulation der synaptischen Effizienz. Neben dieser strukturellen Verstärkung von plastizitätsrelevanten Prozessen durch Stimulation von modulatorischen Arealen, erfolgt ebenfalls eine Verstärkung durch bestimmte Verhaltensabläufe bei Tieren und Menschen. So konnte in einer Verhaltensstudie gezeigt werden, dass eine early-LTP in eine late-LTP im DG verstärkt wurde, wenn diese frühe Phase der LTP mit einem Holeboard Training (Ratten) in einem spezifischen Zeitfenster innerhalb der Lernphase kombiniert wird (Korz und Frey, 2004; Uzakov et al., 2005). Auch Studien von Seidenbecher et al. verdeutlichten, dass eine early-LTP im Gyrus dentatus im Verhaltensexperiment durch appetitive oder aversive Stimuli, wie einer Wassergabe nach vorheriger Wasserdeprivation bzw. der Applikation leichter Fußschocks, verlängert werden kann, wenn diese zusätzlichen verhaltensbedingten Stimuli während der ersten 30 min nach LTP-Induktion erfolgen (Seidenbecher et al., 1997). Weitere Arbeiten von Moncada und Viola konnten ebenfalls einen verstärkenden Einfluss auf das Kurzzeitgedächtnis durch verhaltensrelevante Vorgänge feststellen (Moncada und Viola, 2007). So konnte eine durch ein schwaches inhibitorisches Vermeidungstraining hervorgerufene Kurzzeitspeicherung in eine Langzeitspeicherung verstärkt werden, wenn dieses Training mit der Erkundung einer neuen Umgebung kombiniert wird. Der verstärkende Effekt ist von der dopaminergen Aktivierung der D1/D5-Rezeptoren und von Proteinsynthese im dorsalen Hippokampus abhängig. Diese Studie von Moncada und Viola zeigt das Vorhandensein eines verhaltensbedingten Tagging Prozesses, in welchem die Erkundung einer neuen Umgebung und die dadurch synthetisierten Proteine zur Verstärkung der inhibitorischen Vermeidungsgedächtnisspur führen.

1.8. Zielstellung

Die Prozesse des Lernens und der Gedächtnisbildung bei Säugetieren unterliegen komplexen Mechanismen. Zur Klärung der grundlegenden Mechanismen sind *in vitro* Untersuchungen von entscheidender Bedeutung. Ein wesentlicher Nachteil ist jedoch deren Isolation von anderen Hirnstrukturen, die assoziativ auf den Hippokampus wirken. Somit ist zur Klärung neuronaler Prozesse und für die Untersuchung der Verschaltungen, der miteinander in Verbindung stehender neuronalen Areale sowie deren gegenseitige Beeinflussung und die Betrachtung der Vorgänge im normalen, physiologisch intakten Säugetierorganismus von essentieller Bedeutung. So wurde in vielen Studien die Beeinflussbarkeit der grundlegenden hippokampalen Prozesse, wie LTP und LTD durch Stimulation modulatorischer Hirnareale, vorzugsweise im DG der hippokampalen Region nachgewiesen. Dabei spielten unterschiedliche Neurotransmittersysteme eine wesentliche Rolle. Anhand von *in vitro* Untersuchungen und *in vivo* Verhaltensstudien konnte die Wichtigkeit des dopaminergen Systems für Lern- und Gedächtnisprozesse festgestellt werden. Besonders bei *in vitro* Untersuchungen wurde eine entscheidende Bedeutung der Aktivierung der D1/D5-Rezeptoren, damit der Modulation von LTP/LTD sowie der Initialisierung einer Potenzierung nachgewiesen. In dieser hier vorgelegten Arbeit sollte diese mögliche dopaminerge Modifikation im Bezug auf den Zeitverlauf / Verstärkung der LTP, LTD und auf normale Teststimulationen (biphasische, stromkonstante Impulse; 0.1 ms pro Halbwelle) anhand der Registrierung des fEPSP und des PS in der hippokampalen CA1 geklärt werden. Zu dieser Untersuchung sollte die Methode der Doppelableitung maßgeblich beitragen und deren Anwendung in der CA1 an frei beweglichen Ratten letztendlich etabliert werden. Die Methode der Doppelableitung, welche bereits im DG an frei beweglichen Ratten zur simultanen Registrierung von fEPSP und PS am Ort Ihrer Generierung in ein und demselben Tier als Antwort auf das jeweilige Stimulationsparadigma etabliert wurde (Frey und Frey, 2009), soll auch einen wichtigen methodischen Bestandteil in dieser Promotionsarbeit darstellen, um die Registrierung des fEPSP im Stratum radiatum und des PS im Stratum pyramidale der CA1 Region ebenfalls am Ort ihrer Generierung in ein und demselben Tier als Antwort auf das jeweilige Stimulationsparadigma zu ermöglichen.

Als Kernpunkt dieser Arbeit sollte festgestellt werden, ob und in welchem Umfang eine elektrische hochfrequente Stimulation der VTA (VTA_{hfs}) eine Modulation von fEPSP und PS in der CA1 hervorrufen kann. Dabei lagen die folgenden spezifischen Fragestellungen dem experimentellen Teil dieser Arbeit zugrunde:

Stabilität

Ist es möglich mit der Methode der Doppelableitung eine stabile Registrierung von fEPSP und PS durch elektrische Stimulation der cCA3 über einen Zeitraum von 24 h zu erreichen?

Early-LTP / elektrische hochfrequente Stimulation der VTA nach Induktion einer transienten LTP (early-LTP-VTAhfs)

- a) Ist die Induktion einer early-LTP für fEPSP und PS in der CA1 Region durch elektrische Stimulation der cCA3 möglich und welchen Einfluss hat die VTAhfs der ipsilateralen VTA zu einem spezifischen Zeitpunkt nach LTP Induktion auf deren Zeitverlauf?
- b) Welches Neurotransmittersystem liegt einer solchen Modifikation zugrunde und besteht dabei eine Proteinsyntheseabhängigkeit?

Elektrische hochfrequente Stimulation der VTA bei Teststimulationen der cCA3 (Test-VTAhfs)

- a) Besteht eine Beeinflussung der neuronalen Basalaktivität von fEPSP und PS in der hippocampalen CA1 Region durch eine VTAhfs?
- b) Welches Neurotransmittersystem liegt einer solchen Modifikation zugrunde?

Early-LTD / elektrische hochfrequente Stimulation der VTA nach Induktion einer transienten LTD (early-LTD-VTAhfs) und vor Induktion einer transienten LTD

- a) Mit welchem Aufbau eines Stimulationsprotokolls ist es möglich eine LTD durch elektrische Stimulation der cCA3 für das fEPSP in der CA1 zu induzieren und welchen Einfluss hat die VTAhfs zu einem spezifischen Zeitpunkt nach und vor LTD Induktion auf deren Zeitverlauf?
- b) Welches Neurotransmittersystem liegt einer solchen Modifikation zugrunde?

2. Material und Methoden

2.1. Versuchstiere

Alle Experimente wurden an männlichen Wistar Ratten (Stamm: Schönwalde) durchgeführt, welche zum Zeitpunkt der Präparation ein Alter von 7 Wochen hatten und deren Gewicht zu diesem Zeitpunkt zwischen 270 und 320 g lag. Die Tiere wurden unter kontrollierten Laborbedingungen einzeln in transparenten Plastikboxen mit freiem Zugang zu Futter und Wasser gehalten. Die Raumtemperatur lag dabei um 20°C und die relative Luftfeuchtigkeit betrug 55-60%. Weiterhin wurde darauf geachtet, dass ein Tag-/Nachtzyklus von jeweils 12 Stunden eingehalten wurde (Lichtperiode zwischen 6 und 18 Uhr und Dunkelperiode zwischen 18 und 6 Uhr). Die Genehmigung zur Durchführung dieser Tierversuche wurde von der Landesbehörde des Bundeslandes Sachsen-Anhalt erteilt.

2.2. Präparation und Elektrodenimplantation

Während der Präparation befanden sich die Versuchstiere in tiefer Narkose mit Pentobarbital (40 mg/kg, i.p.). Zur Aufrechterhaltung der Narkose wurde das Tier zu variablen Zeitabständen ebenfalls mit Pentobarbital nachnarkotisiert.

Für die Durchführung der Präparation befand sich das Versuchstier in einer stereotaktischen Apparatur (TSE Systems, Bad Homburg, Deutschland). Dabei wurde das Versuchstier über Ohrenstifte fixiert und die Schneidezähne in einen Gebisshalter eingehakt. Weiterhin wurden dem Versuchstier auf der Kopfoberseite die Fellhaare entfernt und die Haut über dem Schädeldach längs der Sagittallinie auf einer Länge zwischen Ohren und Augenpaar durchtrennt und seitlich verdrängt. Für die Entfettung und Entfernung, der sich auf dem Schädeldach befindenden Kopfhaut, wurde 96%iger Ethanol aufgebracht und die dadurch pergamentartige Knochenhaut konnte leichter entfernt werden. Ebenfalls wurde die Schädeloberfläche mit 3%igem Wasserstoffperoxid desinfiziert und gereinigt. Mit Hilfe eines Gewebeklebers (Histoacryl, B|Braun-Aesculap, Tuttlingen, Deutschland) wurden die Wundränder versiegelt. Im Folgenden wurde der Abstand zwischen Bregma und Lambda auf der Schädeloberfläche ermittelt und die Lage des Kopfes des Versuchstieres bei Bedarf so korrigiert, dass Bregma und Lambda in derselben horizontalen Ebene lagen. Die Koordinaten

für das Einbringen der Reizelektroden, Ableitelektrode, Kanüle und der Referenz- / Erdungselektroden (Minischrauben mit Silberdraht) konnten mit Hilfe eines Mikromanipulators auf der Schädeloberfläche markiert werden (Abb. 8). Die Wahl der Koordinaten für die anvisierten Gehirnareale erfolgte unter Zuhilfenahme des stereotaktischen Atlas von Paxinos und Watson (1982). An den gesetzten Markierungen wurden kleine Bohrungen im Schädeldach durchgeführt, die Referenz- / Erdungselektroden eingedreht und epidural platziert, die intracerebroventriculäre Kanüle (i.c.v.-Kanüle) an den festgelegten Koordinaten (anterior-posterior (AP): -0,8 mm; medio-lateral (ML): 1,5 mm; Abb. 9) bis in die Tiefe des Ventrikels eingeführt und mit Zahnzement (Paladur, Heraus Kulzer GmbH, Wehrheim, Deutschland) befestigt. Für die Positionierung der Reizelektroden und Ableitelektrode über den Bohrlöchern wurden die zuvor gesetzten AP Markierungen auf der Mittellinie des Schädels zwischen Bregma und Lambda genutzt. Nach der Registrierung der Duraoberfläche wurde diese angeritzt, um das Einbringen der Elektroden zu erleichtern und das Gewebe nicht unnötig in die Tiefe zu drücken.

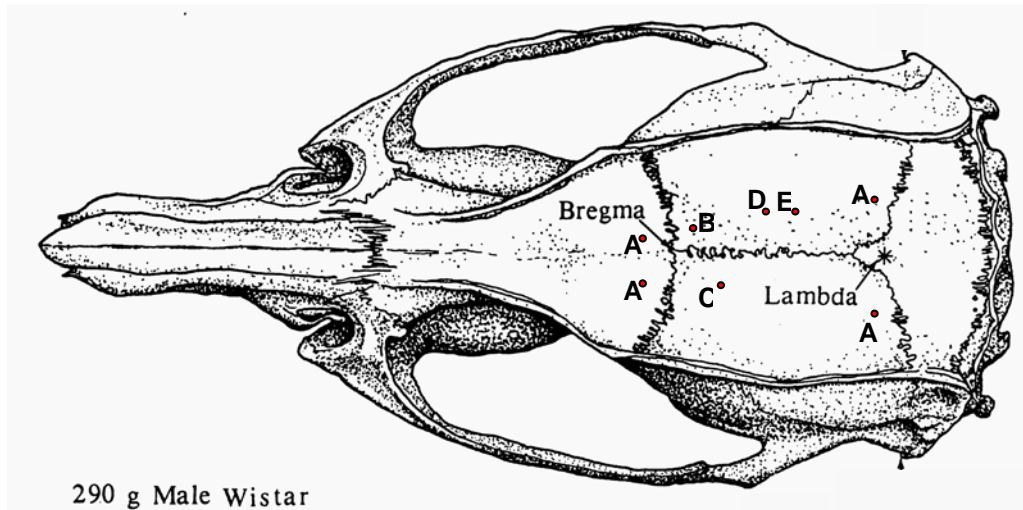


Abb. 8. Schädeloberfläche einer männlichen Wistar-Ratte mit den eingezeichneten Positionen für (A) die Referenz- / Erdungselektroden, (B) der i.c.v.-Kanüle, (C) der Stimulationselektrode (cCA3), (D) der „Doppel“-ableitelektrode (CA1, rechte Hemisphäre) und (E) der ipsilateralen VTA-Stimulationselektrode. Die Koordinaten wurden dem stereotaktischen Atlas von Paxinos und Watson (1982) entnommen.

Für den späteren Versuchsablauf waren die Implantationen folgender Elektroden notwendig: einer „Doppel“-ableitelektrode in der CA1 Region des rechten Hippokampus, einer Reizelektrode in der cCA3 des Hippokampus und einer weiteren Reizelektrode in der ipsilateralen VTA.

Eine methodische Besonderheit stellt die „Doppel“-ableitelektrode dar. Sie besteht aus zwei direkt aneinander liegenden Edelstahldrähten, welche eine Lackisolierung besitzen und deren Einzeldrahtdurchmesser 125 µm beträgt. Diese „Doppel“-ableitelektroden wurden mit einem vom Institut selbst hergestellten Spanngerät gezogen. Durch diese Methode verlieren die Drähte ihre Weichheit und erhalten so eine größere Stabilität, die für die Implantation dieser Elektroden eine Voraussetzung darstellt. Die beiden Einzeldrähte wurden mit einem kleinen Stück Pappe fixiert und mit Kleber daran befestigt. Um die spezielle Funktion dieser „Doppel“-ableitelektrode zur Registrierung der beiden Feldpotentiale, des exzitatorischen postsynaptischen Feldpotentials (fEPSP) im Stratum radiatum und des Summenaktionspotentials (PS, engl. population spike) im Stratum pyramidale zu ermöglichen, mussten die beiden Einzeldrähte eine unterschiedliche Länge besitzen. Dazu wurde ein Draht vor Präparationsbeginn mit einer speziellen Schere und unter Mikroskopkontrolle abgeschnitten, so dass dieser am Ende zwischen 260 µm und 280 µm kürzer war, als der andere von den beiden Drähten. Der längere der beiden Drähte diente für die Registrierung des fEPSP im Stratum radiatum und der kürzere Draht zur Registrierung des PS im Stratum pyramidale.

Diese „Doppel“-ableitelektrode wurde an den folgenden Koordinaten: AP: -4,0 mm; ML: 2,3 mm; dorso-ventral (DV): 2,0 mm bis 2,6 mm gemessen von der Oberfläche der Dura, implantiert (Abb. 9). Wobei die korrekte Tiefenposition dieser Elektrode mittels visueller Kontrolle der evozierten Potentiale über einen Monitor erfolgte.

Die Implantation der beiden bipolaren Reizelektroden erfolgte zum einen in der cCA3 (Koordinaten: AP: -2,1 mm; ML: -1,4 mm; DV: 2,6 mm bis 3,3 mm gemessen von der Oberfläche der Dura; Einzelstahldrähtdurchmesser: 125 µm) und zum anderen in der ipsilateralen VTA (Koordinaten: AP: -5,3 mm; ML: 2,3 mm, DV: 8,1 mm gemessen von der Oberfläche der Dura) (Abb. 9). Diese bipolare VTA Reizelektrode bestand aus 2 Wolframdrähten mit Teflonbeschichtung, um eine noch größere Stabilität bei Gehirntiefenimplantationen zu erreichen und wurde in einem Winkel von 10° zur Mittellinie implantiert.

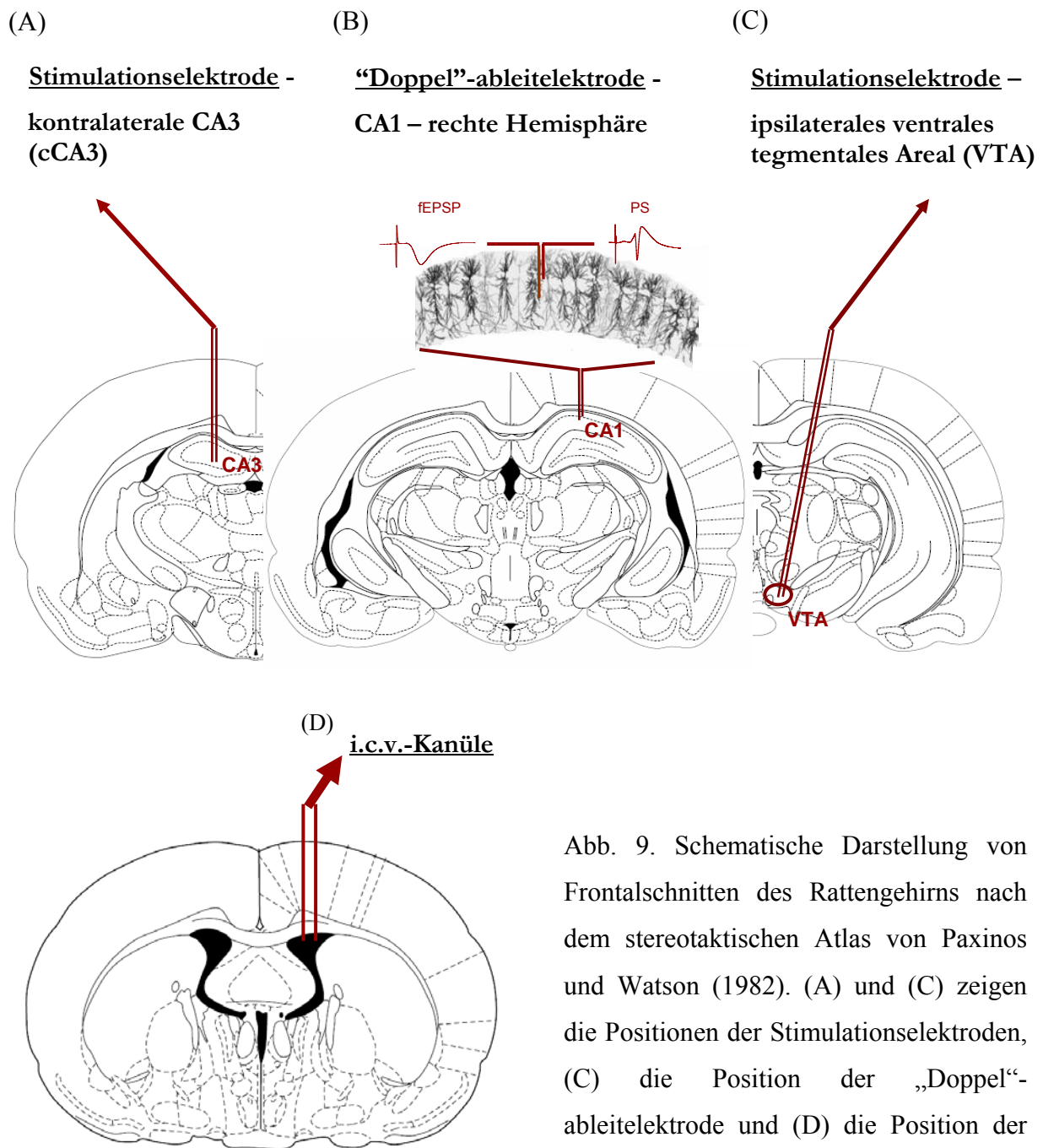


Abb. 9. Schematische Darstellung von Frontalschnitten des Rattengehirns nach dem stereotaktischen Atlas von Paxinos und Watson (1982). (A) und (C) zeigen die Positionen der Stimulationselektroden, (C) die Position der „Doppel“-ableitelektrode und (D) die Position der i.c.v.-Kanüle.

Alle implantierten Elektroden waren mit einer Lackisolierung versehen und nur die untere Querschnittsfläche der Elektroden war unisoliert, um den Kontakt zum jeweiligen Gewebe herstellen zu können. Alle zu implanzierenden Elektroden wurden an den Halterungen der Mikromanipulatoren befestigt, senkrecht ausgerichtet und konnten somit exakt platziert werden und über einen Feintrieb in die jeweilige Tiefenposition gebracht werden, welche im Laufe der Präparation, anhand der abgeleiteten Feldpotentiale, festgestellt wurde. Die VTA

Reizelektrode wurde sehr langsam, gleich zu Beginn als erste Elektrode in die anvisierte Tiefenposition gebracht und mit Zahnzement direkt fixiert. Die Drähte der Stimulationselektroden wurden jeweils mit kleinen Plastiksockeln verbunden, die später die Kontaktstellen für die Verbindung zur elektrischen Versuchsanordnung bildeten.

Die beiden Drähte der „Doppel“-ableitelektrode wurden jeweils ebenfalls mit einem kleinen Plastiksockel verbunden, wobei über diesen jeweiligen Plastiksockel zusätzlich eine Verbindung zu je zwei Referenz- / Erdungselektroden bestand. Dadurch entstanden zwei weitere Kontaktstellen für die Verbindung mit der elektrischen Versuchsanordnung, eine zur Registrierung des fEPSP und die andere für den PS. Ein Beispiel für eine solche Registrierung ist anhand eines Tiefenprofils in Abbildung 10 dargestellt.

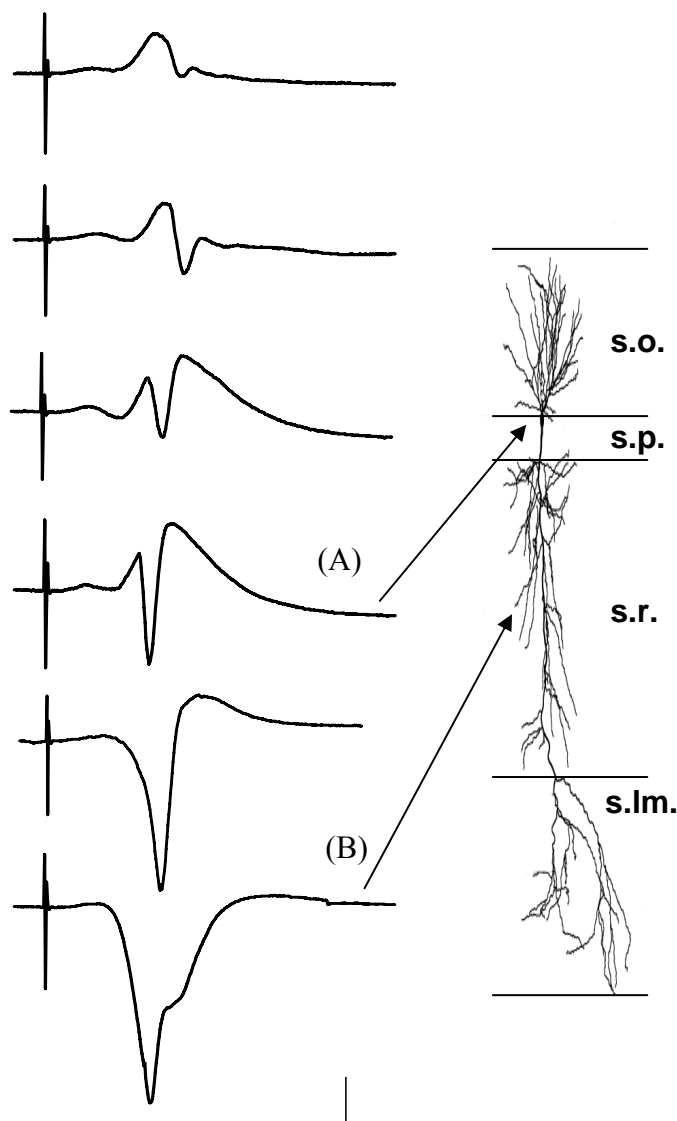


Abb. 10 Schematische Darstellung eines pyramidalen CA1 Neurons mit zugehörigen Feldpotentialen in Abhängigkeit von der Tiefe der Registrierung (Tiefenprofil). (A) zeigt ein PS aufgenommen in der Pyramidenzellschicht der CA1 Region. Beim weiteren Vortrieb der Elektrode ändert sich die Form des aufgenommenen Potentials und in der Schicht der apikalen Dendriten wechselt die Potentialform in die typische Charakteristik (B) des fEPSP. Kalibrierung: 2mV/10ms. (Abkürzungsverzeichnis: s.o. Stratum oriens; s.p. Stratum pyramidale; s.r. Stratum radiatum; s.lm. Stratum lacunosum moleculare.)

Nach Fertigstellung aller Implantationen, der Reizelektroden und der „Doppel“-ableitelektrode wurde ein Gesamtsockel aus Zahnzement gebildet, die Wundränder der Ratte mit einem medizinischen Heilpuder (Riemser Arzneimittel AG, Greifswald, Deutschland) versorgt, das Tier zurück in einen Einzelkäfig gesetzt, sowie mit Futter und Wasser versorgt.

2.3. Experimentalablauf und Stimulationsprotokolle

Nach einem Zeitraum von mindestens 10 Tagen nach der Präparation wurden die Tiere für die anstehenden Versuche auf die Ableitbarkeit von fEPSP und PS überprüft. Dafür wurden die Tiere vor Beginn der elektrophysiologischen Experimente in spezielle Stimulations-, Ableitboxen gesetzt (Höhe: 40 cm x Breite: 40 cm x Tiefe: 40 cm.), in welchen die Versuchstiere sich frei bewegen konnten, freier Zugang zu Futter sowie Wasser bestand und diese Tiere über ein flexibles Kabel mit einem 10 Kanal Swivel mit der elektrischen Versuchsapparatur verbunden waren (Abb. 11).



Abb. 11. Stimulations-, Ableitboxen mit einem Versuchstier, wobei die Verbindung des Versuchstieres mit dem Swivel und der freie Zugang zu Futter und Wasser dargestellt sind.

Am ersten Versuchstag wurden die Tiere, bei denen die Registrierung von fEPSP und PS oder nur fEPSP möglich war, in die Stimmulations-, Ableitboxen zunächst für mindestens 4 Stunden zur Habituation in der neuen Umgebung gesetzt, um mögliche versuchsbeeinflussende Erkundungen des neuen Areals zu vermeiden. Im Folgenden wurden die Tiere über ein flexibles Kabel mit einem 10 Kanal Swivel verbunden, wobei dieser in Kontakt mit der technischen Versuchsausrüstung stand. Über diese Verbindung konnten die vom PC stammenden digitalen Stimulusinformationen über den Digital/Analog-Wandler (CED 1401⁺; Cambridge Electronic Design, Cambridge, UK) in analoge transformiert werden und über die direkte Verbindung zu einem Stimulusgenerator („isolated pulse stimulator“, Model 2100, A-M Systems, Carlsborg, USA) zur Applikation über den Swivel für das Versuchstier generiert werden. Dieser eingesetzte Stimulator war vom normalen Stromnetz isoliert, um die exakte Weitergabe der festgelegten Stimulationsintensitäten an das Tier zu ermöglichen und das Risiko von auftretenden Spannungsspitzen und damit deren Übertragung auf das Tier zu verhindern.

Um die analogen Signale (fEPSP und PS) von der Registrierung in der spezifischen Region des Rattenhirns letztendlich auf dem PC darstellbar zu machen, bestand eine Verbindung von den Steckkontakten (Verbindung zur „Doppel“-ableitelektrode) auf dem Schädel des Rattenhirns über ein flexibles Kabel, einem Swivel und einem Verstärker (differential AC amplifier, model 1700, A-M System, Carlsborg, USA), welcher die elektrophysiologischen Antworten für die Weiterverarbeitung verstärkte, zu einem Analog/Digital-Wandler (CED 1401⁺; Cambridge Electronic Design, Cambridge, UK), welcher die abgeleiteten, analogen, neuronalen Signale in digitale transformierte und letztendlich zu einem PC. Auf diesem PC können die Signale über eine speziellen Software (PWIN, Institut für Neurobiologie, Magdeburg, Deutschland) weiterverarbeitet, dargestellt und letztendlich gespeichert werden. Um zusätzlich eine EEG Kontrolle zu ermöglichen bestand vom Verstärker aus eine weitere Verbindung zu einem Oszilloskop (HM 507, HAMAG Instruments, Mainhausen Deutschland).

Am ersten Versuchstag erfolgte nach Habituation die Input/Output (I/O) Registrierung. Diese war zur Ermittlung der maximalen exzitatorischen, neuronalen Antwort auf die dargebotenen Reizstärken notwendig, um eine genaue Kalkulation für die im eigentlichen Versuchsablauf notwendigen Stimulationsintensitäten zu ermöglichen, die eine spezifische prozentuelle Stärke des Antwortsignals repräsentieren. Für die Aufnahme der I/O-Kurven wurde die cCA3 Region des Hippokampus der Versuchstiere mit biphasischen stromkonstanten Impulsen stimuliert (0,1 ms pro Halbwelle), wobei Stimulationsintensitäten zwischen 50 und 600 μ A

genutzt wurden (Abb. 12). Dabei unterlag die Stimulation und Ableitung der oben beschriebenen technischen Abfolge.

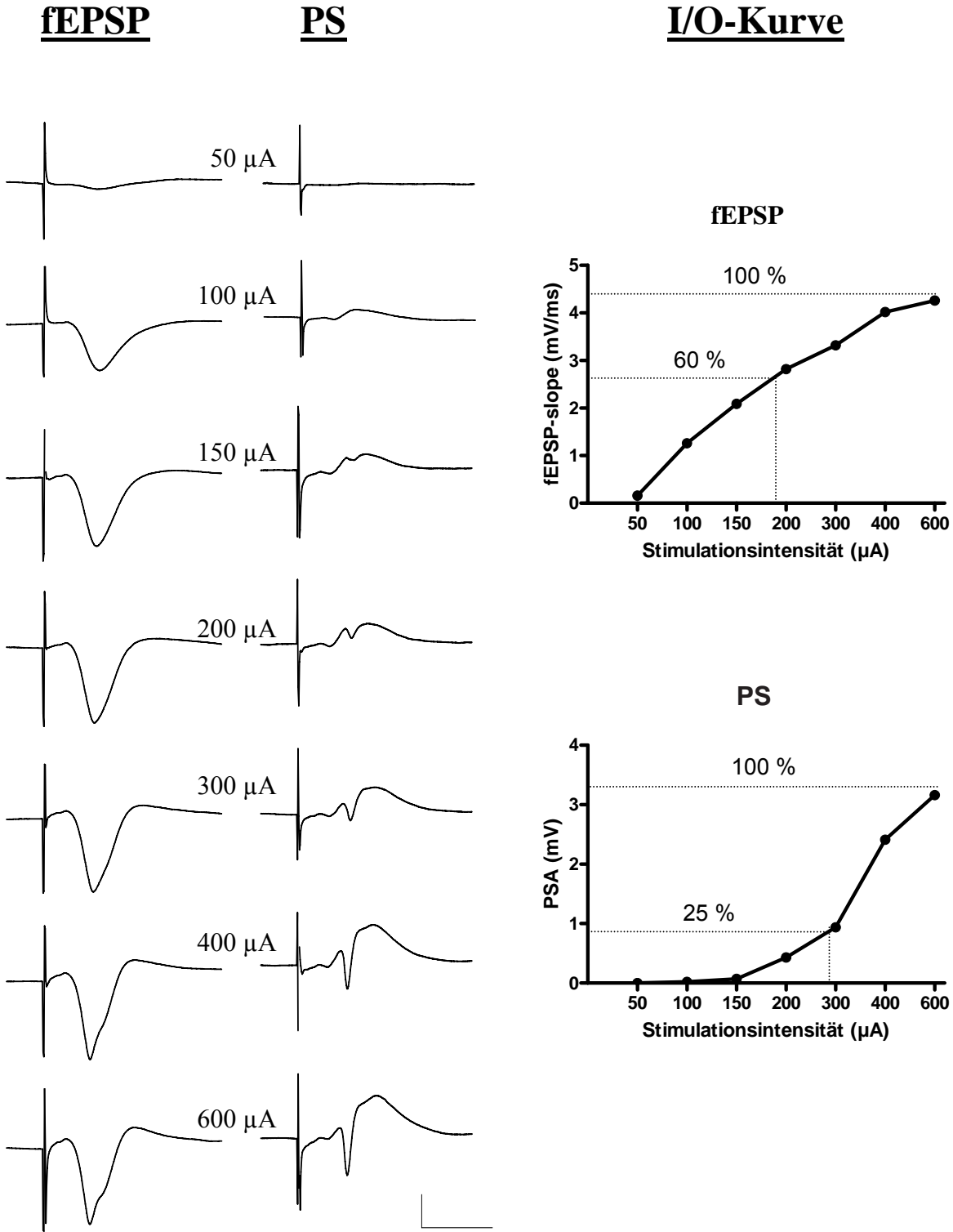


Abb. 12. (A) Darstellung der Analogbeispiele von I/O Aufnahmen des fEPSP im Stratum radiatum und des PS im Stratum pyramidale in der CA1 Region des Hippokampus bei Stimulation der cCA3 mit steigenden Stimulationsintensitäten: 50, 100, 150, 200, 300, 400 und 600 μA , Kalibrierung: 2mV/10ms. (B) Zugehörige I/O-Kurven für fEPSP und PS am Beispiel eines Einzeltieres. Dabei sind zusätzlich die maximal registrierten Werte für den fEPSP-slope und den PS markiert, sowie die davon kalkulierten prozentualen Werte für die Stimulationsintensität für den Versuchseinsatz gekennzeichnet.

←

Bei jeder Stimulationsintensität wurden 3 Stimulationen bei einer Frequenz von 0,05 Hz durchgeführt, wobei die dabei aufgezeichneten Potentiale (fEPSP, PS) unter Verwendung der PWIN Software gemittelt wurden. Zwischen den Stimulationenserien bei den unterschiedlichen Stimulationsintensitäten lag jeweils ein Zeitraum von 5 min. Aus der I/O Ermittlung wurden zum einen der 25%-Wert der Amplitude des Populationsspikes (PSA) und zum anderen der 60%-Wert des Anstieges (Slope) des fEPSPs ermittelt, sowie die entsprechenden Stimulationsintensitäten bestimmt. Bei der Messung der „Slope function“ des fEPSP wurde der steilste Anstieg während der ersten negativen Auslenkung ermittelt, wobei zur Berechnung noch jeweils zwei weitere Punkte oberhalb und unterhalb des maximalen Anstieges mit einbezogen wurden (Abb. 13A). Um die Amplitude des Populationsspikes zu erfassen, wurde die Amplitude vom Peak der ersten, hier markierten, positiven Auslenkung zum Peak der darauf folgenden negativen Auslenkung ermittelt (Abb. 13B).

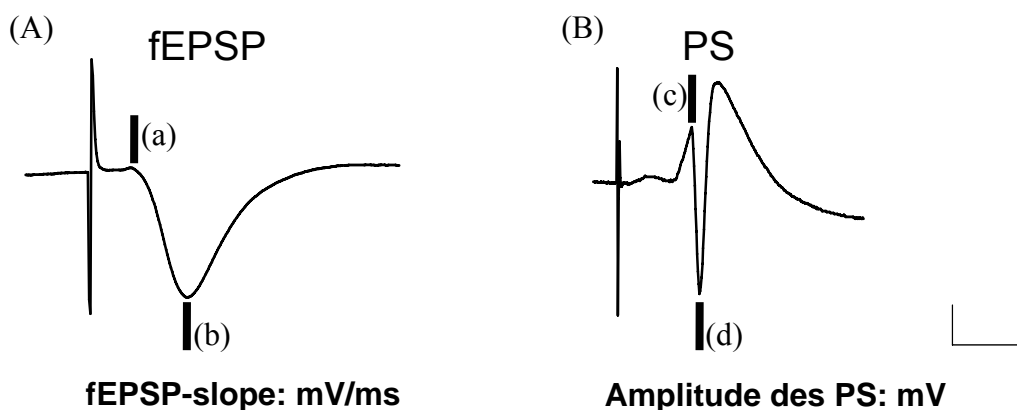


Abb. 13. Darstellung des (A) fEPSP, registriert im Stratum radiatum und des (B) PS, registriert im Stratum pyramidale, sowie die Bestimmung des (A) fEPSP-slope berechnet im Bereich der beiden dargestellten Marker (a) und (b) sowie der (B) PSA, berechnet zwischen den beiden dargestellten Markern (c) und (d). Genauere Erläuterungen können dem obigen Text entnommen werden. Kalibrierung: 2mV/10ms.

←

Am zweiten Experimentaltag wurden zuerst die Elektrodenkontakte auf dem Kopf des Versuchstieres mit der Versuchsanlage über das flexible Kabel / Swivel verbunden und bei den Experimenten mit den pharmakologischen Versuchsgruppen wurden ebenfalls zusätzlich Injektoren in die i.c.v.-Kanülen eingebracht. Nach einer Wartezeit von etwa 30 min wurden die Werte für den Slope des fEPSPs (60% vom Maximalwert) und der PSA (25% vom Maximalwert) mittels Teststimulation (biphasische, stromkonstante Impulse; 0.1 ms pro Halbwelle) registriert und mit den am Vortag ermittelten Werten bei der I/O Bestimmung verglichen, sowie mögliche kleine Abweichungen in der Stimulationsintensität korrigiert. Nach weiteren etwa 30 min wurde mittels jeweils 4 Teststimulation (biphasische, stromkonstante Impulse mit einer Frequenz von 0,05 Hz; 0.1 ms pro Halbwelle) der cCA3 mit den Baselineaufnahmen begonnen. Dabei erfolgte im Wechsel mit einer Pause von jeweils 5 min die elektrische Stimulation der cCA3 zum einen mit der Stimulationsintensität für 25% von der Maximalamplitude des PSs und zum anderen mit der Stimulationsintensität für 60% vom Maximalwert des fEPSP-slopes. Nach der Aufzeichnung einer stabilen Baseline von 60 min wurde mit dem jeweiligen spezifischen Stimulationsprotokoll und einer eventuellen pharmakologischen Applikation fortgefahren. An diesem Hauptversuchstag (2.Tag) erfolgten, nach Registrierung einer stabilen Baseline, die Aufnahmen der elektrophysiologischen Antworten von fEPSP und PS für die Dauer von 8 h, wobei dabei jeweils die cCA3 im 10 minütigen Wechsel zum einen mit der Stimulationsintensität für 25% von der Maximalamplitude des PS und zum anderen mit der Stimulationsintensität für 60% vom maximal registrierten slope des fEPSP stimuliert wurde.

Am darauf folgenden dritten Versuchstag erfolgten die 24 h Aufnahmen der elektrophysiologischen Antworten von fEPSP und PS über einen Zeitraum von einer Stunde. Für die Registrierung des fEPSP und des PS während der Baseline, den 8 h und 24 h Aufnahmen wurden bei jeder Stimulationsserie jeweils 4 Antwortsignale aufgezeichnet, diese über die PWIN Software gemittelt und auf dem Laborcomputer gespeichert.

Stabilitätskontrolle

Für die Stabilitätskontrolle des fEPSP und PS in der CA1 Region wurden die elektrophysiologischen Antworten bei Teststimulation (biphasische, stromkonstante Impulse; 0.1 ms pro Halbwelle) der cCA3 über einen Zeitraum von 24 Stunden aufgezeichnet (Abb. 14).

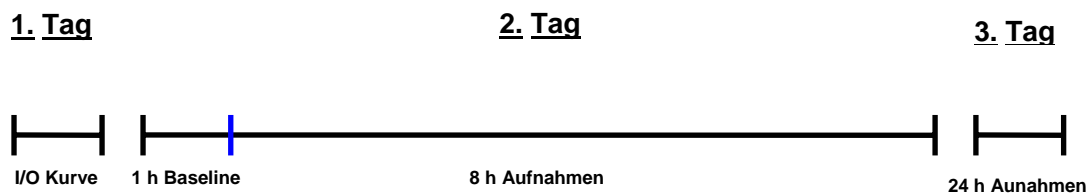


Abb. 14. Stimulationsprotokoll für die 24 h Stabilitätskontrollen. Die Stimulation erfolgte mittel Teststimulationen der cCA3 mit der jeweiligen Stimulationsintensität von 25% der Maximalamplitude des PS und von 60% des maximalen slopes des fEPSP.

Early-LTP und elektrische hochfrequente Stimulation der VTA (early-LTP-VTAhfs)

Für die Induktion einer early-LTP für das fEPSP und den PS in der CA1 Region erfolgte die Stimulation der cCA3 mit einem schwachen Tetanisierungsprotokoll (primed burst (PB)), ein einzelner Initialimpuls gefolgt von einer Reizfolge von 10 Impulsen präsentiert 190 ms später bei einer Frequenz von 100 Hz bei einer Impulsdauer von 0,1 ms pro Halbwelle (Abb. 15A). Für diese Tetanisierung wurde als Stimulationsintensität immer der 25%-Wert der maximalen PSA verwendet. Zur Untersuchung des Einflusses der elektrischen Aktivierung der VTA auf die evozierten Potentiale in der CA1 Region wurde die ipsilaterale VTA 15 min nach Induzierung einer early-LTP (PB-Stimulation) hochfrequent stimuliert (3 Serien von 15 Impulsen bei einer Frequenz von 200 Hz, 300 μ A Stimulationsintensität) (Abb. 15B). Für diese Teilversuchsreihe erfolgten ebenfalls pharmakologische Untersuchungen mit einem D1/D5-Rezeptorantagonisten (SCH23390), einem Proteinsyntheseblocker (Anisomycin oder Emetin) (Abb. 15C).

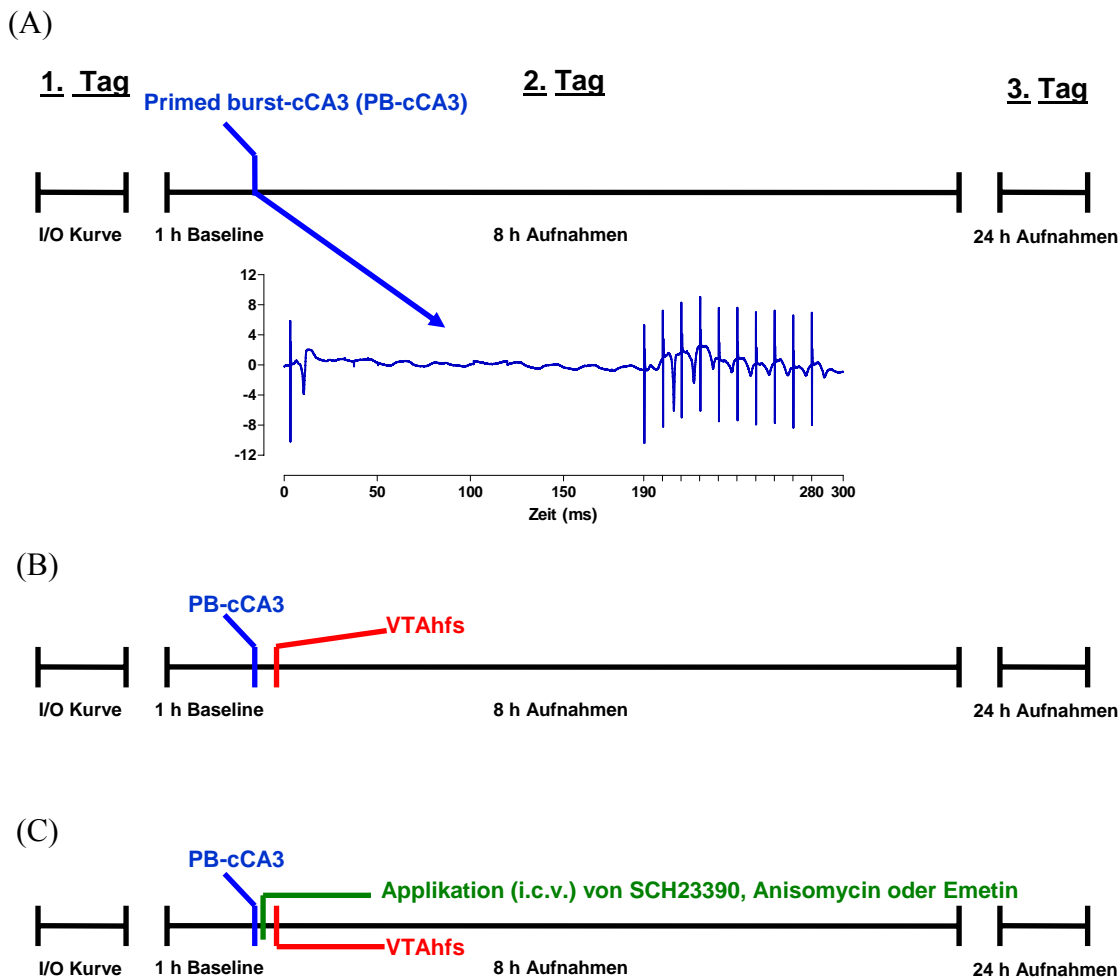


Abb. 15. Induktion einer early-LTP und Einfluss der VTAhfs auf den Zeitverlauf dieser induzierten early-LTP in der CA1 Region für fEPSP und PS. (A) 24 h Experimentalprotokoll mit Induktion einer early-LTP für fEPSP und PS durch PB-Stimulation der cCA3 mit Darstellung dieses Stimulationsprotokolls anhand des Beispiels des PS. (B) 24 h Experimentalprotokoll mit VTAhfs 15 min nach Induktion einer early-LTP. (C) 24 h Experimentalprotokoll zur pharmakologischen Untersuchung. Induktion einer early-LTP und Applikation des D1/D5-Rezeptorantagonisten SCH23390, des Proteinsyntheseblockers Anisomycin oder Emetin 10 min vor VTAhfs.

Elektrische hochfrequente Stimulation der VTA auf Teststimulationen (Test-VTAhfs)

Für eine weitere Teilversuchsreihe wurde der Einfluss der Aktivierung der VTA auf Teststimulationen der cCA3 und damit auf die evozierten Potentiale in der CA1 Region

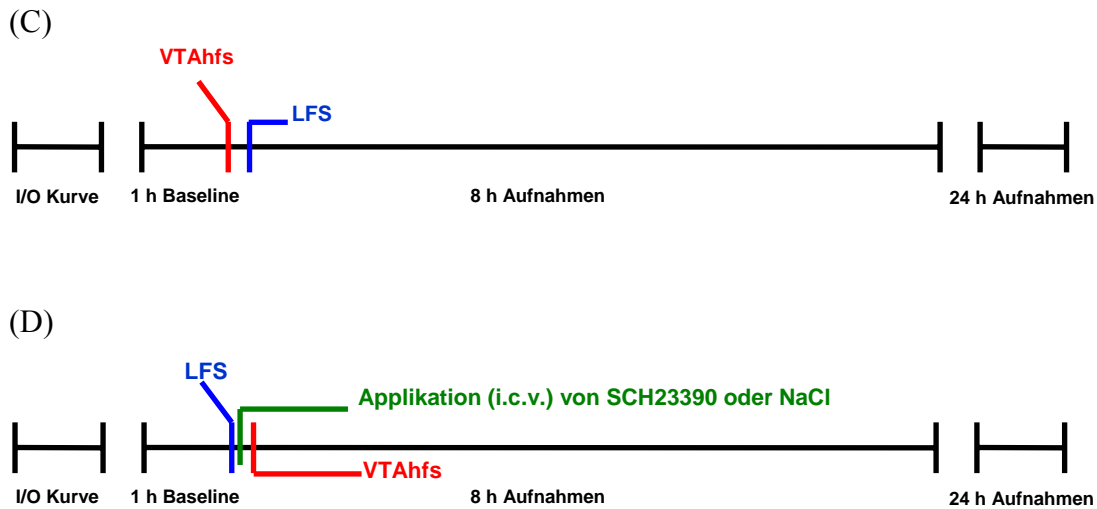


Abb. 17. Induktion einer early-LTD und Einfluss der VTAhfs auf den Zeitverlauf dieser early-LTD in der CA1 Region für fEPSP. (A) 24 h Experimentalprotokoll zur Induktion einer early-LTD durch LFS der cCA3. (B) 24 h Experimentalprotokoll zur VTAhfs 15 min nach Stimulation der cCA3 mit dem LFS-Protokoll. (C) 24 h Experimentalprotokoll zur VTAhfs 15 min vor Stimulation der cCA3 mit dem LFS-Protokoll. (D) 24 h Experimentalprotokoll zur pharmakologischen Untersuchung mit Applikation des D1/D5-Rezeptorantagonisten SCH23390 oder NaCl 10 min vor VTAhfs.

Pharmakologie

Für die pharmakologischen Untersuchungen innerhalb der einzelnen Versuchskomplexe erfolgten generell intracerebroventriculäre Applikationen mit einem Gesamtvolumen von 5 μ l über einen Zeitraum von 2 min, dies beinhaltete die wirksame Substanz mit dem entsprechenden Lösungsmittel. Dabei kamen für die einzelnen Versuchskomplexe folgende pharmakologische Substanzen mit den angegebenen spezifischen Konzentrationen zum Einsatz:

early-LTP-VTAhfs

- D1/D5-Rezeptorantagonist SCH23390 (Sigma-Aldrich, Steinheim, Deutschland; Konzentration: 3,08 nmol, gelöst in 0,9 %iger physiologischer Kochsalzlösung)

- Proteinsyntheseblocker Anisomycin (Sigma-Aldrich, Steinheim, Deutschland;
Konzentration: 0,905 μmol , gelöst in einer gepufferten Lösung aus 0,9 %iger physiologischer Kochsalzlösung, 1 N HCL und 1 N NaOH)
- Proteinsyntheseblocker Emetin (Sigma-Aldrich, Steinheim, Deutschland;
Konzentration: 0,5 μmol , gelöst in 0,9 %iger physiologischer Kochsalzlösung)

Test-VTAhfs

- D1/D5-Rezeptorantagonist SCH23390 (Sigma-Aldrich Steinheim, Deutschland;
Konzentration: 3,08 nmol, gelöst in 0,9 %iger physiologischer Kochsalzlösung)
- NMDA-Rezeptorblocker AP5 (Tocris, Bristol, UK; Konzentration: 100 nmol, gelöst in 0,9%iger physiologischer Kochsalzlösung)
- 0,9 %ige physiologischer Kochsalzlösung (pharmakologische Kontrollgruppe)

early-LTD-VTAhfs

- D1/D5-Rezeptorantagonist SCH23390 (Sigma-Aldrich Steinheim, Deutschland;
Konzentration: 3,08 nmol, gelöst in 0,9 %iger physiologischer Kochsalzlösung)
- 0,9 %ige physiologischer Kochsalzlösung (pharmakologische Kontrollgruppe)

2.4. Histologie

Bevor die Entnahme der Gehirne erfolgte, wurden die Tiere mit einer letalen Dosis von Halotan getötet. Nach der Entnahme der Gehirne erfolgte deren Vorbereitung für das Anfertigen von Gefrierschnitten. Dabei wurden die Gehirne bei -60°C schnell tiefgefroren und dann bei -20°C aufbewahrt. Für die Verifizierung der Elektrodenpositionen und der exakten Position der i.c.v.-Kanüle im lateralen Ventrikel wurden $40\mu\text{m}$ dünne Gefrierschnitte angefertigt, auf einem Objektträger aufgezogen und eine Tuloidinblau-Übersichtsfärbung durchgeführt. In der Abbildung 18 sind Beispiele zur Lokalisation der Stimulations- und Ableitorte dargestellt.

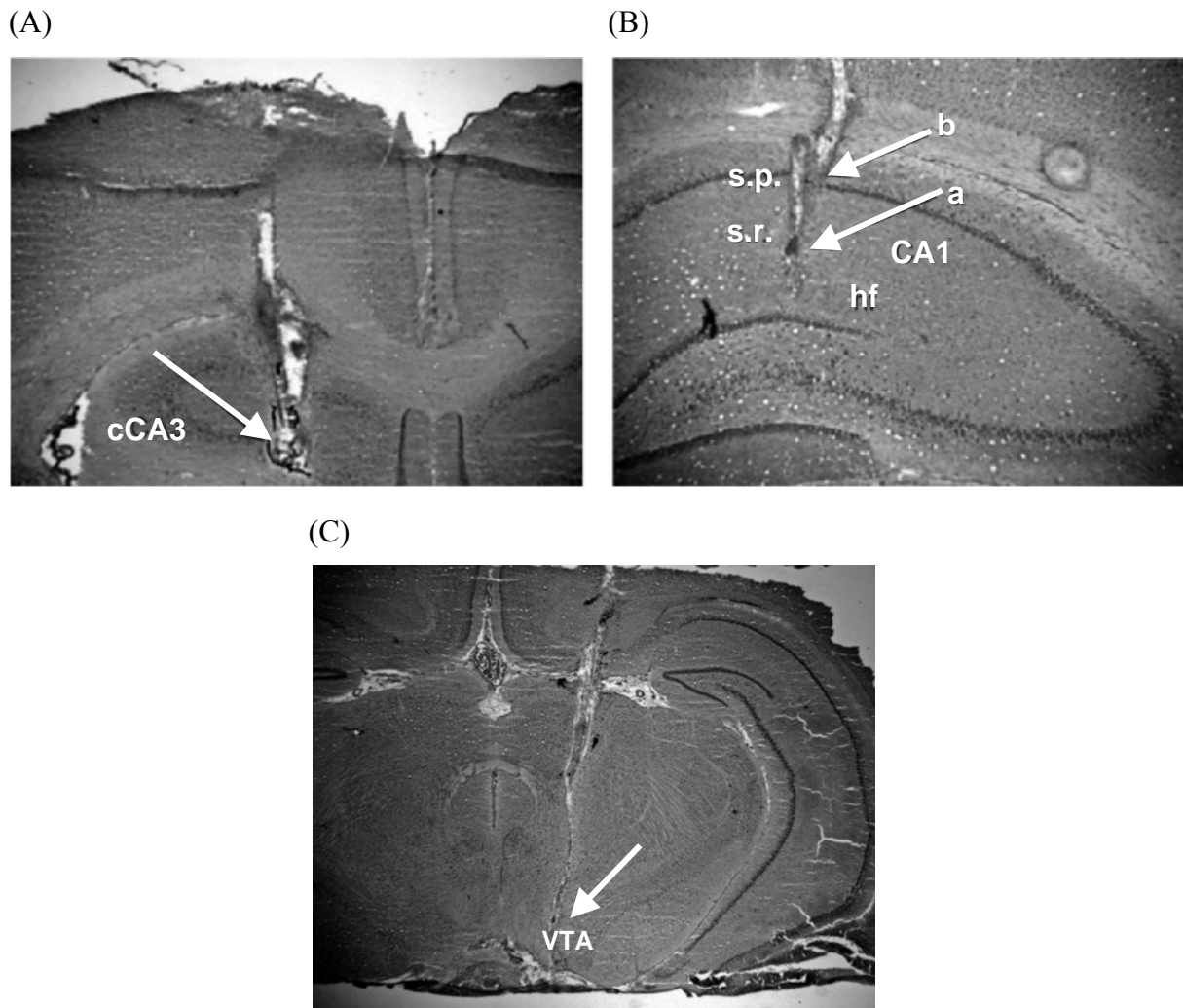


Abb. 18. (A) Beispiel eines histologischen Nachweises der Position des Stimulationsortes in der CA3 Region des Hippokampus, (B) der Position einer „Doppel“-ableitelektrode in der CA1 Region des Hippokampus mit (a) dem längeren Teil dieser Elektrode im Stratum radiatum und (b) dem kürzeren Teil im Stratum pyramidale und (C) der Position der Stimulationselektrode in der VTA (cCA3: kontralaterale cornu ammonis 3; CA1: cornu ammonis 1; hf: Hippokampale Fissur; s.p. Stratum pyramidale; s.r. Stratum radiatum; VTA: ventrales tegmentales Areal)

2.5. Statistik

Für die statistische Absicherung der Versuchsdaten kam zum Vergleich innerhalb der einzelnen Gruppen der parameterfreie Wilcoxon-signed rank Test zum Einsatz und zum Vergleich zwischen den Gruppen wurde der parameterfreie Mann-Whitney U-Test eingesetzt. Als statistisch signifikant wurde ein Wert von $p < 0,05$ festgesetzt.

3. Ergebnisse

3.1. Aufnahmen zur Stabilitätskontrolle von fEPSP und PS

Eine wichtige Grundlage für die durchgeführten Untersuchungen bildeten die Stabilitätskontrollen, wobei über einen Zeitraum von 24 h durch Stimulation der cCA3 mittels Teststimulationen die evozierten Potentiale (fEPSP und PS) in der CA1 Region aufgezeichnet und deren fEPSP-slope und PSA ermittelt wurden. Es zeigte sich, dass sowohl das fEPSP, als auch der PS stabil über diesen langen Zeitraum abgeleitet werden konnten ($p > 0,05$; Wilcoxon-signed rank test) (Abb. 19). Als Bezugspunkt zur Stabilitätskontrolle der Aufnahmen von fEPSP und PS über einen Versuchszeitraum von 24 h wurden die 60 min Baselineaufnahmen vor Beginn des 24 h Versuches herangezogen. Diese Charakterisierung der Baseline wird in allen dargestellten Grafiken und innerhalb dieser gesamten Arbeit verwendet. Die durchschnittlichen Werte für die 60 min Baseline des fEPSP-slopes betragen $99,9 \pm 2,33 \%$ und die 8 h Aufnahmen lagen bei $95,2 \pm 1,48 \%$. Die durchschnittlichen Werte für die 60 min Baseline der PSA betragen $99,8 \pm 4,68 \%$ und die 8 h Aufnahmen lagen bei $97,7 \pm 3,83 \%$.

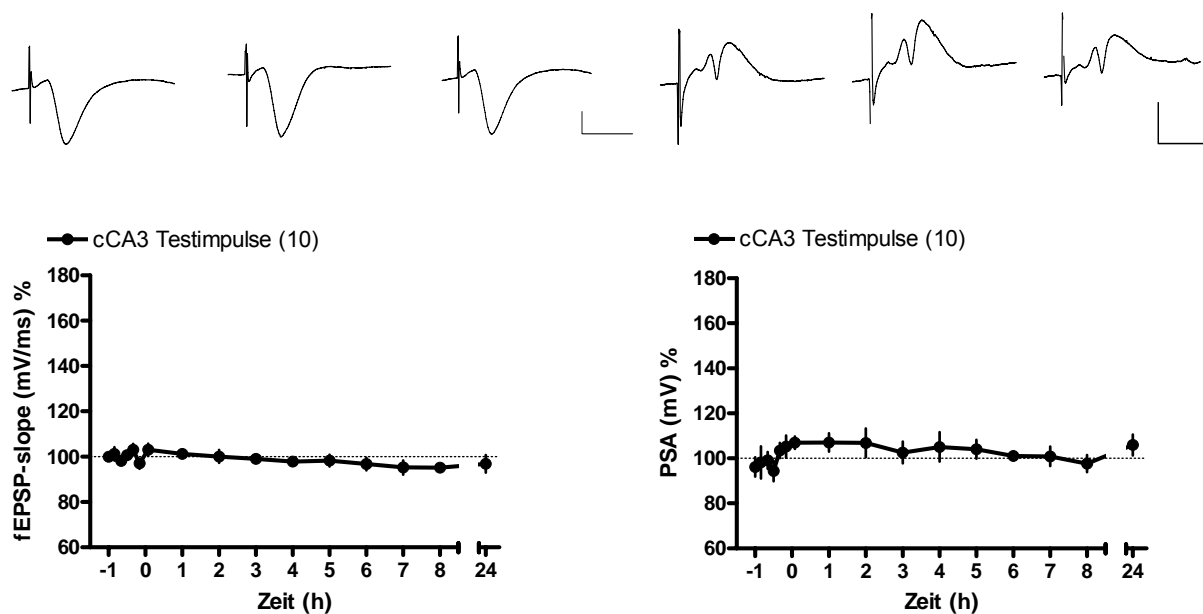


Abb. 19. Zeitverlauf der 24 h Stabilitätskontrollen. Im linken Diagramm dieser Abbildung ist der Zeitverlauf des fEPSP-slopes und im rechten Diagramm ist der Zeitverlauf für die PSA in

prozentualen Mittelwertsangaben \pm SEM dargestellt (schwarzer Kurvenverlauf, geschlossene Kreise), wobei deren prozentuale Änderungen immer im Verhältnis zur jeweiligen Baseline stehen.

Im oberen Bereich dieser Abbildung sind Analogbeispiele für das fEPSP (links) und für den PS (rechts) dargestellt. Dabei ist jeweils links eine Baselineaufnahme, in der Mitte eine 5 min Aufnahme nach dem Zeitpunkt 0 und rechts eine 8 h Aufnahme abgebildet (Skalierung 2mV/10ms). In Klammern hinter dem jeweiligen Stimulationsprotokoll ist die Anzahl der Versuchstiere angegeben.

←

3.2. Induktion einer early-LTP und deren Modulation durch elektrische hochfrequente Stimulation der VTA (VTAhfs)

3.2.1. Induktion einer early-LTP

Es konnte gezeigt werden, dass eine Tetanisierung der cCA3 mit dem PB-Protokoll zur Induktion einer early-LTP für fEPSP und PS in der CA1 führt (Abb. 20). Dabei wurde eine initiale Potenzierung für den fEPSP-slope von $137,4 \pm 10,14$ % gemessen (5 min Wert nach PB, $p < 0,05$; Wilcoxon-signed rank test). Diese Potenzierung war signifikant erhöht für 4 Stunden nach der PB-Stimulation, verglichen mit der Stabilitätskontrollgruppe ($p < 0,05$; Mann-Whitney U-Test). Nach 5 h erreichte der Wert für den fEPSP-slope wieder das Niveau der Baseline ($106,2 \pm 6,33$ %; $p > 0,05$; Wilcoxon-signed rank test).

Die initiale Potenzierung für die PSA wies einen Wert von $238,6 \pm 34,64$ % (5 min Wert nach PB, $p < 0,05$; Wilcoxon-signed rank test) auf. Diese Potenzierung war für 7 h nach der PB-Stimulation statistisch signifikant erhöht verglichen mit der Stabilitätskontrollgruppe ($p < 0,05$; Mann-Whitney U-Test). Nach 8 h erreichte der Wert für die PSA wieder das Niveau der Baseline ($127,2 \pm 9,13$ %; $p > 0,05$; Wilcoxon-signed rank test). Bei der Stabilitätskontrollgruppe konnten für das fEPSP, wie ebenfalls für den PS stabile Potentiale über einen Zeitraum von 24 h registriert werden (fEPSP-slope: 8 h ($95,2 \pm 1,48$ %); PSA: 8 h ($98,7 \pm 2,83$ %); Abb.20).

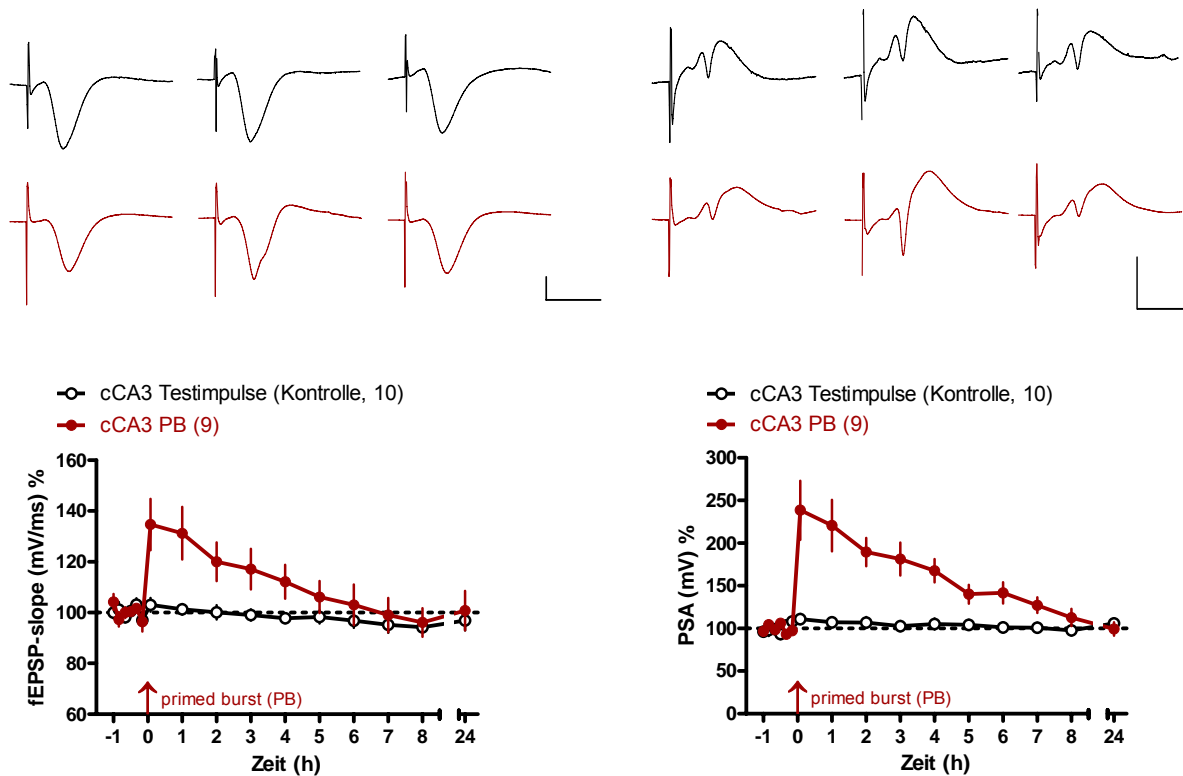


Abb. 20. 24 h Zeitverlauf für das fEPSP und den PS bei Teststimulation und Verwendung eines schwachen Tetanisierungsprotokolls (PB-Stimulation). Die hier dargestellten Graphen repräsentieren die Zeitverläufe des fEPSP-slopes (links) und der PSA (rechts) für die Induktion einer early-LTP (roter Kurvenverlauf, geschlossene Kreise) und die jeweiligen Stabilitätskontrollen (schwarzer Kurvenverlauf, offene Kreise) in prozentualen Mittelwertsangaben \pm SEM, wobei deren prozentuale Änderungen immer im Verhältnis zur jeweiligen Baseline stehen. Der Tetanisierungszeitpunkt ist durch einen Pfeil beim Zeitpunkt „0“ markiert.

Im oberen Bereich dieser Abbildung sind Analogbeispiele für das fEPSP (links) und für den PS (rechts) dargestellt. Dabei ist jeweils links eine Baselineaufnahme, in der Mitte eine 5 min Aufnahme nach dem Zeitpunkt 0 und rechts eine 8 h Aufnahme abgebildet, wobei die jeweils oberen Analogbeispiele die Stabilitätskontrollen und die unteren Analogbeispiele die Induktion einer early-LTP verdeutlichen (Skalierung 2mV/10ms). In Klammern hinter dem jeweiligen Stimulationsprotokoll ist die Anzahl der Versuchstiere angegeben.

3.2.2. Verstärkung einer early-LTP in eine late-LTP durch VTAHfs

In früheren Studien der Abteilung für Neurophysiologie am Leibniz-Institut für Neurobiologie erfolgten bereits Untersuchungen, vor allem im DG, wobei es durch elektrische Stimulation plastizitätsrelevanter Areale, wie zum Beispiel der BLA, zur Überführung einer early-LTP in eine late-LTP kam (Frey et al., 2001). Dabei wurden die plastizitätsrelevanten Areale zum Beispiel zu einem Zeitpunkt 15 min nach Induktion einer transienten LTP elektrisch stimuliert. Dieser Zeitpunkt zeigte bei Untersuchungen im DG deutliche Verstärkungseffekte einer early-LTP in eine late-LTP. Somit wurde dieser spezifische Zeitpunkt von 15 min nach der Induktion einer transienten LTP auch in dieser hier vorgelegten Arbeit VTAHfs genutzt. In diesem Versuchsabschnitt wurde der Einfluss der VTAHfs auf die Plastizität des fEPSP und PS in der CA1 Region untersucht. Diese VTAHfs zu einem spezifischen Zeitpunkt, in diesem Fall 15 min nach der PB-Stimulation, führte zu einer Verstärkung einer transienten LTP in eine late-LTP, sowohl für das fEPSP, als auch für den PS (Abb. 21). Diese verlängerte Potenzierung wurde über den gesamten 24stündigen Zeitverlauf der Potentialaufzeichnung registriert. Dabei war der fEPSP-slope von der 6. h bis zu den 24 h Aufnahmen signifikant erhöht gegenüber der early-LTP Kontrollgruppe ($p < 0,05$; Mann-Whitney U-Test) und die PSA von der 4. h bis zu den 24 h Aufnahmen ebenfalls signifikant gegenüber der early-LTP Kontrollgruppe erhöht ($p < 0,05$; Mann-Whitney U-Test). Der Kurvenverlauf der verstärkten LTP war von dem 5 min-Wert nach PB-Stimulation bis zu den 24 h Aufnahmen signifikant gegenüber der zugehörigen Baseline für das fEPSP und den PS erhöht ($P < 0,05$; Wilcoxon-signed rank test). Die Mittelwerte der Initialpotenzierungen, der Gruppe mit VTAHfs (5 min Wert nach PB: fEPSP: $140,0 \pm 7,37$; PS: $248,1 \pm 25,44$ %) unterschieden sich nicht signifikant von der early-LTP Kontrollgruppe (5 min Wert nach PB: fEPSP: $134,7 \pm 10,14$; PS: $238,6 \pm 34,64$ %) ($p > 0,05$; Mann-Whitney U-Test).

Der Einfluss der VTAHfs vor Induktion einer early-LTP auf deren Induktion und Verlauf konnte im zeitlichen Rahmen der Dissertation nicht durchgeführt werden. Diese Untersuchung ist jedoch für weitere Studien vorgesehen.

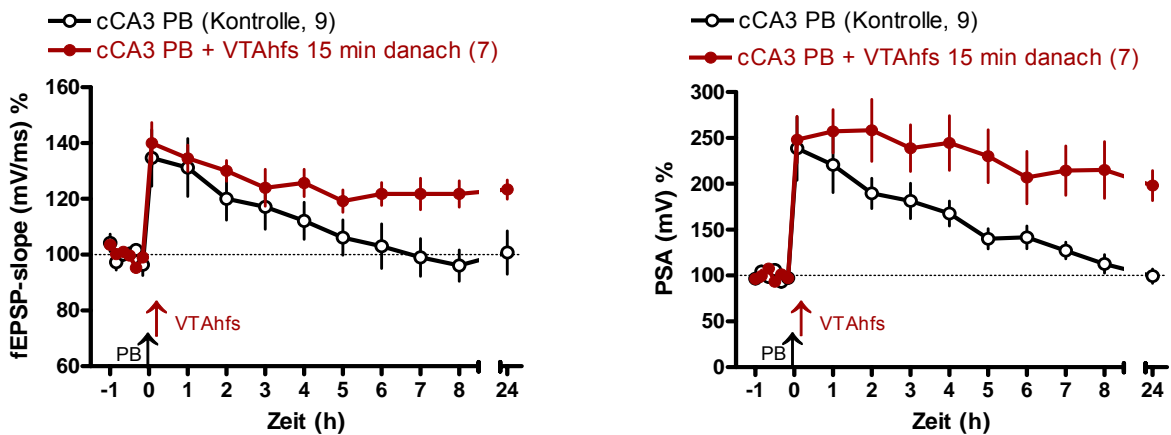
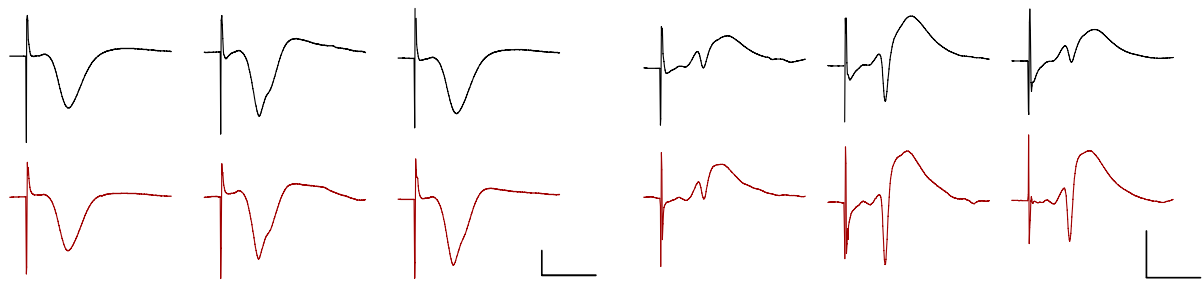


Abb. 21. Einfluss der VTAhfs auf den Zeitverlauf einer early-LTP. Die hier dargestellten Graphen repräsentieren die Zeitverläufe des fEPSP-slopes (links) und der PSA (rechts) für die Verstärkung einer early-LTP durch VTAhfs (roter Kurvenverlauf, geschlossene Kreise) und der zugehörigen early-LTP Kontrollen (schwarzer Kurvenverlauf, offene Kreise) in prozentualen Mittelwertsangaben \pm SEM, wobei deren prozentuale Änderungen immer im Verhältnis zur jeweiligen Baseline stehen. Die Tetanisierungszeitpunkte sind durch Pfeile markiert.

Im oberen Bereich dieser Abbildung sind Analogbeispiele für das fEPSP (links) und für den PS (rechts) dargestellt. Dabei ist jeweils links eine Baselineaufnahme, in der Mitte eine 5 min Aufnahme nach dem Zeitpunkt 0 und rechts eine 8 h Aufnahme abgebildet, wobei die jeweils oberen Analogbeispiele die early-LTP Kontrollen und die unteren Analogbeispiele die Verstärkung einer early-LTP in eine late-LTP verdeutlichen (Skalierung 2mV/10ms). In Klammern hinter dem jeweiligen Stimulationsprotokoll ist die Anzahl der Versuchstiere angegeben.

3.2.3. Pharmakologische Untersuchungen zur Überführung einer early-LTP in eine late-LTP durch VTAhfs

Es konnte festgestellt werden, dass es durch die VTAhfs zur Verstärkung einer induzierten early-LTP für das fEPSP und den PS in der CA1 Region kommt. In den darauf folgenden pharmakologischen Untersuchungen wurde geklärt, ob diese Verstärkung zum einen durch die Blockierung der D1/D5-Rezeptoren und zum anderen durch die Unterdrückung der Proteinsynthese verhindert werden konnte.

3.2.3.1. Einfluss der Applikation eines D1/D5-Rezeptorantagonisten

Es erfolgte die Induktion einer early-LTP durch das PB-Protokoll und deren Verstärkung durch die VTAhfs 15 nach Induktion der LTP (early-LTP-VTAhfs). Dieser Versuchsablauf diente dabei als early-LTP-VTAhfs Kontrollgruppe. Für die pharmakologische Experimentalgruppe mit der intracerebroventriculären Applikation des D1/D5-Rezeptorantagonisten SCH23390 10 min vor VTAhfs konnte gezeigt werden, dass diese Applikation die Überführung der early-LTP in eine late-LTP für das fEPSP und den PS in der CA1 Region verhinderte (Abb. 22).

Dabei war der fEPSP-slope von der 2. h bis zu den 24 h Aufnahmen signifikant erniedrigt gegenüber der early-LTP-VTAhfs Kontrollgruppe ($p < 0,05$; Mann-Whitney U-Test) und die PSA von der 1. h bis zu den 24 h Aufnahmen ebenfalls signifikant erniedrigt gegenüber der early-LTP-VTAhfs Kontrollgruppe ($p < 0,05$; Mann-Whitney U-Test).

Nach 3 h erreichte der Wert für den fEPSP-slope wieder das Niveau der Baseline ($105,7 \pm 4,57$ %; $p > 0,05$; Wilcoxon-signed rank test), wobei festgestellt wurde, dass das Niveau der Baseline ab der 6. h unterschritten wurde und von diesem Zeitpunkt an bis zum Ende des 24 h Experimentes signifikant erniedrigt gegenüber der Baseline war (8 h-Wert: $89,0 \pm 3,99$; $p < 0,05$; Wilcoxon-signed rank test). Auf mögliche Ursachen dieses Unterschreitens des Niveaus der Baseline im Bereich der späten Phase der LTP wird unter Punkt 4.2.1. der Diskussion eingegangen werden. Nach 5 h erreichte der Wert für die PSA ebenfalls wieder das Niveau der Baseline ($114,1 \pm 10,03$ %; $p > 0,05$; Wilcoxon-signed rank test), welches bis zum Ende des 24 h Experiments gehalten wurde (8 h-Wert: $98,4 \pm 9,32$; $P > 0,05$; Wilcoxon-signed rank test).

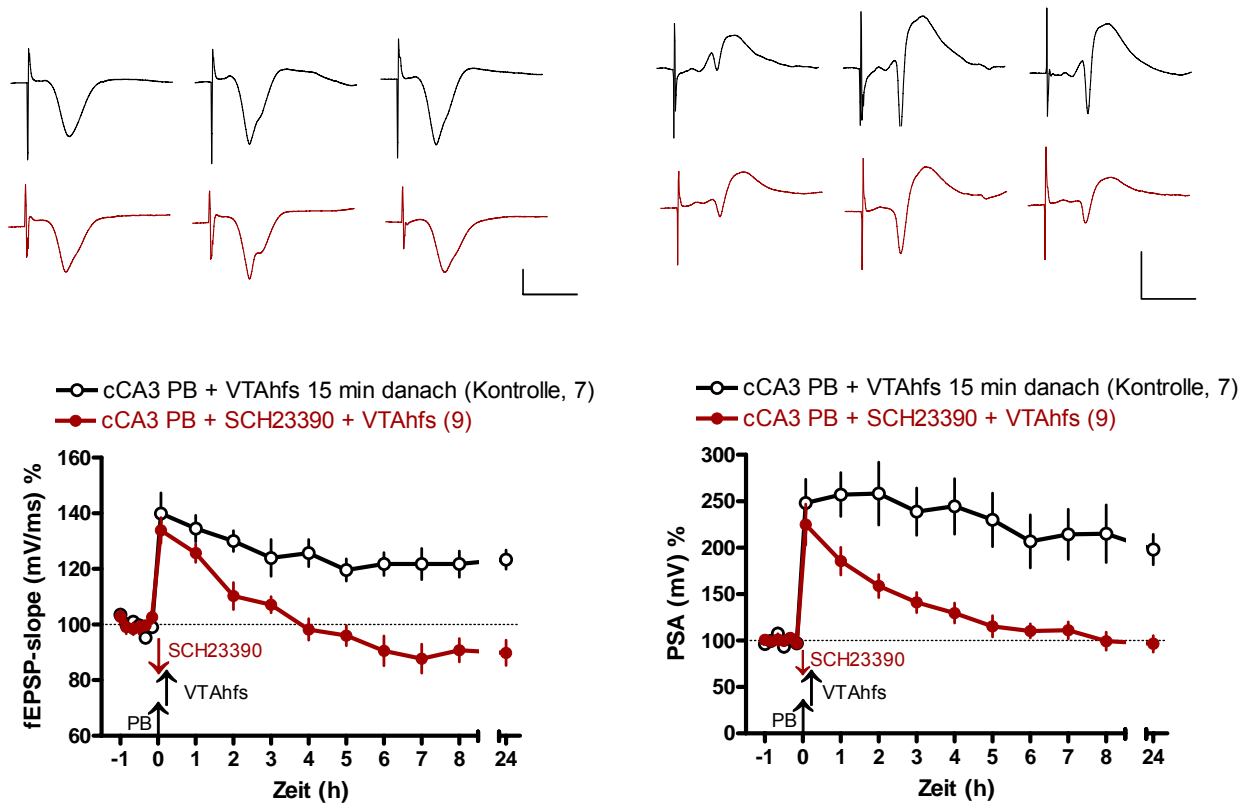


Abb. 22. Einfluss der D1/D5-Rezeptorblockade auf die Verstärkung einer induzierten early-LTP. Die hier dargestellten Graphen repräsentieren den zeitlichen Verlauf des prozentualen fEPSP-slopes (links) und der PSA (rechts) bei intracerebroventriculärer Applikation des D1/D5-Rezeptorantagonisten SCH23390 nach PB-Stimulation und 10 min vor VTAhfs (roter Kurvenverlauf, geschlossene Kreise) sowie die jeweiligen early-LTP-VTAhfs Kontrollen (schwarzer Kurvenverlauf, offene Kreise) in prozentualen Mittelwertsangaben \pm SEM, wobei deren prozentuale Änderungen immer im Verhältnis zur jeweiligen Baseline stehen. Die Tetanisierungszeitpunkte und der Zeitpunkt der Applikation sind durch Pfeile markiert.

Im oberen Bereich dieser Abbildung sind Analogbeispiele für das fEPSP (links) und für den PS (rechts) dargestellt. Dabei ist jeweils links eine Baselineaufnahme, in der Mitte eine 5 min Aufnahme nach dem Zeitpunkt 0 und rechts eine 8 h Aufnahme abgebildet, wobei die jeweils oberen Analogbeispiele die early-LTP-VTAhfs Kontrollen und die unteren Analogbeispiele eine durch Applikation von SCH23390 verhinderte Verstärkung der early-LTP verdeutlichen (Skalierung 2mV/10ms). In Klammern hinter dem jeweiligen Stimulationsprotokoll ist die Anzahl der Versuchstiere angegeben.

3.2.3.2. Einfluss der Applikation zweier Proteinsynthesenblocker

In diesem Versuchsabschnitt wurde die Abhängigkeit der Verstärkung der early-LTP von dem Vorhandensein von Proteinsynthese untersucht.

Die Proteinsynthesenblocker Anisomycin (Abb. 23A) oder Emetin (Abb. 23B) wurden jeweils 10 min vor der VTAhfs intracerebroventriculär appliziert und verhinderten beide die Verstärkung der induzierten early-LTP zu einer late-LTP. Dabei war der fEPSP-slope von der 2. h bis zu den 24 h Aufnahmen signifikant erniedrigt bei Applikation von Anisomycin gegenüber der early-LTP-VTAhfs Kontrollgruppe (Abb. 23A) sowie von der 1. h bis zu den 24 h Aufnahmen bei Applikation von Emetin ebenfalls signifikant erniedrigt gegenüber der early-LTP-VTAhfs Kontrollgruppe (Abb. 23B) ($p < 0,05$; Mann-Whitney U-Test). Die ermittelte PSA war von der 2. h bis zu den 24 h Aufnahmen signifikant erniedrigt (Applikation von Anisomycin) gegenüber der early-LTP-VTAhfs Kontrollgruppe (Abb. 23A) sowie von der 1. h bis zu den 24 h Aufnahmen bei Applikation von Emetin ebenfalls signifikant erniedrigt gegenüber der early-LTP-VTAhfs Kontrollgruppe (Abb. 23B) ($p < 0,05$; Mann-Whitney U-Test).

Nach 2 h erreichte der Wert für den fEPSP-slope bei Applikation von Anisomycin wieder das Niveau der Baseline ($103,1 \pm 7,61$ %; $p > 0,05$; Wilcoxon-signed rank test) und unterschied sich bis zum Ende des 24 h Experiments nicht mehr signifikant von dieser (8 h-Wert: $88,8 \pm 7,85$; $p > 0,05$; Wilcoxon-signed rank test). Nach 4 h erreichte der Wert für die PSA bei Applikation von Anisomycin ebenfalls wieder das Niveau der Baseline ($123,6 \pm 14,89$ %; $P > 0,05$; Wilcoxon-signed rank test), welches sich bis zum Ende des 24 h Experiments nicht mehr signifikant von dieser unterschied (8 h-Wert: $91,3 \pm 9,16$ %; $P > 0,05$; Wilcoxon-signed rank test). Durch die Applikation des Proteinsynthesenblockers Emetin wurde ebenfalls die Verstärkung einer early-LTP für fEPSP und PS in eine late-LTP durch VTAhfs verhindert. Durch die geringe Anzahl der Versuchstiere (3) innerhalb dieser Gruppe kann zunächst einmal nur von einem vorläufigen Endergebnis gesprochen werden. Für ein endgültiges Ergebnis ist eine größere Anzahl von Versuchstieren notwendig. Dies wird in den folgenden Untersuchungen durchgeführt werden.

Auf mögliche Ursachen des Unterschreitens des Niveaus der Baseline des fEPSP im Bereich der späten Phase der LTP wird unter Punkt 4.2.1. der Diskussion eingegangen werden. Es ist jedoch festzuhalten, dass diese Erniedrigung des Baseliniveaus bei der Applikation von Anisomycin nicht signifikant war und bei der Applikation mit Emetin es sich nur um ein vorläufiges Endergebnis handelt, da die Anzahl der Versuchstiere noch zu gering war.

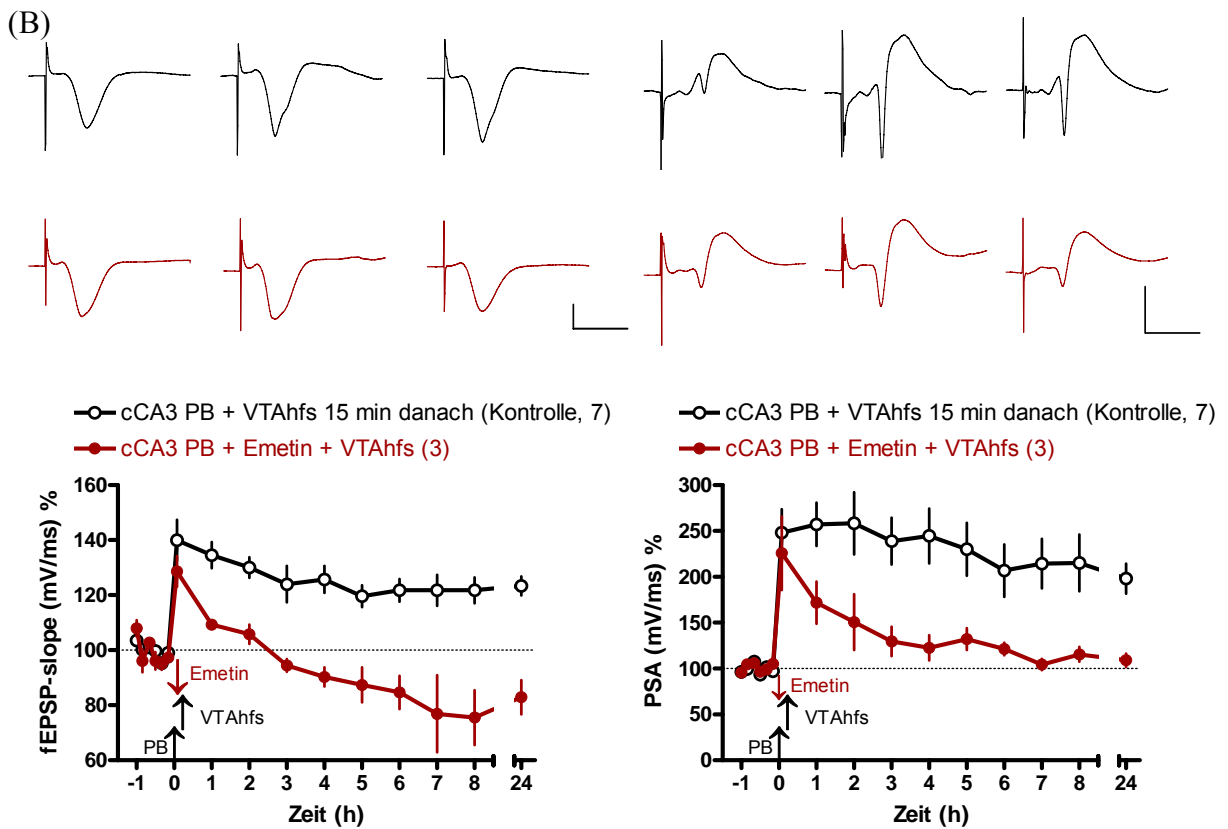
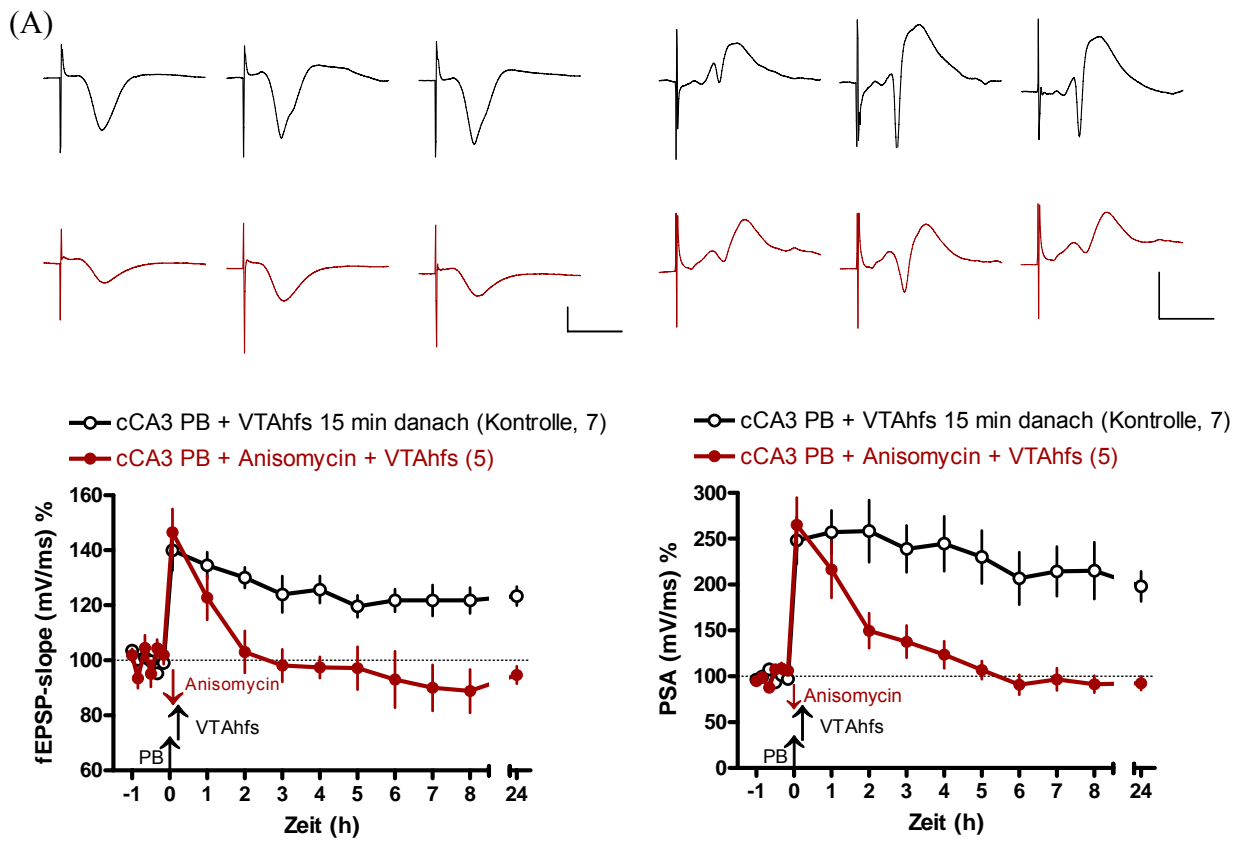


Abb. 23. Einfluss der Proteinsyntheseblockade auf die Verstärkung der induzierten early-LTP. Die hier dargestellten Graphen repräsentieren den zeitlichen Verlauf des prozentualen fEPSP-slopes (links) und der PSA (rechts) bei intracerebroventriculärer Applikation der Proteinsyntheseblocker (A) Anisomycin oder (B) Emetin nach PB-Stimulation und 10 min vor VTAhfs (roter Kurvenverlauf, geschlossene Kreise) sowie die jeweiligen early-LTP-VTAhfs Kontrollen (schwarzer Kurvenverlauf, offene Kreise) in prozentualen Mittelwertsangaben \pm SEM, wobei deren prozentuale Änderungen immer im Verhältnis zur jeweiligen Baseline stehen. Die Tetanisierungszeitpunkte und der Zeitpunkt der Applikation sind durch Pfeile markiert.

Im oberen Bereich dieser Abbildungen sind jeweils Analogbeispiele für das fEPSP (links) und für den PS (rechts) dargestellt. Dabei ist jeweils links eine Baselineaufnahme, in der Mitte eine 5 min Aufnahme nach dem Zeitpunkt 0 und rechts eine 8 h Aufnahme abgebildet, wobei die jeweiligen oberen Analogbeispiele die early-LTP-VTAhfs Kontrollen und die unteren Analogbeispiele eine durch Applikation von (A) Anisomycin und (B) Emetin verhinderte Verstärkung der early-LTP verdeutlichen (Skalierung 2mV/10ms). In Klammern hinter dem jeweiligen Stimulationsprotokoll ist die Anzahl der Versuchstiere angegeben.

←

3.3. Einfluss der VTAhfs auf die hippokampale CA1

3.3.1. Induktion einer delayed-onset Potenzierung

Nach den Untersuchungen des Einflusses der VTAhfs auf eine durch PB-Stimulation der cCA3 bereits induzierte LTP, stellte sich nun die Frage nach einer eventuellen Beeinflussung des fEPSP und PS durch VTAhfs auf Teststimulationen (Test-VTAhfs) ohne vorherige Applikation eines weiteren Tetanisierungsprotokolls über die cCA3. Es konnte festgestellt werden, dass die VTAhfs zu einer so genannten delayed-onset Potenzierung für fEPSP und PS in der CA1, bei weiterer Applikation von Testimpulsen über die cCA3, führte (Abb. 24). Diese delayed-onset Potenzierung beschreibt einen langsamen, verzögerten Anstieg des fEPSP-slopes und der PSA nach VTAhfs. Der fEPSP-slope erreichte sein Maximum in der 7. h ($127,9 \pm 6,28\%$), wobei sich jedoch schon von der 4. bis 6. h nach VTAhfs eine Plateau zeigte (4 h-Wert: $118,8 \pm 5,07\%$). Die PSA erreicht ihren Maximalwert in der 5. h ($147,7 \pm$

12,98%). Der Zeitverlauf der induzierten delayed-onset Potenzierung war für das fEPSP von der 2. h bis zu den 24 h Aufnahmen signifikant erhöht gegenüber der Stabilitätskontrollgruppe ($p < 0,05$; Mann-Whitney U-Test). Der Zeitverlauf der induzierten delayed-onset Potenzierung für den PS zeigte eine signifikante Erhöhung gegenüber der Stabilitätskontrollgruppe von der 1. h bis zur 8. h ($p < 0,05$; Mann-Whitney U-Test). Bei der statistischen Auswertung nach dem Wilcoxon-signed rank Test war der fEPSP-slope von der 1. h bis zur 24. h nach VTAhfs signifikant erhöht ($p < 0,05$) und die PSA war ebenfalls von der 1. h bis zur 24. h signifikant erhöht ($p < 0,05$).

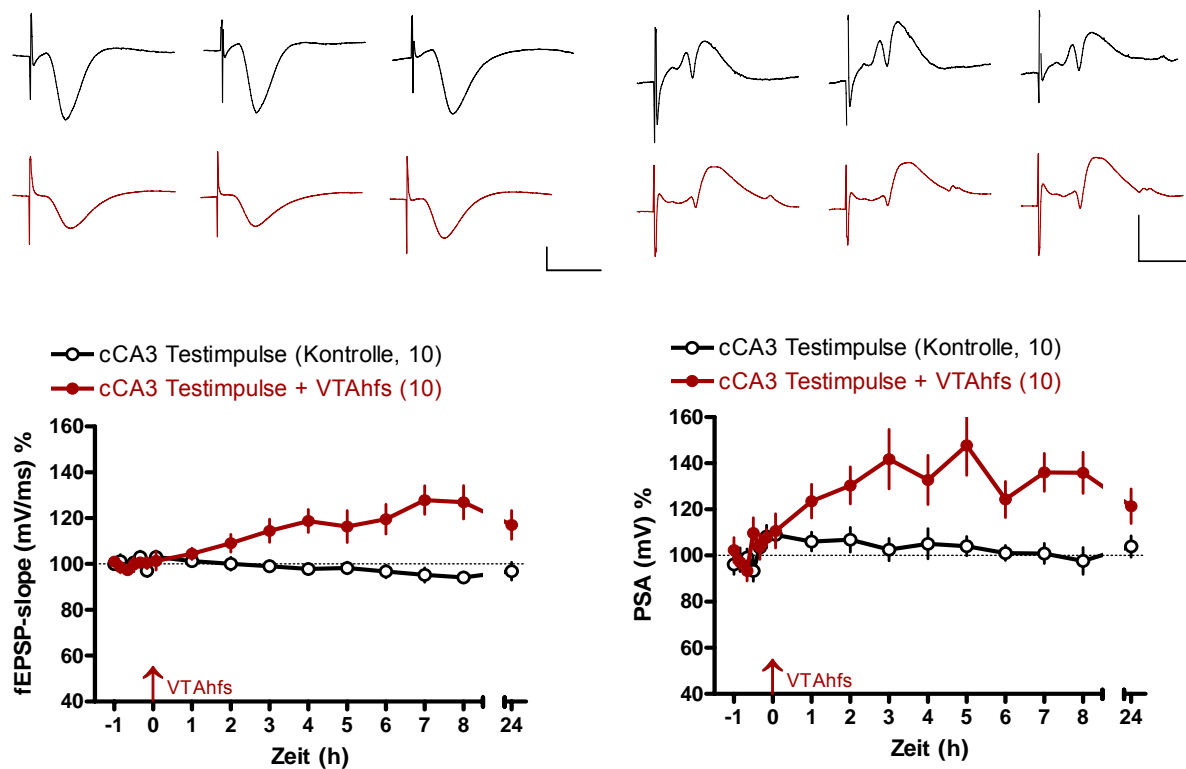


Abb. 24. Induktion einer delayed-onset Potenzierung. Die hier dargestellten Graphen repräsentieren den zeitlichen Verlauf des prozentualen fEPSP-slopes (links) und der PSA (rechts) bei VTAhfs zum Zeitpunkt 0 (roter Kurvenverlauf, geschlossene Kreise) sowie die jeweiligen Stabilitätskontrollen (schwarzer Kurvenverlauf, offene Kreise) in prozentualen Mittelwertsangaben \pm SEM, wobei deren prozentuale Änderungen immer im Verhältnis zur jeweiligen Baseline stehen. Der Tetanisierungszeitpunkt ist durch einen Pfeil markiert.

Im oberen Bereich dieser Abbildungen sind jeweils Analogbeispiele für das fEPSP (links) und für den PS (rechts) dargestellt. Dabei ist jeweils links eine Baselineaufnahme, in der Mitte eine 5 min Aufnahme nach dem Zeitpunkt 0 und rechts eine 8 h Aufnahme abgebildet, wobei

die jeweiligen oberen Analogbeispiele die Stabilitätskontrollen und die unteren Analogbeispiele die Induktion einer delayed-onset Potenzierung durch VTAhfs (Test-VTAhfs) verdeutlichen (Skalierung 2mV/10ms). In Klammern hinter dem jeweiligen Stimulationsprotokoll ist die Anzahl der Versuchstiere angegeben.

←

3.3.2. Abhängigkeit der delayed-onset Potenzierung von der glutamatergen Rezeptoraktivierung

Um die Ursachen dieser delayed-onset Potenzierung in Bezug auf die spezifische Rezeptoraktivierung zu untersuchen, erfolgte nach der Aufnahme einer stabilen Baseline ebenfalls die VTAhfs. Dabei fand jedoch, bei dieser Experimentalgruppe, in den darauf folgenden 3 h keine Stimulation der cCA3 durch Testimpulse statt und somit erfolgte keine glutamaterge Rezeptoraktivierung. Es zeigte sich dabei, dass es durch dieses Ausbleiben der glutamatergen Rezeptoraktivierung zu keiner Potenzierung für fEPSP und PS kam (Abb. 25). Die Messung des fEPSP-Slopes (3 h-Wert: $103,6 \pm 5,24$ %; 8 h-Wert: $93,3 \pm 2,97$ %) und der PSA (3 h-Wert: $102,5 \pm 5,79$ %; 8 h-Wert: $98,0 \pm 5,14$ %) bewegten sich nach dieser 3stündigen Pause um das Niveau der Baseline bis zum Ende des 24 h Experiments. Dabei waren die gemessenen Werte nach der 3stündigen Stimulationspause für den fEPSP-Slope statistisch signifikant erniedrigt in der 4. h sowie von der 6. h bis zu den 24 h Aufnahmen gegenüber der Test-VTAhfs Kontrollgruppe und die Werte für die PSA von der 3. h zu den 24 h Aufnahmen ($p < 0,05$; Mann-Whitney U-Test).

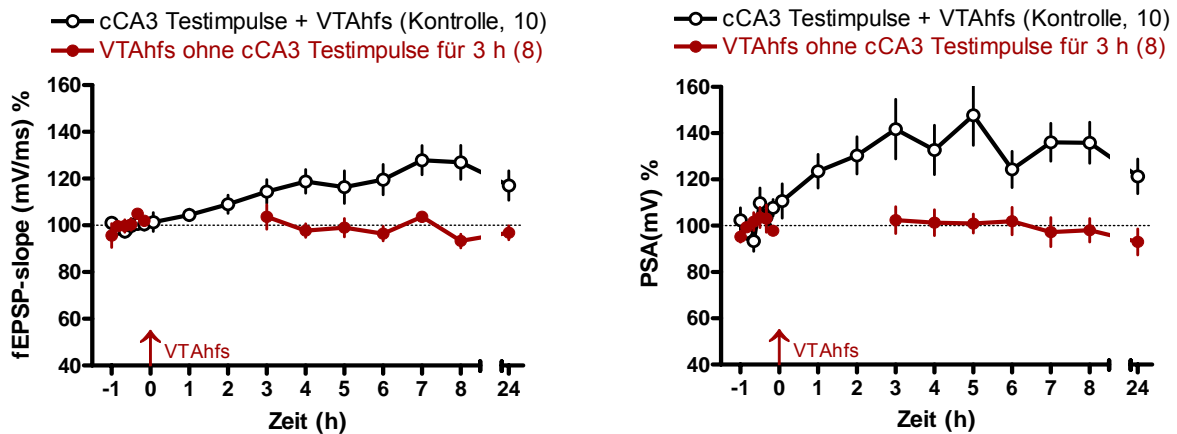
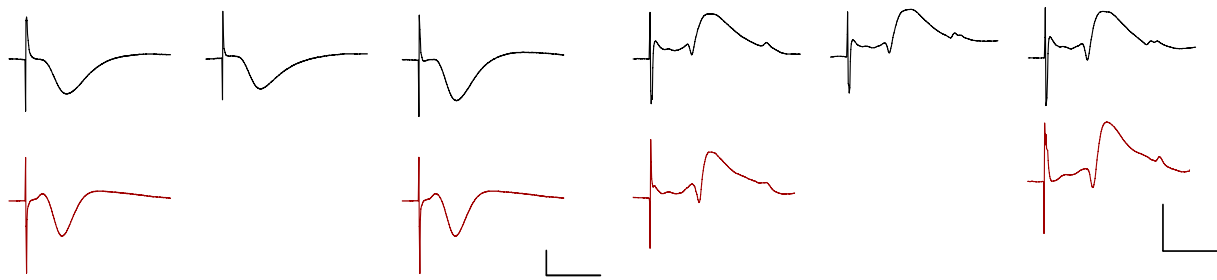


Abb. 25. Glutamaterge Rezeptoraktivierung ist notwendig für die Induktion einer delayed-onset Potenzierung. Die hier dargestellten Graphen repräsentieren den zeitlichen Verlauf des prozentualen fEPSP-slopes (links) und der PSA (rechts) bei VTAhfs zum Zeitpunkt 0, jedoch ohne glutamaterge Rezeptoraktivierung für 3 h nach VTAhfs (roter Kurvenverlauf, geschlossene Kreise) sowie die jeweiligen Test-VTAhfs Kontrollen (schwarzer Kurvenverlauf, offene Kreise) in prozentualen Mittelwertsangaben \pm SEM, wobei deren prozentuale Änderungen immer im Verhältnis zur jeweiligen Baseline stehen. Der Tetanisierungszeitpunkt ist durch einen Pfeil markiert.

Im oberen Bereich dieser Abbildungen sind jeweils Analogbeispiele für das fEPSP (links) und für den PS (rechts) dargestellt. Dabei ist jeweils links eine Baselineaufnahme, in der Mitte eine 5 min Aufnahme nach dem Zeitpunkt 0 und rechts eine 8 h Aufnahme abgebildet, wobei die jeweiligen oberen Analogbeispiele die Test-VTAhfs Kontrollen und die unteren Analogbeispiele das Fehlen einer glutamatergen Rezeptoraktivierung für 3 h nach VTAhfs verdeutlichen (Skalierung 2mV/10ms). In Klammern hinter dem jeweiligen Stimulationsprotokoll ist die Anzahl der Versuchstiere angegeben.

3.3.3. Pharmakologische Untersuchungen zur Induktion einer delayed-onset Potenzierung

Es wurde pharmakologisch untersucht, ob die Induktion einer delayed-onset Potenzierung, sowohl von der oben beschriebenen glutamatergen Rezeptoraktivierung, als auch von der dopaminergen Rezeptoraktivierung abhängig ist, demzufolge eine synergistische Aktivierung der NMDA- und D1/D5-Rezeptoren notwendig für die Ausbildung einer delayed-onset Potenzierung ist.

3.3.3.1. Einfluss der Applikation eines NMDA-Rezeptorantagonisten

Hier wurde ebenfalls, wie schon unter 3.3.1. beschrieben, das Induktionsprotokoll der Test-VTAhfs Gruppe eingesetzt, wobei dieses als eine Kontrollgruppe fungierte. Sowohl für die Experimentalgruppe mit Applikation von AP5, als auch für die NaCl-Kontrollgruppe wurde ebenfalls dieses Stimulationsprotokoll verwendet, wobei bei der pharmakologischen Experimentalgruppe die intracerebroventriculäre Applikation des NMDA-Rezeptorantagonisten AP5 und bei der pharmakologischen NaCl-Kontrollgruppe die intracerebroventriculäre Applikation von NaCl 10 min vor VTAhfs erfolgte. Dabei zeigte sich, dass die Applikation des NMDA-Rezeptorantagonisten AP5 die Induktion einer delayed-onset Potenzierung verhinderte (Abb. 26). Bei der NaCl-Kontrollapplikation konnte jedoch die Induzierung einer delayed-onset Potenzierung mittels VTAhfs normal erfolgen (Abb. 26). Dabei zeigte sich für die Experimentalgruppe mit Applikation von AP5 für den Zeitverlauf des fEPSP-slopes eine signifikante Erniedrigung von der 2. h bis zur 8. h gegenüber der Test-VTAhfs Kontrollgruppe und für den Zeitverlauf der PSA eine signifikante Erniedrigung nur bei der 1.h, von der 3. bis 5. h und 8. h ($p < 0,05$; Mann-Whitney U-Test). Für die pharmakologische NaCl-Kontrollgruppe ergab sich kein signifikanter Unterschied zur Test-VTAhfs Kontrollgruppe für fEPSP und PS ($p > 0,05$; Mann-Whitney U-Test). Der Vergleich der Experimentalgruppe mit Applikation von AP5 und der NaCl-Kontrollgruppe zeigte, dass die pharmakologische NaCl-Kontrollgruppe für den fEPSP-slope von der 2. h bis zu den 24 h Aufnahmen signifikant erhöht war gegenüber der Experimentalgruppe mit Applikation von AP5 und für die PSA konnte nur eine signifikante Erhöhung von der 1. bis 2. h, von der 4. bis 6. h und von der 8. h bis zu den 24 h Aufnahmen festgestellt werden, welches eventuell durch

die größere Streuung der Einzelwerte und die geringere Anzahl der Versuchstiere begründet sein könnte ($p < 0,05$; Mann-Whitney U-Test). Für den Zeitverlauf des gemessenen fEPSP-slopes (8 h-Wert: $91,5 \pm 4,39$) und der PSA (8 h-Wert: $99,3 \pm 10,64$) der Experimentalgruppe mit Applikation von AP5 konnten keine signifikanten Unterschiede zur Baseline festgestellt werden ($P > 0,05$; Wilcoxon-signed rank test).

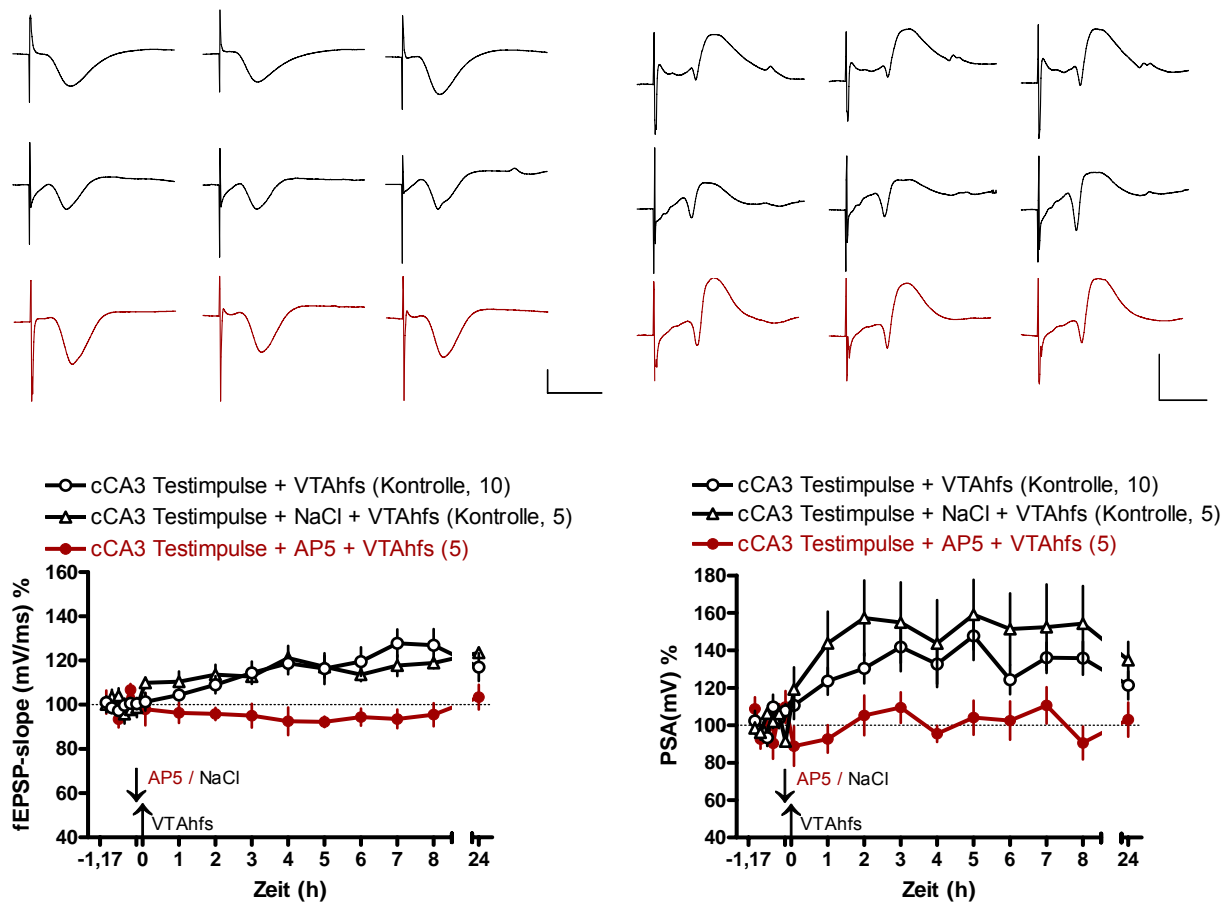


Abb. 26. Einfluss der NMDA-Rezeptorblockade auf die Induktion einer delayed-onset Potenzierung. Die hier dargestellten Graphen repräsentieren den zeitlichen Verlauf des prozentualen fEPSP-slopes (links) und der PSA (rechts) bei intracerebroventriculärer Applikation des NMDA-Rezeptorantagonisten AP5 10 min vor VTAhfs (roter Kurvenverlauf, geschlossene Kreise), bei intracerebroventriculärer Kontrollapplikation von NaCl 10 min vor VTAhfs (schwarzer Kurvenverlauf, offene Dreiecke) und der Test-VTAhfs Kontrollen (schwarzer Kurvenverlauf, offene Kreise) in prozentualen Mittelwertsangaben \pm SEM, wobei deren prozentuale Änderungen immer im Verhältnis zur jeweiligen Baseline stehen. Der Tetanisierungszeitpunkt und der Zeitpunkt der Applikationen sind durch Pfeile markiert.

Im oberen Bereich dieser Abbildungen sind jeweils Analogbeispiele für das fEPSP (links) und für den PS (rechts) dargestellt. Dabei ist jeweils links eine Baselineaufnahme, in der Mitte eine 5 min Aufnahme nach dem Zeitpunkt 0 und rechts eine 8 h Aufnahme abgebildet, wobei die jeweiligen oberen Analogbeispiele die Test-VTAhfs Kontrollen, die Mittleren die pharmakologische NaCl-Kontrollgruppe und die unteren Analogbeispiele die Applikation NMDA-Rezeptorantagonisten AP5 verdeutlichen (Skalierung 2mV/10ms). In Klammern hinter dem jeweiligen Stimulationsprotokoll ist die Anzahl der Versuchstiere angegeben.

←

3.3.3.2. Einfluss der Applikation eines D1/D5-Rezeptorantagonisten

Wie unter 3.3.1. beschrieben, wurde das Induktionsprotokoll für die Test-VTAhfs Gruppe zur normalen Induktion einer delayed-onset Potenzierung verwendet. Für die Experimentalgruppe mit Applikation eines D1/D5-Rezeptorantagonisten und für die pharmakologische NaCl-Kontrollgruppe wurde ein ebensolches Protokoll eingesetzt, nur mit dem Unterschied, dass bei der Experimentalgruppe eine intracerebroventriculäre Applikation des D1/D5-Rezeptorantagonisten SCH23390 10 min vor der VTAhfs und bei der pharmakologischen NaCl-Kontrollgruppe die intracerebroventriculäre Applikation von NaCl ebenfalls 10 min vor VTAhfs erfolgte. Es zeigte sich, dass die Applikation des D1/D5-Rezeptorantagonisten SCH23390 die Ausbildung einer delayed-onset Potenzierung verhinderte, jedoch bei Applikation von NaCl die delayed-onset Potenzierung normal durch die VTAhfs induziert werden konnte (Abb. 27). Dabei war bei der Experimentalgruppe mit Applikation von SCH23390 der fEPSP-slope von der 2. h bis zu den 24 h Aufnahmen signifikant erniedrigt gegenüber der Test-VTAhfs Kontrollgruppe und die PSA war von der 1. h bis zu den 24 h Aufnahmen ebenfalls signifikant erniedrigt ($p < 0,05$; Mann-Whitney U-Test). Für die pharmakologische NaCl-Kontrollgruppe ergab sich kein signifikanter Unterschied zur Test-VTAhfs Kontrollgruppe. Der Vergleich der Experimentalgruppe mit Applikation von SCH23390 und der NaCl-Kontrollgruppe zeigte, dass die pharmakologische NaCl-Kontrollgruppe für den fEPSP-slope von der 2. h bis zu den 24 h Aufnahmen signifikant erhöht war gegenüber der Experimentalgruppe mit Applikation von SCH23390 und für die PSA eine signifikante Erhöhung von der 1. bis zur 5. h und von der 7. h bis zu den 24 h Aufnahmen festgestellt werden konnte ($p < 0,05$; Mann-Whitney U-Test). Für den Zeitverlauf

des gemessenen fEPSP-slopes (8 h-Wert: $92,4 \pm 5,36$) und PSA (8 h-Wert: $93,3 \pm 7,94$) der Experimentalgruppe mit Applikation von SCH23390 konnten keine signifikanten Unterschiede im Vergleich zur Baseline festgestellt werden ($P > 0,05$; Wilcoxon-signed rank test).

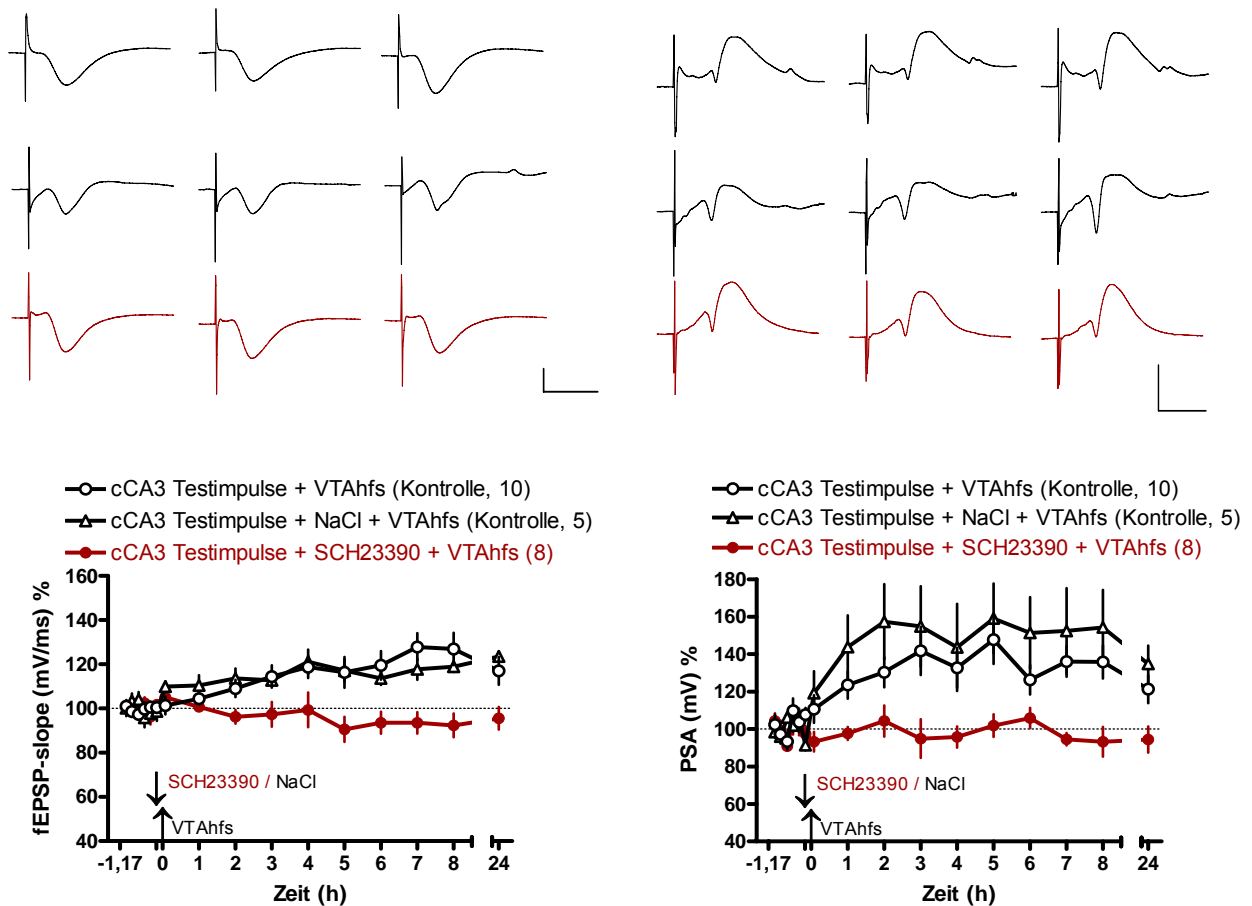


Abb. 27. Einfluss der D1/D5-Rezeptorblockade auf die Induktion einer delayed-onset Potenzierung. Die hier dargestellten Graphen repräsentieren den zeitlichen Verlauf des prozentualen fEPSP-slopes (links) und der PSA (rechts) bei intracerebroventriculärer Applikation des D1/D5-Rezeptorantagonisten SCH23390 10 min vor VTAHfs (roter Kurvenverlauf, geschlossene Kreise), bei intracerebroventriculärer Kontrollapplikation von NaCl 10 min vor VTAHfs (schwarzer Kurvenverlauf, offene Dreiecke) und der Test-VTAHfs Kontrollen (schwarzer Kurvenverlauf, offene Kreise) in prozentualen Mittelwertsangaben \pm SEM, wobei deren prozentuale Änderungen immer im Verhältnis zur jeweiligen Baseline stehen. Der Tetanisierungszeitpunkt und der Zeitpunkt der Applikationen sind durch Pfeile markiert.

Im oberen Bereich dieser Abbildungen sind jeweils Analogbeispiele für das fEPSP (links) und für den PS (rechts) dargestellt. Dabei ist jeweils links eine Baselineaufnahme, in der Mitte eine 5 min Aufnahme nach dem Zeitpunkt 0 und rechts eine 8 h Aufnahme abgebildet, wobei die jeweiligen oberen Analogbeispiele die Test-VTAhfs Kontrollen, die Mittleren die pharmakologische NaCl-Kontrollgruppe und die unteren Analogbeispiele die Applikation des D1/D5-Rezeptorantagonisten SCH23390 verdeutlichen (Skalierung 2mV/10ms). In Klammern hinter dem jeweiligen Stimulationsprotokoll ist die Anzahl der Versuchstiere angegeben.

←

3.4. Induktion einer early-LTD und deren Modulation durch VTAhfs

3.4.1. Induktion einer early-LTD

Durch eine Stimulation der cCA3 mit 3000 Impulsen bei einer Frequenz von 10 Hz (LFS) konnte eine early-LTD für das fEPSP in der CA1 induziert werden (Abb. 28). Dabei wurde eine initiale Depression für den fEPSP-slope von $48,8 \pm 3,36 \%$ gemessen (5 min Wert nach LFS), wobei der fEPSP-slope signifikant erniedrigt für 3 Stunden nach LFS verglichen mit der Stabilitätskontrollgruppe war ($p < 0,05$; Mann-Whitney U-Test). Nach 5 h erreichte der Wert für den fEPSP-slope wieder das Niveau der Baseline ($94,9 \pm 3,82 \%$; $p > 0,05$; Wilcoxon-signed rank test). Als Vergleichsgruppe dienten die Stabilitätskontrollen, welche dabei dem gleichen Experimentalablauf unterlagen nur ohne Applikation einer LFS. In diesem Versuchsabschnitt wurde gezeigt, dass mit dieser oben beschriebenen LFS eine transiente LTD für das evozierte fEPSP in der CA1 induziert werden konnte.

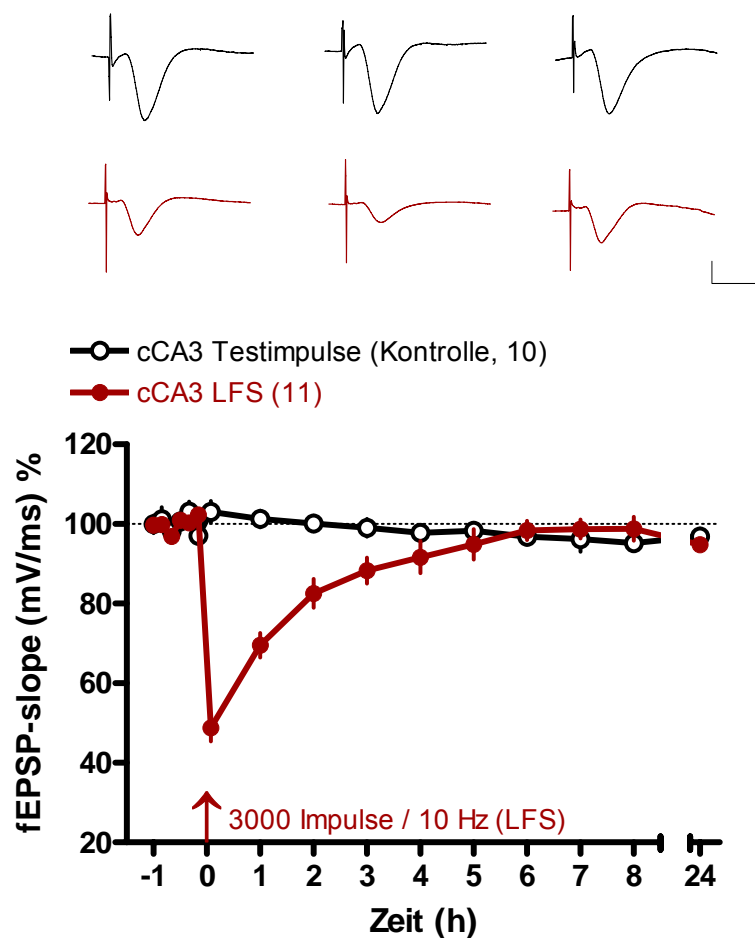


Abb. 28. Zeitverlauf für den fEPSP-slope nach Applikation eines LFS-Protokolls. Die hier dargestellten Graphen repräsentieren den Zeitverlauf für den fEPSP-slope für die Induktion einer early-LTD in der CA1 durch LFS der cCA3 (roter Kurvenverlauf, geschlossene Kreise) und die zugehörigen Stabilitätskontrollen (schwarzer Kurvenverlauf, offene Kreise) in prozentualen Mittelwertsangaben \pm SEM, wobei deren prozentuale Änderungen immer im Verhältnis zur jeweiligen Baseline stehen. Der Zeitpunkt der LFS ist durch einen Pfeil beim Zeitpunkt „0“ markiert.

Im oberen Bereich dieser Abbildung sind Analogbeispiele für das fEPSP dargestellt. Dabei ist jeweils links eine Baselineaufnahme, in der Mitte eine 5 min Aufnahme nach dem Zeitpunkt 0 und rechts eine 8 h Aufnahme abgebildet, wobei die jeweils oberen Analogbeispiele die Stabilitätskontrollen und die unteren Analogbeispiele die Induktion einer early-LTD durch LFS verdeutlichen (Skalierung 2mV/10ms). In Klammern hinter dem jeweiligen Stimulationsprotokoll ist die Anzahl der Versuchstiere angegeben.

←

3.4.2. Einfluss der VTAHfs auf eine induzierte early-LTD

Im Rahmen dieser Dissertation konnte gezeigt werden, dass eine induzierte early-LTP durch die VTAHfs 15 min nach Induzierung einer transienten LTP in ein late-LTP verstärkt werden konnte. Für die Untersuchungen des Einflusses der VTAHfs auf eine early-LTD wurde dafür der gleiche Zeitpunkt für deren Stimulation von 15 min nach LFS gewählt. In diesem Fall wurde jedoch der Einfluss der VTAHfs nicht nur 15 min nach Induzierung einer LTD, sondern auch 15 min davor untersucht. Dabei wurde für diesen Versuchsabschnitt ebenfalls die cCA3 stimuliert und das dadurch evozierte fEPSP in der CA1 registriert.

3.4.2.1. Verstärkung einer early-LTD in eine late-LTD durch VTAHfs

Durch die VTAHfs zu einem spezifischen Zeitpunkt von 15 min nach der Induzierung einer LTD mit dem LFS Protokoll konnte eine transiente LTD in eine late-LTD für das fEPSP verstärkt werden (Abb. 29). Diese Verstärkung der LTD durch VTAHfs (early-LTD-VTAHfs)

wurde über den gesamten 24stündigen Zeitverlauf kontrolliert. Dabei war der fEPSP-slope von der 5. h bis zu den 24 h Aufnahmen signifikant erniedrigt gegenüber der early-LTD Kontrollgruppe ($p < 0,05$; Mann-Whitney U-Test). Für die Mittelwerte der Initialdepression (5 min nach LFS) ergab sich ein Wert von $54,1 \pm 3,35$ %, wobei dieser sich nicht signifikant von dem Initialwert (5 min nach LFS) der early-LTD Kontrollgruppe ($48,8 \pm 3,36$) unterschied ($p > 0,05$; Mann-Whitney U-Test).

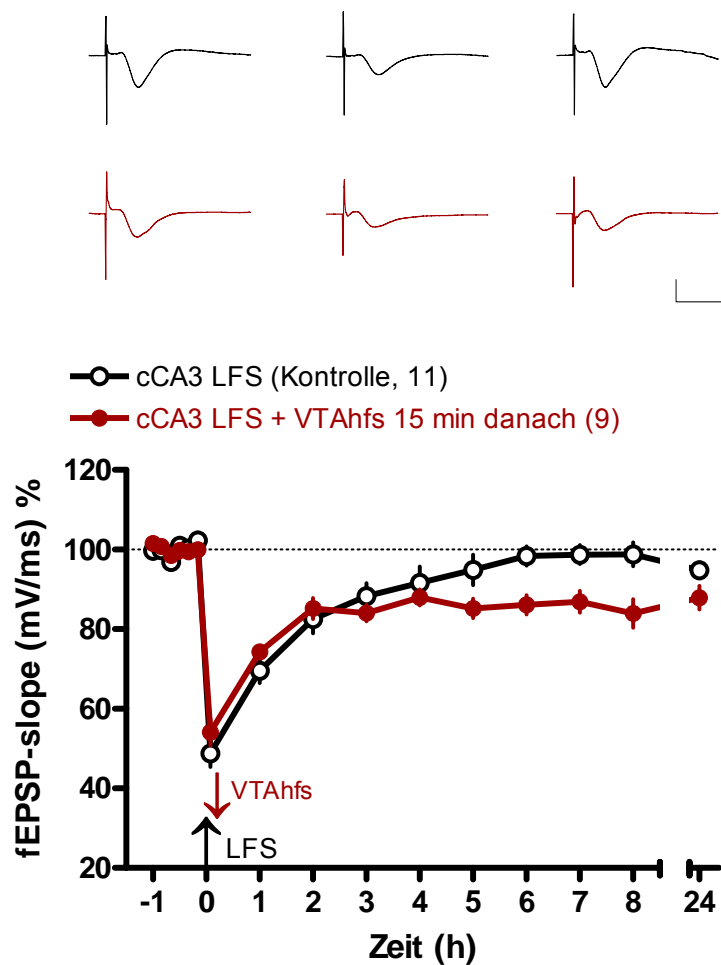


Abb. 29. Einfluss der VTAhfs auf den Zeitverlauf einer early-LTD. Die hier dargestellten Graphen repräsentieren den Zeitverlauf für den fEPSP-slope für die Verstärkung einer early-LTD in der CA1 durch VTAhfs 15 min nach LFS (roter Kurvenverlauf, geschlossene Kreise) und die zugehörigen early-LTD Kontrollen (schwarzer Kurvenverlauf, offene Kreise) in prozentualen Mittelwertsangaben \pm SEM, wobei deren prozentuale Änderungen immer im Verhältnis zur jeweiligen Baseline stehen. Die Zeitpunkte der LFS und VTAhfs sind durch Pfeile markiert.

Im oberen Bereich dieser Abbildung sind Analogbeispiele für das fEPSP dargestellt. Dabei ist jeweils links eine Baselineaufnahme, in der Mitte eine 5 min Aufnahme nach dem Zeitpunkt 0 und rechts eine 8 h Aufnahme abgebildet, wobei die jeweils oberen Analogbeispiele die early-LTD Kontrollen und die unteren Analogbeispiele die Verstärkung einer early-LTD in eine late-LTD verdeutlichen (Skalierung 2mV/10ms). In Klammern hinter dem jeweiligen Stimulationsprotokoll ist die Anzahl der Versuchstiere angegeben.

←

3.4.3. Einfluss der VTAhfs vor Induzierung einer LTD

In diesem Versuchsabschnitt wurde der Einfluss der VTAhfs vor Induzierung einer LTD auf deren Verlauf untersucht. Die Aktivierung der VTA 15 min vor der Induzierung einer transienten LTD verstärkte diese jedoch nicht, sondern reduzierte vielmehr den Induktionslevel der LTD und ließ die Werte des fEPSP-slopes schneller auf das Niveau der Baseline zurückkehren (Abb. 30). Der Wert der Initialdepression (5 min nach LFS) für den fEPSP-slope betrug $74,1 \pm 7,56$ %. Sie war damit signifikant geringer, als die Initialdepression der early-LTD Kontrollgruppe (5 min nach LFS: $48,8 \pm 3,36$; $p < 0,05$; Mann-Whitney U-Test). Der Vergleich des Zeitverlaufs des fEPSP-slopes zwischen der early-LTD Kontrollgruppe und der Experimentalgruppe mit VTAhfs 15 min vor LFS wies statistisch signifikante Unterschiede zwischen diesen beiden Gruppen auf, wobei die fEPSP-slope Werte für die Experimentalgruppe mit VTAhfs 15 min vor LFS von dem 5 min Wert nach LFS bis zur 5. h und ebenfalls in der 7. und 8. h signifikant erhöht gegenüber der early-LTD Kontrollgruppe waren ($p < 0,05$; Mann-Whitney U-Test). Für die 6. h und bei den 24 h Aufnahmen bestand zwischen diesen beiden Gruppen kein signifikanter Unterschied ($p > 0,05$; Mann-Whitney U-Test).

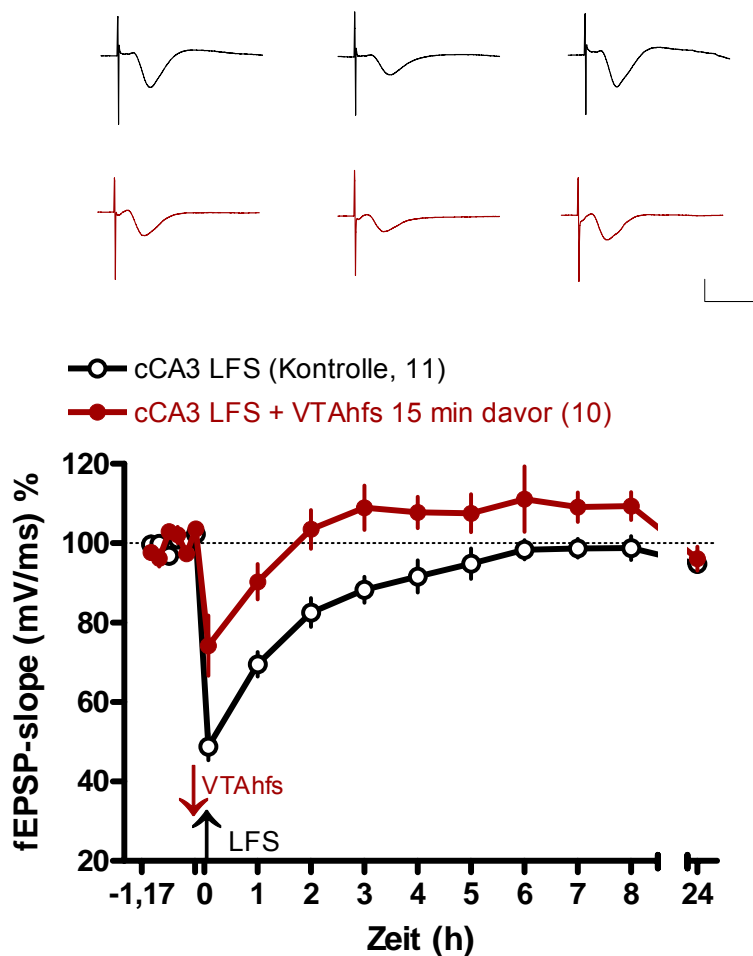


Abb. 30. Einfluss der VTAhfs vor LFS auf den Zeitverlauf einer early-LTD. Die hier dargestellten Graphen repräsentieren den Zeitverlauf für den fEPSP-slope für die VTAhfs 15 min vor Induktion einer LTD in der CA1 (roter Kurvenverlauf, geschlossene Kreise) sowie die zugehörigen early-LTD Kontrollen (schwarzer Kurvenverlauf, offene Kreise) in prozentualen Mittelwertsangaben \pm SEM, wobei deren prozentuale Änderungen immer im Verhältnis zur jeweiligen Baseline stehen. Die Zeitpunkte der LFS und VTAhfs sind durch Pfeile markiert.

Im oberen Bereich dieser Abbildung sind Analogbeispiele für das fEPSP dargestellt. Dabei ist jeweils links eine Baselineaufnahme, in der Mitte eine 5 min Aufnahme nach dem Zeitpunkt 0 und rechts eine 8 h Aufnahme abgebildet, wobei die jeweils oberen Analogbeispiele die early-LTD Kontrollen und die unteren Analogbeispiele den Einfluss der VTAhfs vor Induktion der early-LTD auf deren Verlauf verdeutlichen (Skalierung 2mV/10ms). In Klammern hinter dem jeweiligen Stimulationsprotokoll ist die Anzahl der Versuchstiere angegeben.

3.4.4. Unterschied der VTAhfs vor und nach Induzierung einer LTD

Bei der VTAhfs 15 min vor und 15 min nach Induzierung einer LTD zeigte sich ein deutlicher Unterschied bei deren Zeitverläufen für das fEPSP. Die VTAhfs 15 min nach Induzierung einer early-LTD verstärkte diese zu einer late-LTD, wohingegen die VTAhfs 15 min vor Induzierung einer early-LTD nicht zu deren Verstärkung führte, wie schon unter 3.4.2.1. und 3.4.3. dargelegt (Abb. 31). Damit war es also nur möglich eine transiente LTD in eine late-LTD zu verstärken, wenn die VTAhfs nach der Induktion der LTD erfolgte, in diesem Fall 15 min nach LFS.

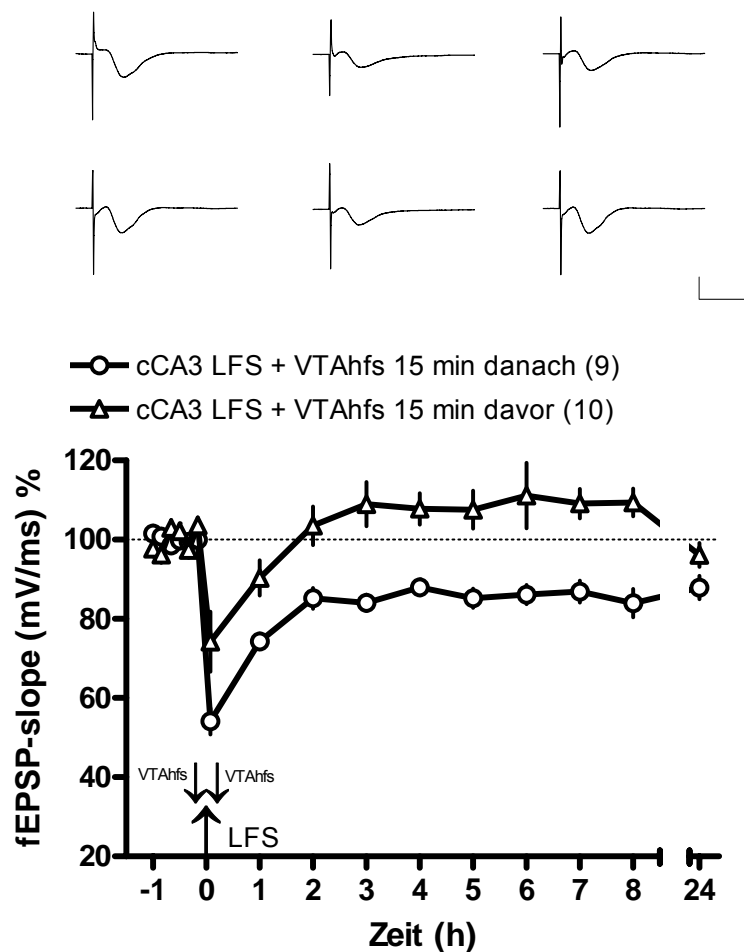


Abb. 31. Einfluss des Zeitpunktes der VTAhfs auf den Zeitverlauf einer early-LTD. Die hier dargestellten Graphen repräsentieren den Zeitverlauf für den fEPSP-slope bei VTAhfs 15 min nach Induktion einer early-LTD in der CA1 (schwarzer Kurvenverlauf, offene Kreise) und den Zeitverlauf für den fEPSP-slope bei VTAhfs 15 min vor Induktion einer early-LTD (schwarzer Kurvenverlauf, offene Dreiecke) in prozentualen Mittelwertsangaben \pm SEM,

wobei deren prozentuale Änderungen immer im Verhältnis zur jeweiligen Baseline stehen. Die Zeitpunkte der LFS und VTAhfs sind durch Pfeile markiert.

Im oberen Bereich dieser Abbildung sind Analogbeispiele für das fEPSP dargestellt. Dabei ist jeweils links eine Baselineaufnahme, in der Mitte eine 5 min Aufnahme nach dem Zeitpunkt 0 und rechts eine 8 h Aufnahme abgebildet, wobei die jeweils oberen Analogbeispiele die early-LTD-VTAhfs Gruppe und die unteren Analogbeispiele den Einfluss der VTAhfs vor Induktion der early-LTD auf deren Verlauf verdeutlichen (Skalierung 2mV/10ms). In Klammern hinter dem jeweiligen Stimulationsprotokoll ist die Anzahl der Versuchstiere angegeben.

←

3.4.5. Einfluss der Applikation eines D1/D5-Rezeptorantagonisten

In diesem Versuchsabschnitt wurde der Einfluss der intracerebroventriculären Applikation des D1/D5-Rezeptorantagonisten SCH23390 auf die Verstärkung einer early-LTD in eine late-LTD untersucht. Dabei diente die early-LTD-VTAhfs Gruppe als nicht pharmakologische Kontrollgruppe, wobei eine Verstärkung einer early-LTD in eine late-LTD erreicht wurde. Bei der pharmakologischen Experimentalgruppe erfolgte die intracerebroventriculäre Applikation eines D1/D5-Rezeptorantagonisten 10 min vor VTAhfs. Als pharmakologische Kontrolle kam die intracerebroventriculäre Applikation von NaCl ebenfalls 10 min vor VTAhfs zum Einsatz. Für die pharmakologische Experimentalgruppe zeigte sich, dass die intracerebroventriculäre Applikation des D1/D5-Rezeptorantagonisten SCH23390 nach LFS und 10 min vor VTAhfs die Verstärkung der early-LTD in eine late-LTD für das fEPSP in der CA1 Region verhinderte (Abb. 32). Dabei war der Zeitverlauf des fEPSP-slopes von der 1. h bis zu den 24 h Aufnahmen signifikant gegenüber der early-LTD-VTAhfs Kontrollgruppe erhöht ($p < 0,05$; Mann-Whitney U-Test). Nach 2 h erreichte der Wert für den fEPSP-slope der Experimentalgruppe mit Applikation des D1/D5-Rezeptorantagonisten SCH23390 wieder das Niveau der Baseline ($99,1 \pm 1,92 \%$; $p > 0,05$; Wilcoxon-signed rank test) und behielt dieses bis zum Ende des 24 h Experiments bei. Die pharmakologische Kontrollgruppe mit Applikation von NaCl wies keinen signifikanten Unterschied gegenüber early-LTD-VTAhfs Kontrolle auf ($p > 0,05$; Mann-Whitney U-Test). So verhinderte die intracerebroventriculäre Applikation von NaCl nicht die Verstärkung einer early-LTD in eine late-LTD.

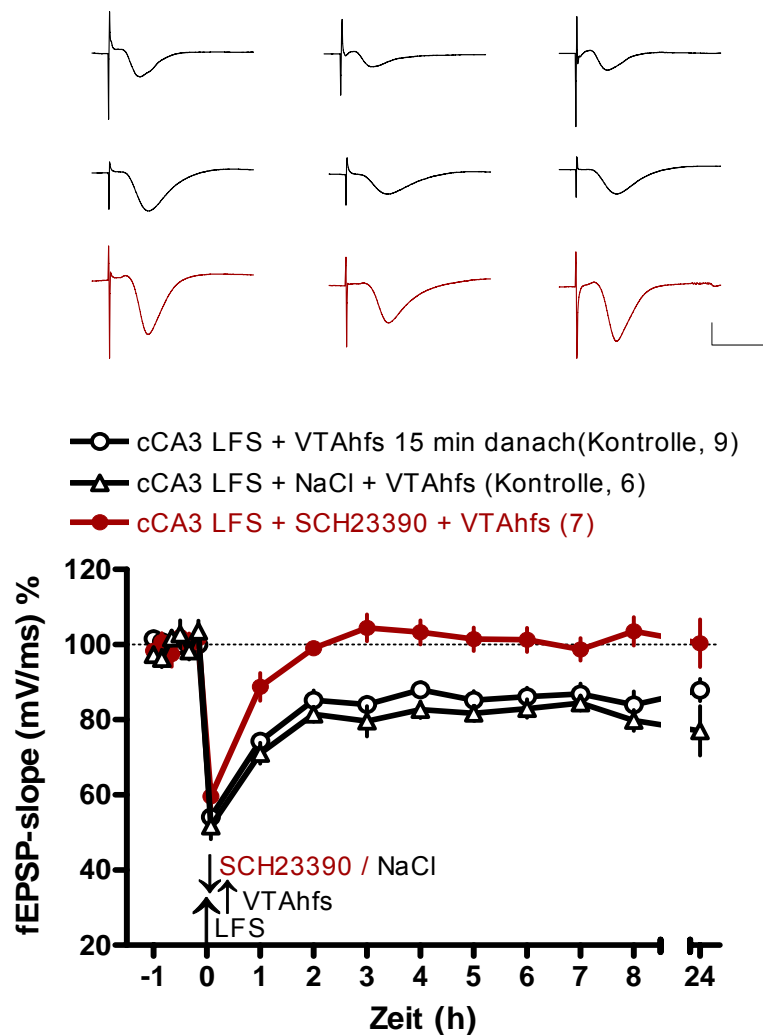


Abb. 32. Einfluss der D1/D5-Rezeptorblockade auf die Verstärkung einer early-LTD in eine late-LTD. Die hier dargestellten Graphen repräsentieren den Zeitverlauf des fEPSP-slopes für die intracerebroventriculäre Applikation des D1/D5-Rezeptorantagonisten SCH23390 nach LFS und 10 min vor VTAhfs (roter Kurvenverlauf, geschlossene Kreise), die intracerebroventriculäre Kontrollapplikation mit NaCl (schwarzer Kurvenverlauf, offene Dreiecke) und der early-LTD-VTAhfs Kontrolle (schwarzer Kurvenverlauf, offene Kreise) in prozentualen Mittelwertsangaben \pm SEM, wobei deren prozentuale Änderungen immer im Verhältnis zur jeweiligen Baseline stehen. Die Zeitpunkte der LFS und VTAhfs, sowie der intracerebroventriculären Applikationen sind durch Pfeile markiert. Im oberen Bereich dieser Abbildung sind Analogbeispiele für das fEPSP dargestellt. Dabei ist jeweils links eine Baselineaufnahme, in der Mitte eine 5 min Aufnahme nach dem Zeitpunkt 0 und rechts eine 8 h Aufnahme abgebildet, wobei die jeweils oberen Analogbeispiele die early-LTD-VTAhfs Kontrollen, die mittleren Analogbeispiele die NaCl-Kontrollen und die unteren Analogbeispiele den Einfluss der intracerebroventriculären Applikation des D1/D5-

Rezeptorantagonisten SCH23390 auf die Verstärkung der LTD durch VTAhs verdeutlichen (Skalierung 2mV/10ms). In Klammern hinter dem jeweiligen Stimulationsprotokoll ist die Anzahl der Versuchstiere angegeben.

←

4. Diskussion

4.1. Simultane Ableitung von fEPSP und PS in der hippocampalen CA1 Region mittels einer „Doppel“-ableitelektrode

Der Einsatz der Doppelableitung wurde bei dieser Arbeit in der hippocampalen CA1 Region an frei beweglichen Ratten etabliert. Dabei lässt diese Methode die simultane Registrierung des fEPSP, als auch des PS am Ort ihrer Generierung zu. Es erfolgte dabei die Erfassung der beiden Feldpotentialarten von der gleichen Neuronenpopulation in ein und demselben Tier, als Antwort auf das gleiche, jeweilige Stimulationsparadigma über den gesamten Versuchszeitraum von 24 h (Scherf et al., 2010). Diese Technik der Doppelableitung konnte in ähnlicher Form bereits erfolgreich in unserem Labor am DG an frei beweglichen Ratten durchgeführt werden (Frey und Frey, 2009). Dabei konnte durch Implantation einer „Doppel“-ableitelektrode mit dem kürzeren Teil im mittleren Drittel des Stratum moleculare das fEPSP und mit dem längeren Teil im Hilus des DG der PS registriert werden. Bei den Untersuchungen in der CA1 Region, im Rahmen dieser Dissertation, erfolgte die stabile Ableitung des fEPSP mit dem längeren Teil im Stratum radiatum im Bereich der apikalen Dendriten und des PS im Stratum pyramidale mit dem kürzeren Teil der „Doppel“-ableitelektrode am Ort ihrer Entstehung (Abb. 9). Damit wurde gezeigt, dass neben dem DG auch eine stabile Doppelableitung von fEPSP und PS in der hippocampalen CA1 Region durchführbar ist (siehe zum Beispiel: Baselineaufnahmen Abb. 19). So war es weiterhin möglich durch die Analyse des Zeitverlaufs von fEPSP und PS, über den gesamten Versuchszeitraum, eine Aussage über mögliche Verstärkungseffekte durch Stimulation modulatorischer Hirnareale, wie zum Beispiel der VTA und deren Einfluss auf die CA1, besonders im Hinblick auf plastizitätsrelevante Prozesse zu treffen. Um die Registrierung des fEPSP und des PS in der CA1 bei verschiedenen Untersuchungen anzuwenden, wurde die eingesetzte Methode der Doppelableitung mit der Stimulation der cCA3 kombiniert. Bereits in anderen Studien konnte eine Aktivierung der CA1 Region über den kommissuralen Eingang durch Stimulation der cCA3 oder cCA1 Region gezeigt werden (Bliss et al., 1983; Diamond et al., 1988; Leung et al., 1992; Hassan et al., 2006; Scherf et al., 2010). Durch eine solche Kombination einer speziellen Ableitelektrode mit dem Einsatz verschiedener Stimulationsprotokolle, wie zum Beispiel bei der gezeigten Stimulation der cCA3 mit dem PB-Protokoll, lassen sich eine Vielzahl unterschiedlicher Formen synaptischer Plastizität an

den synaptischen Eingängen, wie auch an den neuronalen Outputs in zuverlässiger Art und Weise studieren.

Es ist außerdem bekannt, dass für die Induktion einer länger andauernden LTP sowohl eine postsynaptische Depolarisation, als auch eine Spike-Generierung notwendig ist (Lisman und Spruston, 2005; Pike et al., 1999; Raymond, 2008). Dabei erlaubt die alleinige Registrierung des fEPSP nicht die Charakterisierung der postsynaptischen Spike-Generierung je Stimulus. Damit ist die Technik der beschriebenen Doppelableitung auch hierbei von Vorteil. Weiterhin ist diese Methode auch zur besseren Charakterisierung der eingesetzten Stimulusparameter und zur Standardisierung der verwendeten Stimulationsintensitäten zwischen den einzelnen Versuchstieren durch die Registrierung beider Parameter, des fEPSP und des PS am Ort ihrer Generierung von großem Nutzen.

4.2. Early-LTP und deren Modulationsmöglichkeiten

Für Untersuchungen des Einflusses der Stimulation der VTA auf das fEPSP und den PS in der CA1 Region war es zuerst notwendig eine zuverlässig induzierbare transiente Form der LTP für fEPSP und den PS zu etablieren. Dafür erfolgte die bereits beschriebene Stimulation der cCA3 mit einem schwachen Tetanisierungsprotokoll, der PB-Stimulation, wodurch eine transiente Form der LTP, sowohl für das fEPSP, als auch für den PS induziert werden konnte (Abb.20). Dieses Stimulationsprotokoll wurde bereits in den Arbeiten von Diamond et al. aus dem Jahre 1988 gut beschrieben, um plastizitätsrelevante Vorgänge bei in vitro Untersuchungen, als auch an wachen Ratten zu induzieren (Diamond et al., 1988). So schien anhand dieser Studien ein primäres Intervall von 140-170 ms in Kombination mit einer hochfrequenten Serie aus 8-10 Impulsen bestehend, bei einer Frequenz von 100 Hz, optimal für die Induktion einer LTP anhand der gemessenen Amplitude des PS in der CA1 Region zu sein. Bei den hier durchgeführten in vivo Untersuchungen wurde ein ähnlich aufgebautes PB-Protokoll zur Induktion einer transienten LTP bestehend aus einem einzelnen Initialimpuls gefolgt von einer Reizfolge von 10 Impulsen 190 ms später bei einer Frequenz von 100 Hz verwendet. Weiterhin konnten Arbeiten von Hassan et al. aus dem Jahre 2006 zeigen, dass sich in Abhängigkeit von der Stimulationsintensität unterschiedliche Zeitverläufe der daraus resultierenden LTP ergeben (Hassan et al., 2006). So kam es durch den Einsatz höherer Stimulationsintensitäten von 60% des maximalen fEPSP-slopes in der CA1 Region oft zu

einer vorübergehenden Depression, gefolgt von der Ausbildung einer late-LTP. Bei einer Reduzierung der Stimulationsintensität auf 30% des maximalen fEPSP-slopes kam es zu keiner vorübergehenden Depression, sondern es fand die unmittelbare Ausbildung einer LTP statt. Dies verdeutlicht, dass neben dem Aufbau des Stimulationsprotokolls auch die Stimulationsintensität ausschlaggebend für die Ausbildung unterschiedlicher Formen der LTP ist.

Des Weiteren kann der Einsatz einer „Doppel“-ableitelektrode zur simultanen Registrierung des fEPSP und des PS besser zur exakten Ermittlung des Wertes der Stimulationsintensität für den jeweiligen Versuchseinsatz genutzt werden. Im Gegensatz zur Einzelableitung eines fEPSP, welches nicht das asymptotische Maximum bei einer starken Stimulation erreicht, folgt die Messung des Maximalwertes des PS einer individuellen asymptotischen Charakteristik. Die Amplitude des PS reflektiert die Summe der sich entladenden Neurone und die synchrone Aktivität der Entladung, welche einen asymptotischen Level zur höchstmöglich dargebotenen Stimulationsintensität erreicht. Leung und Au konnten bei in vitro Untersuchungen zeigen, dass ein unterschiedlicher Grad der Potenzierung und ein unterschiedlicher Zeitverlauf des fEPSPs nach der Applikation des PB-Protokolls bei verschiedenen Stimulationsintensitäten der I/O Beziehung für das fEPSP und den PS entsprechen (Leung und Au, 1994). Der Einsatz einer PB-Stimulation auf dem Niveau der Schwelle des PS ergab nur eine transiente Form der Potenzierung, wohingegen die PB-Stimulation mit 50% der maximalen PSA eine Langzeitpotenzierung induzierte. Während die Applikation des PB-Protokolls mit der Stimulationsintensität, welche das Maximum des PS erzielt, keinerlei Potenzierung erzeugt, induziert ein PB-Protokoll mit der maximalen Stimulationsintensität des fEPSP eine kleine aber lang anhaltende Potenzierung. Bei diesen hier durchgeführten in vivo Studien wurde ein PB-Protokoll mit einer Stimulationsintensität von 25% der maximalen PSA gewählt. Die Verwendung dieser spezifischen Stimulationsintensität war für das hier eingesetzte PB-Protokoll gut geeignet, um eine early-LTP, sowohl für das fEPSP, als auch für den PS zu induzieren (Abb. 20). Dies bildete die Grundlage für weitere Untersuchungen, die zu möglichen Modulationen der early-LTP führen.

Nach der Theorie des „Synaptic Tagging“ kommt es unter Umständen durch die glutamaterge Rezeptoraktivierung, wie zum Beispiel bei dem Einsatz eines Tetanisierungsprotokolls zur Induktion einer LTP, zum Setzen eines „Synaptic Tag“ an den aktivierten Synapsen (Frey und Morris, 1997; Frey und Morris, 1998a). Dieser „Tag“ wird bereits zu Beginn der Ausbildung einer LTP gesetzt und bildet eine wesentliche Grundlage für eine mögliche Verstärkung einer

early-LTP in eine late-LTP und ist damit wesentlich an der Ausbildung einer späten Phase der LTP beteiligt. Neben dieser glutamatergen Rezeptoraktivierung ist ein heterosynaptischer Eingang notwendig, der diese Verstärkung einer early-LTP erst ermöglicht. Durch diese nicht glutamatergen heterosynaptischen Eingänge, wie zum Beispiel die dopaminerge Aktivierung der D1/D5-Rezeptoren in der CA1 Region, kommt es über, bereits unter 1.7. beschriebene, biochemische Prozesse letztendlich zur Synthese von PRPs, welche mit den an den aktivierten Synapsen gesetzten „Tags“ interagieren können und somit diese Verstärkung einer early- in eine late-LTP erst ermöglichen. Der sich jetzt anschließende Diskussionsabschnitt wird sich dabei zuerst mit der Verstärkung einer bereits induzierten early-LTP beschäftigen.

4.2.1. Modulation einer induzierten early-LTP

Bei der Erforschung der Prozesse, welche beim Lernen und der Gedächtnisbildung eine wesentliche Rolle einnehmen, sind *in vitro* Untersuchungen essentiell, um überhaupt die Prozesse auf zellulärer und molekularer Ebene zu identifizieren. Dabei spielt der abgegrenzte neuronale Bereich, zum Beispiel bei dem sehr spezifischen Wirkungsradius der Applikation von pharmakologischen Substanzen eine wesentliche Rolle. Diese sehr spezifische Wirkung auf ganz bestimmte Hirnareale ist bei der intracerebroventriculären Applikation bei *in vivo* Untersuchungen nicht gegeben.

Anhand von *in vitro* Arbeiten von Frey et al. konnte unter anderem in der CA1 festgestellt werden, dass eine dopaminerge Rezeptoraktivierung notwendig für die Ausbildung einer late-LTP ist (Frey et al., 1990; Frey et al., 1991a; Frey et al., 1991b). Des Weiteren verdeutlichten die *in vitro* Arbeiten von Chen et al., dass eine dopaminerge Rezeptoraktivierung auch die Stärke einer LTD in der CA1 modulieren kann (Chen et al., 1995; Chen und Tonegawa, 1997). *In vitro* wurde demzufolge verdeutlicht, dass eine dopaminerge Rezeptoraktivierung zu einer Modulation einer LTP oder LTD führt. Anhand dieser *in vitro* Ergebnisse lässt sich eine mögliche, entscheidende Bedeutung des dopaminergen Systems für die Vorgänge beim Lernen und der Gedächtnisbildung ableiten. Eine erste wesentliche Frage, die sich dabei stellt ist, ob im normalen physiologisch intakten Säugetierorganismus eine dopaminerge Aktivierung der D1/D5-Rezeptoren in der hippocampalen CA1 Region ebenfalls einen modulatorischen Einfluss auf eine induzierte transiente LTP aufweist. Dafür war die Aktivierung eines modulatorischen, dopaminergen Areals von entscheidender Bedeutung. Ein

möglicher Kandidat war hierbei die VTA, da dieses Gebiet einen modulatorischen Eingang zur CA1 Region bildet und selbst aus einer heterogenen Gruppe von dopaminergen Neuronen besteht. Dieses Areal ist außerdem ein Hauptbestandteil des mesolimbischen dopaminergen Systems. Für genauere Erläuterungen zur VTA und im Speziellen zu deren dopaminergen Projektionen zum hippocampalen Areal siehe Einleitung, Abschnitt 1.7.

Die Resultate dieser *in vivo* Untersuchungen konnten zeigen, dass eine Verstärkung der induzierten early-LTP in eine late-LTP durch die VTAhs 15 min nach Induktion der early-LTP möglich war (Abb.21). Bereits Studien an einem anderen hippocampalen Areal, wie dem DG und durch Stimulation anderer modulatorischer Areale, wie zum Beispiel der BLA nutzten diesen Zeitpunkt der Stimulation des modulatorischen Areals zur Verstärkung einer early- in eine late-LTP (Frey et al., 2001). Aus diesem Grund wurde der Zeitpunkt auch für die *in vivo* Studien in der CA1 Region im Bezug zur Aktivierung der VTA genutzt. Die Verstärkung einer transienten Form der LTP in eine late-LTP ist von der heterosynaptischen Aktivierung (Frey, 1997; Frey und Morris, 1998a) und dem Einsetzen von Proteinsynthese abhängig (Krug et al., 1984; Frey et al., 1988; Reymann et al., 1988; Reymann et al., 1988a; Matthies et al., 1990). Durch die Induktion einer LTP in der hippocampalen CA1 Region, durch Stimulation der cCA3 mittels des PB-Protokolls, kommt es nach der Theorie des „Synaptic Tagging“ an den aktivierten Synapsen zum Setzen eines „Tags“, eines makromolekularen Komplexes (Frey, 1997). Dieser „Tag“ ist nur für eine begrenzte Zeit an den aktivierten glutamatergen Synapsen vorhanden. In diesem Zeitfenster muss die heterosynaptische Aktivierung erfolgen, um eine Verstärkung der LTP durch Interaktion zwischen dem „Tag“ und den durch heterosynaptische Aktivierung synthetisierten PRPs zu ermöglichen. Außerhalb dieses Zeitraums ist eine Verstärkung der LTP durch das nicht mehr Vorhandensein eines „Tags“ unmöglich. Bei *in vivo* Studien im DG wurde gezeigt, dass eine heterosynaptische Aktivierung innerhalb von 30 min nach Induktion einer LTP erfolgen muss und nach einer Stunde keine Verstärkung der LTP mehr festgestellt werden konnte (Frey et al., 2001). Dies suggeriert, dass das Vorhandensein eines „Synaptic Tag“ bei einem intakten Organismus unter normalen physiologischen Bedingungen auf etwa 30 Minuten beschränkt ist und eine effektive Transformation in eine late-LTP nur in diesem begrenzten Zeitraum erfolgen kann. Durch die Aktivierung der VTA und der damit verbundenen dopaminergen Neurotransmitterfreisetzung werden die D1/D5-Rezeptoren in der CA1 aktiviert. Experimentell konnte diese heterosynaptische dopaminerge Aktivierung durch die Blockade der D1/D5-Rezeptoren mittel eines spezifischen Antagonisten (SCH23390) nachgewiesen werden. Damit wurde die Abhängigkeit dieser LTP Verstärkung vom dopaminergen

Neurotransmittersystem gezeigt. Es konnte demzufolge durch die Blockierung der D1/D5-Rezeptoren kein Dopamin binden und daraus resultierend keine Aktivierung der cAMP/PKA Kaskade erfolgen (nähere Details unter 1.7.; Brandon et al., 1995; Frey et al., 1993a; Kameyama et al., 1998; Nguyen und Kandel, 1996), die zur Proteinsynthese von PRPs notwendig gewesen wäre. Das verdeutlicht, dass die Aktivierung des mesolimbischen dopaminergen Systems, damit der Dopaminfreisetzung durch die dopaminergen Neurone der VTA und letztendlich die Aktivierung des D1/D5-Rezeptoren, die Voraussetzung für die Verstärkung der early-LTP in eine late-LTP für das fEPSP und den PS in der CA1 Region war. Dies suggeriert, dass die VTA, als heterogene Gruppe dopaminergere Zellen, eine entscheidende Bedeutung bei der Regulation von am Lernen und der Gedächtnisbildung beteiligten Prozessen, wie zum Beispiel der LTP, besitzen kann. Des Weiteren ist Dopamin am Langzeitgedächtnis, im Speziellen bei den Prozessen zu dessen Verstärkung beteiligt (Cooper et al., 1990; Schultz et al., 1993). Auch Studien von Gasbarri et al. zeigten zum Beispiel, dass dopaminerge Neurone des Mittelhirns (zum Beispiel der VTA) auf ein Ereignis, zum Beispiel Belohnung, Dopamin freisetzen, welches zu bestimmten Gehirnarealen, wie zur hippocampalen Region gelangt und dort biochemische Prozesse in gang setzt (Gasbarri et al., 1994). Ebenfalls konnte in einigen Studien die entscheidende Rolle des mesolimbischen dopaminergen Systems für verschiedene Arten des Lernens gezeigt werden. So konnte zum Beispiel die intrahippokampale Injektion eines Dopaminagonisten zum einen passive Vermeidungsstrategien (Bernabeu et al., 1997) sowie visuelle Diskriminierung (Jork et al., 1982) verstärken und zum anderen kann eine dopaminerge Ausschüttung im Hippokampus die räumliche Navigation beeinflussen (Gasbarri et al., 1994). Studien an Ratten zeigten, dass bei Exploration eines vorher nicht zugänglichen Abschnittes einer Versuchsbox, es zu einem signifikanten Anstieg des Dopaminlevels im Nucleus Accumbens kam, wobei dieser Effekt unabhängig von der lokomotorischen Aktivität war (Rebec und Pierce, 1994). Dabei wurde die erhöhte Dopaminfreisetzung im Zusammenhang mit einer belohnenden Wirkung bei freiwilliger Exploration von neuem interpretiert (Bardo et al., 1996). Die Aktivierung des dopaminergen Systems scheint, schon aus evolutionärer Sicht, stark mit dem Erkunden von Neuem und den daraus resultierenden Errungenschaften, wie Belohnungen in Form von Futter, Trinken, Sexualpartnern etc. zusammenzuhängen und verstärkt dadurch ebenfalls das starke Interesse zum Verständnis des dopaminergen Systems, besonders im Hinblick auf das Lernen und der daraus resultierenden Gedächtnisbildung. Die Erforschung der Verschaltungen im neuronalen System und die dabei induzierten biochemischen Prozesse machen besonders die Untersuchung am kompletten Organismus unter normalen

physiologischen Bedingungen, vor allem in neurophysiologischer Sichtweise, zu einem sehr interessanten Forschungsgebiet.

Neben der bereits diskutierten notwendigen D1/D5-Rezeptoraktivierung zur Verstärkung einer early-LTP in eine late-LTP, ist die Aktivierung der späten Phase der LTP ebenfalls von dem Prozess der Proteinsynthese abhängig (Krug et al., 1984; Frey et al., 1988; Reymann et al., 1988; Reymann et al., 1988a; Matthies et al., 1990). Für den dafür notwendigen pharmakologischen Nachweis wurde der reversible Proteinsynthesehemmer Anisomycin ebenfalls intracerebroventriculär appliziert. Die Resultate dieser Arbeit zeigen, dass die Verstärkung der early-LTP, durch die VTAHfs, mittels Applikation von Anisomycin, sowohl für das fEPSP, als auch für den PS verhindert wurde (Abb. 23A). Damit war ebenfalls das Kriterium der Proteinsyntheseabhängigkeit für die Aktivierung der späten Phase einer LTP pharmakologisch nachgewiesen. Auch die Applikation des irreversiblen Proteinsynthesehemmers Emetin konnte die Ergebnisse der Applikation mit Anisomycin bestätigen (Abb. 23B). Dies verdeutlicht, dass die Transformation einer early-LTP in eine late-LTP in der hippocampalen CA1 Region, sowohl von der dopaminergen Aktivierung der D1/D5-Rezeptoren, als auch von Proteinsynthese und der daraus resultierenden Interaktion der PRPs mit den gesetzten „Tags“ an den aktivierten Synapsen abhängig ist. Auch in anderen hippocampalen Regionen, wie zum Beispiel dem DG konnte im intakten Säugetierorganismus unter normalen physiologischen Bedingungen die Proteinsyntheseabhängigkeit bei der Verstärkung einer early-LTP in eine late-LTP nachgewiesen werden. In Arbeiten von Frey et al. konnte zum Beispiel im DG gezeigt werden, dass die Applikation des reversiblen Proteinsynthesehemmers Anisomycin 2 Stunden vor Induktion der LTP und der darauf folgenden Stimulation der basolateralen Amygdala, welches normalerweise zu einer Verstärkung der LTP durch Aktivierung der muscarinergen / β -adrenergen Rezeptoren führt, verhindert werden konnte (Frey et al., 2001). Weiterhin wurde in dieser Studie nachgewiesen, dass die Applikation von Anisomycin keinen Einfluss auf die Induktion und den Verlauf der induzierten early-LTP hatte. Dies verdeutlichte noch einmal, dass nur die späte Phase der LTP proteinsyntheseabhängig war, jedoch die frühe Phase einer LTP proteinsyntheseunabhängig induziert werden konnte.

Wie bereits beschrieben ist für die Aktivierung der späten Phase der LTP die Synthese von PRPs notwendig. Bei in vitro Untersuchungen von Sajikumar et al. wurde PKM ζ als erstes LTP spezifisches PRP in der hippocampalen CA1 Region identifiziert (Sajikumar et al., 2005b). In diesen Studien wurde weiterhin festgestellt, dass die Blockierung von PKM ζ nicht nur zum Ausbleiben der späten Phase der LTP für das fEPSP im Bereich der apikalen

Dendriten in der CA1 Region führt, sondern dass es weiterhin zu einer Depression der Basalaktivität oberhalb der 4. h nach LTP Induktion kommt. Bei den hier durchgeführten in vivo Studien in der CA1 Region wurde zwar nicht die Blockierung von PKM ζ untersucht, jedoch wurde die Ausbildung der späten Phase der LTP durch die intracerebroventrikuläre Applikation eines D1/D5-Rezeptorantagonisten (Abb. 22) oder durch die Proteinsyntheseblocker Anisomycin/Emetin (Abb. 23) verhindert. Dabei kam es bei der Blockierung der D1/D5-Rezeptoren zu einem signifikanten Unterschreiten der Baseline für das fEPSP in der CA1 ab der 6. h nach LTP Induktion bis zum Ende der 24 h Aufnahmen. Bei der Untersuchung mit dem Proteinsyntheseblocker Anisomycin war die Unterschreitung der Baseline für das fEPSP in der CA1 ab der 6. h tendenziell zwar vorhanden, aber statistisch nicht signifikant, was eventuell an der großen Streuung der geringen Anzahl (5) der Versuchstiere liegen könnte. Bei den Untersuchungen mit dem Proteinsyntheseblocker Emetin wurde das Niveau der Baseline für das fEPSP in der CA1 ab der 4. h nach LTP Induktion unterschritten, aber durch die geringe Anzahl (3) der Versuchstiere konnte keine Prüfung auf Signifikanz erfolgen. Damit kann bei dieser Analyse vorerst nur von einer Tendenz gesprochen werden. Das Unterschreiten des Baseliniveaus für das fEPSP bei diesen in vivo Untersuchungen könnte eventuell nach den Studien von Sajikumar et al., 2005b auf die Blockierung von PKM ζ zurückzuführen sein (Sajikumar et al., 2005b). Für eindeutige Aussagen bedarf es jedoch in vivo Untersuchungen mit der direkten Blockierung von PKM ζ . Diese Analyse ist für zukünftige Studien geplant. Im Bezug auf PKM ζ ist weiterhin bekannt, dass die Phosphorylierung durch PKM ζ die AMPA-Rezeptor vermittelte synaptische Transmission erhöht (Ling et al, 2002) und in weiteren Studien konnte gezeigt werden, dass diese Funktion der AMPA-Rezeptoren während der LTD vermindert ist (Gutlerner et al., 2002; Hirai, 2001; Carroll et al., 1999). Dies könnte darauf hinweisen, dass die Hemmung von PKM ζ zur Destabilisierung der Baselineaktivität führen könnte.

4.3. Modulation der hippocampalen CA1 Basalaktivität

Wie schon im vorangegangenen Versuchsabschnitt unter 3.2.2. und 4.2.1. anhand der Modulation einer bereits induzierten early-LTP beschrieben und diskutiert, war es möglich eine transiente LTP durch VTAHfs 15 min nach deren Induktion in eine proteinsyntheseabhängige late-LTP, für fEPSP und PS zu verstärken. Damit konnte nachgewiesen werden, dass über die VTAHfs die dopaminergen D1/D5-Rezeptoren in der CA1 aktiviert werden und dass diese Aktivierung einen modulatorischen Einfluss auf eine transiente LTP hat. Dabei stellte sich jedoch die Frage, ob die alleinige Aktivierung der VTA ebenfalls einen Einfluss auf die Stärke des fEPSP-slopes und PSA in der hippocampalen CA1 Region hat. Basierend auf Ergebnissen aus in vitro Studien, wobei die Applikation eines D1/D5-Rezeptoragonisten (Sajikumar und Frey, 2004; Navakkode et al., 2007) die direkte Aktivierung der D1/D5-Rezeptoren (Huang und Kandel, 1995) oder die Aktivierung der PKA Kaskade durch cAMP Analoge (Frey et al., 1993a) zu einer Potenzierung des fEPSP in hippocampalen CA1 Schnitten führte, sollte nun überprüft werden, ob in vivo an frei beweglichen Ratten durch VTAHfs ein ähnlicher Effekt erzielt werden konnte. Es wurde dabei auch in vivo verdeutlicht, dass es durch die VTAHfs zu einer Potenzierung für fEPSP und PS kam (Abb.24). Damit konnten mit diesen in vivo Studien die in vitro Resultate bestätigt werden und somit auch eine tatsächlich mögliche physiologische Relevanz des mesolimbischen dopaminergen Systems und im Speziellen der VTA bei der Verstärkung von Langzeitpotenzierungen im intakten Säugetierorganismus verdeutlicht werden. Besonders ausführliche Untersuchungen zu dieser so genannten „delayed-onset“ Potenzierung fanden in den in vitro Arbeiten von Sheeja Navakkode et al. statt (Navakkode et al., 2007). In dieser in vitro Arbeit konnte durch eine wiederholte Applikation eines D1/D5-Rezeptoragonisten die Induktion einer delayed-onset Potenzierung gezeigt werden. Als Kontrolle erfolgten dabei normale Teststimulationen ohne Applikation. Bei den in vivo Untersuchungen fand ebenfalls eine Stabilitätskontrolle statt (Abb. 24), um mögliche andere Ursachen für eine Potenzierung oder einen nicht stabilen Kurvenverlauf auszuschließen.

Wie schon bei der Verstärkung einer early-LTP in eine late-LTP durch VTAHfs gezeigt wurde, war diese Verstärkung abhängig von der heterosynaptischen Aktivierung der D1/D5-Rezeptoren. Eine solche Überprüfung wurde auch bei der Induktion einer delayed-onset Potenzierung durch eine intracerebroventriculäre Applikation des D1/D5-Rezeptorantagonisten SCH23390 10 min vor VTAHfs durchgeführt, was zum Ausbleiben dieser delayed-onset Potenzierung für fEPSP und PS führte (Abb. 27). Dieses Ergebnis deckt

sich mit den in vitro Studien von zum Beispiel Sheeja Navakkode et al., wobei ebenfalls durch Applikation des D1/D5-Rezeptorantagonisten SCH23390 die Ausbildung einer delayed-onset Potenzierung verhindert wurde (Navakkode et al., 2007). Diese Untersuchungen verdeutlichen, dass zur Induktion einer solchen delayed-onset Potenzierung ebenfalls eine heterosynaptische dopaminerge Aktivierung notwendig war. Neben dieser dopaminergen Rezeptoraktivierung ist für die Ausbildung einer delayed-onset Potenzierung ebenfalls die glutamaterge Rezeptoraktivierung notwendig, worauf im späteren Teil dieses Abschnittes genauer eingegangen wird.

Neben den Ergebnissen der beschriebenen in vitro Studien (Sajikumar and Frey, 2004; Navakkode et al., 2007) und diesen in vivo Untersuchungen, suggerierten jedoch andere Studien, dass die dopaminerge Funktion in der hippocampalen CA1 eher an der Modulation synaptischer Antworten beteiligt ist (Swanson-Park et al., 1999), wie zum Beispiel der Überführung einer transienten LTP in eine late-LTP. Diese in vitro Untersuchungen wurden jedoch in den Arbeiten von Sheeja Navakkode et al., welche eindeutig die Induktion einer delayed-onset Potenzierung nachwiesen, kritisch diskutiert (Navakkode et al., 2007). So wurde diskutiert, dass Unterschiede in der Behandlung der Schnitte, insbesondere der Dauer der Präinkubationszeit, zu eventuell unterschiedlichen Ergebnissen führen könnten. Wie schon anhand von in vitro Studien aufgezeigt, handelt es sich bei dieser delayed-onset Potenzierung um eine langsam ansteigende Form der Potenzierung, welche über 6 h Stunden eine erhöhte synaptische Aktivität aufwies und somit bis in die späte proteinsyntheseabhängige Phase der LTP hineinreicht (Sajikumar und Frey, 2004; Navakkode et al., 2007). Dies deckt sich mit den in vivo Resultaten, wobei sich der Zeitverlauf der induzierten delayed-onset Potenzierung für das fEPSP und den PS sogar bis zu 24 h nach VTAhfs von der Stabilitäts-Kontrollgruppe signifikant unterschied. Es zeigte sich demzufolge, dass diese delayed-onset Potenzierung auch unter normalen physiologischen Bedingungen am wachen und frei beweglichen Tier die späte Phase der Potenzierung aktiviert. Ein generelles, relevantes Kriterium für die Ausbildung einer späten Phase der LTP ist die Proteinsyntheseabhängigkeit, welche bereits in verschiedensten Studien nachgewiesen wurde (Krug et al., 1984; Frey et al., 1988; Frey et al., 1993a; Frey et al., 1996; Reymann, 1988; Reymann et al., 1988b; Matthies et al., 1990; Nguyen et al., 1994; Frey und Morris, 1997). Diese Proteinsyntheseabhängigkeit wird momentan auch bei den in vivo Untersuchungen zur delayed-onset Potenzierung überprüft.

Weiterhin erfolgte bei den in vitro Studien von Sheeja Navakkode et al. der Nachweis der gemeinsamen Aktivierung der NMDA- und D1/D5-Rezeptoren nach zwei

Untersuchungsansätzen (Navakkode et al., 2007). Zum einen verhinderte die gemeinsame Applikation eines D1/D5-Rezeptoragonisten (SKF oder APB) und des NMDA-Rezeptorantagonisten AP5 die Ausbildung einer delayed-onset Potenzierung. Zum anderen kam es ebenfalls nicht zur Ausbildung dieser Potenzierung, wenn nach der wiederholten Applikation des D1/D5-Rezeptoragonisten keine Kontrollstimulationen für den Zeitraum von 3 h erfolgten. Diese Versuchsansätze zur Notwendigkeit der synergistischen Aktivierung beider Rezeptorsysteme, sowohl der glutamatergen, als auch der dopaminergen Aktivierung wurden ebenfalls für die in vivo Untersuchungen übernommen. Dabei zeigten sich ähnliche Resultate, wie bei den in vitro Untersuchungen, sowohl bei Applikation des NMDA-Rezeptorantagonisten AP5 (Abb.26), als auch bei der Unterbrechung der Kontrollstimulationen für den Zeitraum von 3 h nach VTAHfs (Abb.25). Der Kurvenverlauf der gemessenen PSA der Gruppe mit Applikation von AP5 bewegte sich zwar um die Baseline, jedoch war die Streuung zwischen den Einzeltieren so groß, besonders im Vergleich zu der Arbeit von Sheeja Navakkode et al., dass zumindest für den PS nur eine positive Aussage zur Unterdrückung der delayed-onset Potenzierung unter Vorbehalt getroffen werden konnte. Mögliche Ursachen hierfür könnten die geringe Anzahl der Versuchstiere, die zu große Streuung zwischen den wenigen Einzeltieren, die nicht optimale Konzentration der AP5 Applikation oder das normale Verhalten der Versuchstiere sein, wobei es zum Beispiel schon vor Applikation von AP5 zur NMDA-Rezeptoraktivierung und zum Setzen von „Tags“ gekommen sein konnte. In vitro Studien haben jedoch eine sehr gute Wirksamkeit von AP5 bei der Unterdrückung einer delayed-onset Potenzierung nachgewiesen (Navakkode et al., 2007). Auch andere in vivo Studien konnten bereits zeigen, dass eine intracerebroventriculäre Applikation von AP5 mit einer Konzentration von 100 nmol und der Applikation 5 min vor der Induktion einer LTP, deren Ausbildung unterdrückte (Frey et al., 2001). Für das vollständige Ausbleiben einer delayed-onset Potenzierung ist die komplette Deaktivierung der NMDA-Rezeptoren notwendig. Sollte es jedoch bei einigen Tieren nicht zur vollständigen Deaktivierung der NMDA-Rezeptoren und somit zum Setzen von „Synaptic Tags“ gekommen sein, könnte in Einzelfällen zumindest eine teilweise Ausbildung einer delayed-onset Potenzierung stattgefunden haben. Diese ersten Untersuchungen mit der pharmakologischen Applikation von AP5 bedürfen zumindest in Bezug auf den PS weiterer Untersuchungen.

Die Ergebnisse der Arbeit von Sheeja Navakkode et al. und dieser in vivo Arbeit zeigten, dass die Aktivierung der D1/D5-Rezeptoren essentiell für die Ausbildung einer delayed-onset Potenzierung ist und das dies mit der Aktivierung der Adenylatcyclase, der darauf folgenden

Aktivierung der cAMP abhängigen PKA und letztendlich der Synthese von PRPs verbunden sein muss (Frey, 2001; Frey et al., 1993a; Navakkode et al., 2007). Dies beinhaltet demzufolge direkte Funktionen von PKA abhängigen Prozessen, wie zum Beispiel der Hochregulierung der NMDA-Rezeptor Funktionen (Raman et al., 1996). Bei den Pyramidenzellen in der hippocampalen CA1 Region konnte gezeigt werden, dass die Induktion einer LTP auch die Beteiligung von AMPA-Rezeptoren in exzitatorischen Synapsen beinhaltet. So konnte in Arbeiten von Mangiavacchi und Wolf gezeigt werden, dass eine kurzzeitige Applikation eines D1/D5-Rezeptoragonisten die oberflächliche Expression von Glutamat Rezeptor1 enthaltenden AMPA-Rezeptoren durch die Steigerung der Rate der Externalisierung an der extrasynaptischen Seite erhöht (Mangiavacchi und Wolf, 2004). Diese Studien von Mangiavacchi und Wolf zu den D1/D5-Rezeptor-PKA abhängigen Prozessen während der Induktion einer early-LTP unterstützen ebenfalls die Untersuchungsergebnisse von Sheeja Navakkode et al., wo die Applikation eines D1/D5-Rezeptorblockers oder eines PKA-Hemmers ein relativ frühes Stadium einer LTP nach etwa 60 min blockiert. (Mangiavacchi und Wolf, 2004; Navakkode et al., 2007). Dies deckt sich mit den hier durchgeführten in vivo Untersuchungen, zumindest im Hinblick auf die intracerebroventriculäre Applikation eines D1/D5-Rezeptorantagonisten vor VTAhfs, wobei dessen Applikation die Ausbildung einer delayed-onset Potenzierung verhinderte, auch deren frühe Phase.

Diese Daten inklusive der Resultate, der hier durchgeführten in vivo Arbeit, suggerieren eine starke Notwendigkeit der D1/D5-Rezeptoraktivierung im Zusammenhang mit der NMDA-Rezeptoraktivierung, wobei die Stärke der D1/D5-Rezeptoraktivierung mit zur Aktivierung der nicht blockierten NMDA-Rezeptoren beitragen kann und es somit zum Setzen eines „Synaptic Tags“ an den aktivierten Synapsen, es letztendlich zur Interaktion zwischen den „Tags“ und den synthetisierten PRPs und damit zur Ausbildung einer delayed-onset Potenzierung zumindest über den Zeitraum (in vivo) von mindestens 8 h kommt.

4.4. LTD und deren Modulationsmöglichkeiten

4.4.1. Induktion einer early-LTD

Neben der bereits dargestellten und diskutierten Induktionsmöglichkeit für eine transiente LTP, der Einflussnahme des dopaminergen Systems auf die Stärke und die Induktion von Langzeitpotenzierungen für fEPSP und PS in der hippocampalen CA1 Region an frei beweglichen Ratten, stellte sich nun im dritten Hauptteil dieser Promotionsarbeit die Frage, in wie weit auch eine Induktion einer LTD sowie in welcher Form in der CA1 Region möglich ist. Erste Anhaltspunkte zur Induktion einer LTD in der hippocampalen CA1 Region unter normalen physiologischen Bedingungen an Ratten fanden sich in Arbeiten von Denise Manahan-Vaughan (Manahan-Vaughan, 1997; Manahan-Vaughan und Braunewell, 1999; Manahan-Vaughan et al., 2000). In diesen Studien wurde jedoch nur gezeigt, dass die Induktion einer LTD in der hippocampalen CA1 für das fEPSP bei Stimulation der Schaffer-Kollateralen mit 900 Impulsen bei einer Frequenz von 1 Hz effektiv möglich ist. Eine Untersuchung zur Induktion einer LTD über die Aktivierung des kommissuralen Weges fand dabei nicht statt. Das bei dieser beschriebenen Arbeit eingesetzte Stimulationsparadigma mit 900 Impulsen bei einer Frequenz von 1 Hz kam bereits zum ersten Mal bei in vitro Untersuchungen zum Einsatz, wo mit dieser Art der Stimulation eine LTD effektiv induziert werden konnte (Dudek und Bear, 1992; Mulkey und Malenka, 1992). Weitere in vivo LTD Studien, wie auch die hier durchgeführten Untersuchungen, nutzten die Aktivierung der hippocampalen CA1 über den kommissuralen Weg und verwendeten dabei Stimulationsprotokolle, welche sich von dem Protokoll mit 900 Impulsen bei 1 Hz, sowohl bei der Stimulationsfrequenz, als auch bei der Anzahl der Stimulationen unterschieden (Staubli und Scafidi, 1997). In dieser Arbeit wurden sowohl Untersuchungen an wachen und frei beweglichen, als auch an anästhesierten Ratten durchgeführt, wobei eine Anzahl der Stimulationen von 900 und 3000 sowie Stimulationsfrequenzen von 1, 5 oder 10 Hz zum Einsatz kamen. Dabei zeigte sich bei den Versuchen an frei beweglichen Ratten, dass eine Stimulation mit 900 Impulsen bei einer Frequenz von 1 Hz und einer Stimulation mit 3000 Impulsen bei einer Frequenz von 5 Hz nicht zur Induktion einer LTD führte. Erst bei Erhöhung der Frequenz auf 10 Hz und der Stimulation mit 3000 Impulsen zeigte sich eine Induktion einer LTD, welche nach etwa 3 h wieder das Niveau der Baseline erreichte und einen transienten Verlauf einer LTD aufwies. Die späte, proteinsyntheseabhängige Phase der LTD konnte mit diesem Stimulationsprotokoll nicht aktiviert werden. Dieses

Stimulationsprotokoll von Staubli und Scafidi wurde auch in diesen hier durchgeführten Studien verwendet (Staubli und Scafidi, 1997). Es konnte dabei ebenfalls eine early-LTD für das fEPSP in der CA1 durch Applikation einer LFS der cCA3 induziert werden, wobei eine signifikant erniedrigte synaptische Aktivität für 3 h nach Induktion der LTD für das fEPSP festgestellt werden konnte (Abb.28). In vitro Studien von Parvez et al. zeigten außerdem, dass der Verlauf einer LTD neben dem verwendeten Stimulationsprotokoll, auch vom Ort der Innervierung abhängig ist (Parvez et al., 2010). Dabei wurden monopolare Elektroden innerhalb des Stratum radiatum der CA1 in hippocampalen Schnitten zur Stimulation von zwei unabhängigen synaptischen Eingängen, dem proximalen oder dem distalen Teil der apikalen Dendriten, platziert. Es zeigte sich dabei, dass sowohl durch Applikation einer schwachen, niederfrequenten Stimulation, als auch durch eine starke niederfrequente Stimulation nur eine STD über den synaptischen Eingang des proximalen Teils der apikalen Dendriten induziert werden konnte. Bei Aktivierung des synaptischen Eingangs des distalen Teils der apikalen Dendriten durch eine starke niederfrequente Stimulation konnte eine late-LTD induziert werden und bei Applikation einer schwachen niederfrequenten Stimulation eine early-LTD. Diese Arbeiten von Parvez et al. verdeutlichen, dass im hippocampalen Schnitt nur durch Aktivierung der synaptischen Eingänge des distalen Teils der apikalen Dendriten eine late-LTD induziert werden konnte und im proximalen Teil unabhängig vom Stimulationsprotokoll die Induktion einer late-LTD nicht möglich war (Parvez et al., 2010). In diesen hier durchgeführten in vivo Studien konnte eine transiente LTD über das eingesetzte LFS-Protokoll (3000 Impulse bei einer Frequenz von 10 Hz) induziert werden. Nach Untersuchungen von Buzsaki et al. zur Konvergenz des verbindenden und kommissuralen Signalweges auf die CA1 Neurone im Hippokampus der Ratte, projiziert die kontralaterale CA3 eher zu den basalen Dendriten und dem proximalen Teil der apikalen Dendriten (Buzsaki and Eidelberg, 1982). Dies würde mit den in vitro Ergebnissen von Parvez et al. übereinstimmen (Parvez et al., 2010). Jedoch ist festzuhalten, dass bei diesen hier durchgeführten in vivo Studien nicht die Untersuchung zur Induzierbarkeit verschiedener LTD Formen durch entsprechende Stimulationsprotokolle im Vordergrund stand, sondern der Einfluss der VTAHfs auf eine transiente Form der LTD. Durch Modifikationen des Stimulationsprotokolls, insbesondere auch der Stimulationsstärke könnte es eventuell möglich sein verschiedene Formen der LTD über die cCA3 Stimulation zu induzieren, wobei besonders durch eine stärkere Stimulation möglicherweise größere Areale ipsilateral innerviert werden und es so ebenfalls zur Induktion einer late-LTD kommen kann. Dies wird in weiteren Studien untersucht werden.

4.4.2. Modulation einer induzierten early-LTD

In diesem Versuchsabschnitt wird dargelegt, dass die dopaminerge Aktivierung der D1/D5-Rezeptoren in der CA1 Region ebenfalls einen modulatorischen Einfluss auf eine bereits induzierte early-LTD hat. Dabei wurde, wie schon bei den Untersuchungen zur LTP, ein spezifischer Zeitpunkt für die VTAHfs von 15 min nach Induktion einer sich normalerweise transient ausbildenden LTD genutzt und es wie schon bei der Modulation der LTP, auch hier zu einer Verstärkung der early-LTD zu einer late-LTD am frei beweglichen Tier kam (Abb. 29). Dieser Stimulationszeitpunkt der VTA wurde vergleichbar zu den LTP Untersuchungen gewählt.

Es wird davon ausgegangen, dass die VTAHfs zur Freisetzung von Dopamin führt, da die VTA aus einer heterogenen Gruppe von dopaminergen Neuronen besteht und wie bei den anderen Untersuchungen dieser Arbeit nachgewiesen wurde, dass durch VTAHfs die D1/D5-Rezeptoren in der CA1 aktiviert werden. Über die genaue Menge der Dopaminfreisetzung kann allerdings keine Aussage getroffen werden, da dazu bisher keine Untersuchungen durchgeführt wurden. Jedoch konnte in einer *in vitro* Arbeit von Sajikumar und Frey zumindest am hippocampalen CA1 Schnitt nachgewiesen werden, dass eine Abhängigkeit von der Dopaminkonzentration besteht, ob es zur Ausbildung einer Potenzierung oder Depression kommt. Dabei handelte es sich in diesem Fall um eine delayed-onset Potenzierung oder eine delayed-onset Depression (Sajikumar und Frey, 2004). Es zeigte sich bei einer wiederholten Applikation von 10 μM Dopamin eine delayed-onset LTD und bei Applikation einer höheren Dopaminkonzentration von 50 μM eine Potenzierung, eine delayed-onset LTP für das fEPSP in der CA1. Damit wurde verdeutlicht, dass Dopamin bei der Aktivierung der D1/D5-Rezeptoren in der CA1, sowohl bei der Ausbildung einer late-LTP, als auch bei der Ausbildung einer late-LTD beteiligt ist. Auch in dieser *in vivo* Arbeit an frei beweglichen Ratten wurde nachgewiesen, dass es durch die heterosynaptische Aktivierung der D1/D5-Rezeptoren mittels Dopamin zu einem spezifischen Zeitpunkt neben der Verstärkung einer early-LTP, auch zur Überführung einer early-LTD in eine late-LTD kommt.

Für die Ausbildung einer late-LTP oder late-LTD ist neben dieser heterosynaptischen Aktivierung das Setzen von „Synaptic Tags“ an den aktivierten glutamatergen Synapsen in der frühen Phase einer LTP oder LTD erforderlich, was auch diese *in vivo* Arbeit verdeutlicht. Erste *in vitro* Studien von Sajikumar et al. zur Analyse der dabei beteiligten Enzyme beim Setzen des „Tags“ bei LTP und LTD Prozessen verdeutlichten, dass es dabei eine unterschiedliche Enzymbeteiligung zwischen LTP und LTD gibt. So ist für das Setzen

eines spezifischen „Synaptic Tags“ die CaMKII bei der LTP und die mitogenaktivierte Proteinkinase (MAPK) bei der LTD in den apikalen Dendriten der CA1-Pyramidenzellen verantwortlich (Sajikumar et al., 2007). Die gesetzten „Tags“ sind also prozessspezifisch für LTP oder LTD. Durch die dopaminerge Aktivierung der D1/D5-Rezeptoren und der darauf folgenden Kaskade, kommt es zur Synthese von PRPs. Diese PRPs sind vermutlich zum Teil unspezifisch und können damit sowohl von LTP-, als auch LTD-„Tags“ genutzt werden, zum anderen können synthetisierte PRPs prozessspezifisch für LTP oder LTD sein (Sajikumar et al., 2004; Sajikumar et al., 2005). In weiteren Studien von Sajikumar et al. wurde PKM ζ als erstes prozessspezifisches PRP bei der Verstärkung einer LTP, jedoch nicht für die Verstärkung einer LTD für das fEPSP in den apikalen Dendriten der CA1 Region entdeckt (Sajikumar et al., 2005). Untersuchungen zur speziellen Enzymbeteiligung beim Setzen eines „Synaptic Tag“ und die Identifizierung von prozessspezifischen PRPs bei LTP oder LTD in der CA1 konnten im zeitlichen Rahmen dieser in vivo Arbeit nicht durchgeführt werden, sind jedoch für die nächsten in vivo Untersuchungen geplant.

Für die grundlegende in vivo Überprüfung, der anhand von in vitro Untersuchungen festgestellten notwendigen Aktivierung der D1/D5-Rezeptoren zur Verstärkung einer early-LTD, erfolgte in dieser Arbeit die pharmakologische Prüfung der dopaminergen D1/D5-Rezeptoraktivierung mittels Applikation des D1/D5-Rezeptorantagonisten SCH23390, um damit diese spezifische Rezeptoraktivierung in der hippocampalen CA1 als einen der essentiellen Bestandteile für die Ausbildung einer späten Phase der LTD ebenfalls nachzuweisen (Frey et al., 1989; Frey et al., 1990; Frey et al., 1991b; Sajikumar und Frey, 2004). Durch diese Applikation konnte die Verstärkung der transienten LTD in eine late-LTD verhindert werden (Abb.32). Damit wurde auch hier deutlich, dass die dopaminerge Aktivierung der D1/D5-Rezeptoren unter normalen physiologischen Bedingungen im Säugetierorganismus notwendig ist, um in der CA1 Region eine transiente LTD in eine late-LTD für das fEPSP zu verstärken. Durch diese Aktivierung und die dadurch ablaufenden biochemischen Prozesse, die zur Synthese von PRPs führen, kommt es sowohl zur Verstärkung einer transienten LTP, als auch, wie in diesem Abschnitt dargelegt, einer transienten LTD. Es kann sein, dass diese synthetisierten Proteine aus unspezifischen, als auch aus prozessspezifischen PRPs bestehen. Dies wurde bereits in Arbeiten von Sajikumar et al. diskutiert, wobei zum Beispiel die Prozessspezifität von PRPs anhand von PKM ζ für die LTP nachgewiesen wurde (Sajikumar et al., 2004; Sajikumar et al., 2005). Neben diesem ersten festgestellten prozessspezifischen Protein konnten auch prozessunspezifische Proteine,

wie die Phosphodiesterase Type-4B3, bei der Beteiligung an LTP, als auch LTD festgestellt werden (Ahmed und Frey, 2003; Ahmed et al., 2004; Navakkode et al., 2004).

Im Verlauf dieser gesamten in vivo Untersuchungen wurde letztendlich gezeigt, dass durch VTAHfs und damit der dopaminergen Aktivierung der D1/D5-Rezeptoren im Bereich der apikalen Dendriten nicht nur eine transiente LTP, sondern auch eine transiente LTD für das fEPSP im Bereich der apikalen Dendriten zu einer late-LTP/-LTD verstärkt werden konnte.

Im Bezug auf die Projektionen, der hier durchgeführten Aktivierung der cCA3 ist bekannt, dass diese eher zu den basalen Dendriten und dem proximalen Bereich der apikalen Dendriten der CA1 projizieren (Buzsaki und Eidelberg, 1982). Damit kommt es beim Einsatz eines Tetanisierungsprotokolls über diese Projektionen (zum Beispiel: PB-Protokoll) nicht nur, nach der Theorie des „Synaptic Tagging“, zum Setzen eines „Tags“ an den aktivierten Synapsen im Bereich der apikalen Dendriten, sondern auch an den aktivierten Synapsen im Bereich der basalen Dendriten. Die dopaminergen D1/D5-Rezeptoren befinden sich jedoch im Bereich der apikalen Dendriten, also weit entfernt von den basalen Dendriten im Stratum oriens. Daraus ergibt sich für zukünftige in vivo Studien die Frage, ob diese dopaminerge Aktivierung der D1/D5-Rezeptoren im Bereich der apikalen Dendriten durch VTAHfs, ebenfalls zu einer Verstärkung einer sich normalerweise transient ausbildenden LTD/LTP im Bereich der basalen Dendriten führt. Wenn dies der Fall wäre, würde dies suggerieren, dass die dopaminerge Aktivierung der D1/D5-Rezeptoren im Bereich der apikalen Dendriten einen modulatorischen Einfluss auf die Aktivität des gesamten Neurons in der CA1 hätte und es damit auch zur Interaktion des an den Synapsen im Bereich der basalen Dendriten gesetzten „Tags“ mit den durch die dopaminerge Aktivierung der D1/D5-Rezeptoren synthetisierten PRPs kommt. Für diese Untersuchung bedarf es weiterer in vivo, als auch in vitro Studien. Damit zeigt sich, dass die Ergebnisse dieser in vivo Arbeit die Grundlage für weitere wichtige Studien bilden könnten.

Das Einsetzen der Proteinsynthese und damit der Bildung der bereits beschriebenen PRPs ist notwendig für die Ausbildung einer späten Phase der LTP, wie es zum Beispiel bei diesen in vivo Studien in der CA1 gezeigt werden konnte, aber auch für die späte Phase der LTD, wie es in anderen Studien gezeigt werden konnte (Krug et al., 1984; Frey et al., 1988; Frey et al., 1989; Frey et al., 1991b; Frey et al., 1993a; Otani et al., 1989; Matthies et al., 1990b; Matthies und Reymann, 1993; Frey und Morris, 1997; Abel et al., 1997). So wiesen auch andere in vivo Studien an frei beweglichen Wistar Ratten die Abhängigkeit der späten Phase der LTD von Proteinsynthese nach (Manahan-Vaughan et al., 2000). Dabei wurde sowohl innerhalb einer Versuchsreihe der reversible Proteinsynthesehemmer Anisomycin, als auch in

einer anderen Versuchgruppe der Proteinsynthesehemmer Emetin jeweils 2 h vor Induktion einer LTD mit einem Protokoll, was normalerweise zur Ausbildung einer late-LTD führt, intracerebroventriculär appliziert. Die Kontrollgruppe mit Applikation eines Vehicle zeigte keine Beeinträchtigung der Ausbildung einer late-LTD, wohingegen durch Applikation von Anisomycin oder Emetin die Ausbildung einer late-LTD verhindert wurde und es demzufolge durch Unterdrückung der Proteinsynthese nur zur Ausbildung einer transienten Form der LTD kam. Untersuchungen zur Abhängigkeit von der Proteinsynthese bei der Verstärkung einer early-LTD konnten jedoch in dem zeitlichen Rahmen dieser hier vorgelegten Arbeit nicht erfolgen und werden in den nächsten Schritten ebenfalls durchgeführt werden.

Die Ergebnisse dieser Arbeit verdeutlichen, dass eine early-LTD durch Stimulation der VTA 15 min nach ihrer Induktion in eine late-LTD überführt werden konnte. Es stellte sich nun die Frage, kann die induzierte LTD auch verstärkt werden, wenn die VTA 15 min vor LTD Induktion hochfrequent stimuliert wird? Es wurde dabei gezeigt, dass die VTAhs 15 min vor Induktion der LTD nicht zu deren Verstärkung führt, jedoch war der Induktionslevel der Initialdepression signifikant erniedrigt gegenüber der LTD Induktion ohne zusätzliche Aktivierung der VTA (Abb. 30). Es scheint also, dass die dopaminerge Aktivierung der D1/D5-Rezeptoren zu einem spezifischen Zeitpunkt, in dieser Arbeit 15 min vor der Induktion der LTD, einen eventuellen Einfluss auf die glutamaterge Aktivierung der NMDA-Rezeptoren haben könnte. Für eine letztendliche Klärung dieses Ergebnisses bedarf es allerdings noch weiterer Studien.

Diese gesamten Untersuchungen verdeutlichen, dass die Erforschung des Einflusses der VTA zum Beispiel auf die Induktion und den Verlauf von plastizitätsrelevanten Prozessen, wie LTP und LTD in der hippocampalen CA1 von großer Bedeutung ist und es der weiteren Klärung vieler offener Frage bedarf.

Aussichten für zukünftige Untersuchungen

1. In dieser Arbeit wurde die Verstärkung einer early-LTP/early-LTD in eine late-LTP/late-LTD durch VTAhfs 15 min nach LTP/LTD Induktion untersucht und bestätigt. Für weitere Untersuchungen ist die experimentelle Feststellung des gesamten Zeitfensters für das Vorhandensein des „Tags“ an den aktivierten glutamatergen Synapsen vorgesehen, sowie Untersuchungen zur VTAhfs vor Induktion einer early-LTP, wie es schon bei den Untersuchungen zur LTD erfolgte.
2. Vervollständigung der Untersuchungen zu den hier gezeigten LTD-Daten, insbesondere die Erbringung des Nachweises der Proteinsyntheseabhängigkeit für die Verstärkung einer early-LTD in eine late-LTD durch VTAhfs. Für weitere Studien wäre ebenfalls die Ausweitung der Untersuchungen auf die Methode der Doppelableitung von fEPSP und PS möglich.
3. Für künftige, noch spezifischere pharmakologische Untersuchungen wird momentan ebenfalls an Präparationstechniken zur intrahippokampalen Applikation von Substanzen gearbeitet, um einen noch genaueren Wirkungsradius der eingesetzten Substanzen zu ermöglichen. Insbesondere besteht über diese Methode die Möglichkeit in vivo VTA induzierte spezifische PRPs, als auch „Tag“-Moleküle zu identifizieren.
4. Die hier gezeigten Ergebnisse beruhen alle auf VTAhfs. Für weitere Untersuchungen, wäre jedoch ebenfalls die Frage interessant, ob es bei einer niedrigfrequenten Stimulation der VTA ebenfalls zu Verstärkungseffekten für LTP/LTD kommt und ob es damit auch möglich ist eine delayed-onset Potenzierung zu induzieren.

5. Zusammenfassung

Anhand der am besten untersuchten Modelle der synaptischen Plastizität, der LTP und LTD, wurden in dieser Arbeit neben ihrer Induzierbarkeit, vor allem deren Modulationsmöglichkeiten durch Aktivierung der VTA untersucht sowie der Einfluss der VTAHfs auf die Basalaktivität von fEPSP und PS in der hippocampalen CA1 überprüft.

Für die Durchführung dieser in vivo Studien wurde die Methode der Doppelableitung zur gleichzeitigen, stabilen Registrierung von fEPSP und PS am Ort ihrer Generierung eingesetzt und damit in der CA1 Region an frei beweglichen Ratten etabliert. Diese Doppelableitung stellt für zukünftige Untersuchungen ein wichtiges methodisches Werkzeug dar. Die Möglichkeit der stabilen Doppelableitung konnte bereits in früheren Studien am DG ebenfalls an frei beweglichen Ratten gezeigt werden.

Als Grundlage für die durchgeführten Untersuchungen war es notwendig eine transient verlaufende Form von LTP und LTD zu induzieren. Dabei erfolgte die Stimulation der cCA3 mit dem entsprechenden Stimulationsprotokoll. So konnte durch die Tetanisierung der cCA3 mit einem schwachen Tetanus, dem so genannten PB-Stimulationsprotokoll eine transiente Form der LTP zuverlässig für das fEPSP und den PS in der CA1 induziert werden. Aufgrund dieser Basis war es möglich die Modulierbarkeit dieser induzierten early-LTP zu überprüfen. Nachdem in vitro Ergebnisse einen eindeutigen Einfluss durch dopaminerge Aktivierung der D1/D5-Rezeptors auf die Verstärkung einer LTP und LTD nachgewiesen haben, war die Ausweitung dieser Untersuchungen auf den kompletten, physiologisch intakten Organismus der nächste logische Schritt. Dabei war die VTA mit ihrem sehr großen Anteil dopaminerger Neurone und afferenten Verbindungen zur hippocampalen CA1 Region ein ideales Areal für diese Untersuchungen.

Die VTAHfs zu einem spezifischen Zeitpunkt, genau 15 min nach Induktion einer LTP, konnte diese normalerweise transient verlaufende LTP so verstärken, dass selbst nach 24 h noch eine deutlich signifikante Erhöhung der synaptischen Effizienz festgestellt werden konnte. Damit wurde die induzierte early-LTP durch die VTAHfs in eine late-LTP für fEPSP und PS verstärkt. Um jedoch den genauen Nachweis für eine dopaminerge Abhängigkeit dieser Verstärkung zu erbringen, wurden pharmakologische Untersuchungen durchgeführt. Dabei konnte durch eine intracerebroventriculäre Applikation eines D1/D5-Rezeptorantagonisten 10 min vor VTAHfs, jedoch nach Induktion der early-LTP, diese Verstärkung in eine late-LTP verhindert werden. Für eine solche späte Phase der LTP ist ebenfalls die Aktivierung der Proteinsynthese notwendig. Zu deren Überprüfung erfolgte die

intracerebroventriculäre Applikation des Proteinsynthesehemmer Anisomycin und in einer weiteren Versuchsgruppe die intracerebroventriculäre Applikation von Emetin jeweils 10 min vor VTAhfs und nach Induktion der early-LTP. Dies führte bei beiden Proteinsynthesehemmern zum Ausbleiben der Verstärkung in eine late-LTP.

Die LTP ist jedoch nicht der alleinige, bekannte Mechanismus im Hippokampus, welcher am Lernen und der Gedächtnisbildung beteiligt sein könnte. Für die Untersuchungen zur Modulationsmöglichkeit einer LTD war zuerst eine transiente Form notwendig. Dabei konnte durch die Stimulation der cCA3 mit 3000 Impulsen bei einer Frequenz von 10 Hz zuverlässig eine early-LTD in der CA1 Region induziert werden. Auf Grundlage dieser transienten LTD wurde der Einfluss der VTAhfs ebenfalls 15 min nach Induktion der early-LTD überprüft. Es konnte dabei ein ähnlicher Effekt, wie bei der Verstärkung der LTP registriert werden und die sich normalerweise transient ausbildende LTD wurde zu eine late-LTD verstärkt. Diese Verstärkung wurde auf die dopaminerge Aktivierung der D1/D5-Rezeptoren in der CA1 untersucht. Dabei ergab die intracerebroventriculäre Applikation 10 min vor VTAhfs und nach Induktion einer early-LTD das Ausbleiben der Verstärkung zu einer late-LTD. Damit wurde deutlich, dass das mesolimbische dopaminerge System nicht nur an der Modifikation der LTP, sondern auch an der Modifikation der LTD in der hippocampalen CA1 Region im normalen, physiologisch intakten Säugetierorganismus beteiligt sein kann.

Nach diesen Untersuchungen zur Modifikation von LTP und LTD konnte ebenfalls eine Beteiligung der dopaminergen Aktivierung der D1/D5-Rezeptoren an der Induktion einer Potenzierung in der hippocampalen CA1 Region nachgewiesen werden. Dabei führte eine VTAhfs zur Ausbildung einer delayed-onset Potenzierung für fEPSP und PS. Diese delayed-onset Potenzierung beschreibt einen langsamen und verzögerten Anstieg des fEPSP-slopes und der PSA nach VTAhfs. Eine Überprüfung der Abhängigkeit vom dopaminergen Transmittersystem erfolgte hier ebenfalls durch die intracerebroventriculäre Applikation eines D1/D5-Rezeptorantagonisten 10 min vor VTAhfs. Dies führte zum Ausbleiben dieser Potenzierung für fEPSP und PS. Zusätzlich wurde die Beteiligung der NMDA-Rezeptoraktivierung an der Induktion dieser delayed-onset Potenzierung, zum einen durch Blockade der NMDA-Rezeptoren durch intracerebroventriculäre Applikation des NMDA-Rezeptorantagonisten AP5 10 min vor VTAhfs und zum anderen durch das Ausbleiben der Teststimulationen der cCA3 für 3 h nach VTAhfs untersucht. Beide Untersuchungsmethoden führten zur Unterdrückung der Ausbildung einer delayed-onset Potenzierung. Damit zeigte sich, dass die Induktion dieser delayed-onset Potenzierung in der hippocampalen CA1 Region von der synergistischen Aktivierung, sowohl der glutamatergen, als auch der dopaminergen

Rezeptoraktivierung abhängig ist. Die in dieser Arbeit ermittelten Resultate verdeutlichen insgesamt eine große Bedeutung der dopaminergen Rezeptoraktivierung in der hippocampalen CA1 Region und der damit verbundenen Beteiligung der VTA bei der Ausbildung und der Modifikation von Langzeitpotenzierungen und Langzeitdepressionen. Das mesolimbische dopaminerge System scheint bei den Prozessen, die beim Lernen und an der Bildung von Gedächtnisinhalten beteiligt sind, eine besondere Bedeutung zu besitzen.

6. Literaturverzeichnis

- Abel T, Nguyen PV, Barad M, Deuel TA, Kandel ER, Bourtchouladze R (1997) Genetic demonstration of a role for PKA in the late phase of LTP and in hippocampus-based long-term memory. *Cell* 88: 615-626.
- Abraham WC (2003). How long will long-term potentiation last? *Philos Trans Roy Soc Lond [Biol]*. 358: 735-744
- Abraham WC, Kairiss EW (1988) Effects of the NMDA antagonist 2AP5 on complex spike discharge by hippocampal pyramidal cells. *Neurosci Lett* 89: 36-42.
- Abraham WC, Mason-Parker SE, Irvine GI, Logan B, Gill AI (2006) Induction and activity-dependent reversal of persistent LTP and LTD in lateral perforant path synapses in vivo. *Neurobiol Learn Mem* 86: 82-90.
- Abraham WC, Mason-Parker SE, Williams J, Dragunow M (1995) Analysis of the decremental nature of LTP in the dentate gyrus. *Brain Res Mol Brain Res* 30: 367-372.
- Abraham WC, Williams JM (2008) LTP maintenance and its protein synthesis-dependence. *Neurobiol Learn Mem* 89: 260-268.
- Ahmed T, Frey JU (2003) Expression of the specific type IV phosphodiesterase gene PDE4B3 during different phases of long-term potentiation in single hippocampal slices of rats in vitro. *Neurosci* 117: 627-638
- Ahmed T, Frey S, Frey JU (2004) Regulation of the phosphodiesterase PDE4B3-isotype during long-term potentiation in the area dentate in vivo. *Neurosci* 124:857-867
- Alkon DL, Amaral DG, Bear MF, Black J, Carew TJ, Cohen NJ, Disterhoft JF, Eichenbaum H, Golski S, Gorman LK (1991) Learning and memory. FESN Study Group. *Brain Res Brain Res Rev* 16: 193-220.
- Alvarez P, Squire LR (1994) Memory consolidation and the medial temporal lobe: a simple network model. *Proc Natl Acad Sci USA* 91: 7041-7045.
- Amaral DG, Witter MP (1989) The three-dimensional organization of the hippocampal formation: a review of anatomical data. *Neuroscience* 31: 571-591.
- Amaral DG, Witter MP (1995) Hippocampal formation. In: Paxinos G (Hrsg.). *The rat nervous system*. San Diego: Academic press. pp 443-492.
- Anagnostaras SG, Maren S, Fanselow MS (1999) Temporally graded retrograde amnesia of contextual fear after hippocampal damage in rats: within-subjects examination. *J Neurosci* 19: 1106-1114.
- Bardo MT, Donohew RL, Harrington NG (1996) Psychobiology of novelty seeking and drug seeking behavior. *Behav Brain Res* 77: 23-43.
- Bear MF, Malenka RC (1994) Synaptic plasticity: LTP and LTD. *Curr Opin Neurobiol* 4: 389-399.

- Bekenstein JW, Lothman EW (1991) An in vivo study of the ontogeny of long-term potentiation (LTP) in the CA1 region and in the dentate gyrus of the rat hippocampal formation. *Brain Res Dev Brain Res* 63: 245-251.
- Bergado JA, Frey S, Lopez J, maguer-Melian W, Frey JU (2007) Cholinergic afferents to the locus coeruleus and noradrenergic afferents to the medial septum mediate LTP-reinforcement in the dentate gyrus by stimulation of the amygdala. *Neurobiol Learn Mem* 88: 331-341.
- Bergado JA, Scherf T, maguer-Melian W, Frey S, Lopez J, Frey JU (2009) Stimulation of the nucleus raphe medialis modifies basal synaptic transmission at the dentate gyrus, but not long-term potentiation or its reinforcement by stimulation of the basolateral amygdala. *Neurosci Lett* 464: 179-183.
- Bernabeu R, Cammarota M, Izquierdo I, Medina JH (1997) Involvement of hippocampal AMPA glutamate receptor changes and the cAMP/protein kinase A/CREB-P signalling pathway in memory consolidation of an avoidance task in rats. *Braz J Med Biol Res* 30: 961-965.
- Bischoff S (1986) Mesohippocampal dopamine system: characterization, functional and clinical implications. In: Isaacson R.L. and Pribram K.H. (Eds.), *The Hippocampus*. Plenum Press, New York, pp 1-32.
- Bliss TV, Collingridge GL (1993) A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature* 361: 31-39.
- Bliss TV, Gardner-Medwin, AR (1971) Long-lasting increases of synaptic influence in the unanesthetized hippocampus. *J Physiol* 216: 32P-33P.
- Bliss TV, Lancaster B, Wheal HV (1983) Long-term potentiation in commissural and Schaffer projections to hippocampal CA1 cells: an in vivo study in the rat. *J Physiol* 341: 617-626.
- Bliss TV, Lomo T (1973) Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J Physiol* 232: 331-356.
- Bliss TV, Richards, CD (1971) Some experiments with in vitro hippocampal slices. *J Physiol* 214: 7P-9P.
- Bliss TV, Richter-Levin G (1993) Spatial learning and the saturation of long-term potentiation. *Hippocampus* 3: 123-125.
- Brandon EP, Zhuo M, Huang YY, Qi M, Gerhold KA, Burton KA, Kandel ER, McKnight GS, Idzerda RL (1995) Hippocampal long-term depression and depotentiation are defective in mice carrying a targeted disruption of the gene encoding the RI beta subunit of cAMP-dependent protein kinase. *Proc Natl Acad Sci USA* 92: 8851-8855.
- Braunewell KH, Manahan-Vaughan D (2001) Long-term depression: a cellular basis for learning? *Rev Neurosci* 12: 121-140.
- Brindle PK, Montminy MR (1992) The CREB family of transcription activators. *Curr Opin Genet Dev* 2: 199-204.

- Buzsaki G, Eidelberg E (1982) Convergence of associational and commissural pathways on CA1 pyramidal cells of the rat hippocampus. *Brain Res* 237: 283-295.
- Carroll RC, Lissin DV, von Zastrow M, Nicoll RA, Malenka RC (1999) Rapid redistribution of glutamate receptors contributes to long-term depression in hippocampal cultures. *Nat Neurosci* 2: 454-460.
- Chen C, Tonegawa S (1997) Molecular genetic analysis of synaptic plasticity, activity-dependent neural development, learning, and memory in the mammalian brain. *Annu Rev Neurosci* 20: 157-184.
- Chen Z, Fujii S, Ito K, Kato H, Kaneko K, Miyakawa H (1995) Activation of dopamine D1 receptors enhances long-term depression of synaptic transmission induced by low frequency stimulation in rat hippocampal CA1 neurons. *Neurosci Lett* 188: 195-198.
- Clark RE, West AN, Zola SM, Squire LR (2001) Rats with lesions of the hippocampus are impaired on the delayed nonmatching-to-sample task. *Hippocampus* 11: 176-186.
- Cohen NJ, Squire LR (1980) Preserved learning and retention of pattern-analyzing skill in amnesia: dissociation of knowing how and knowing that. *Science* 210: 207-210.
- Collingridge GL (1985) Long-term potentiation in the hippocampus: mechanism of initiation and modulation by neurotransmitters. *Trends in Pharmacology Science* 6: 407-411.
- Cooper LD, Aronson L, Balsam PD, Gibbon J (1990) Duration of signals for intertrial reinforcement and nonreinforcement in random control procedures. *J Exp Psychol Anim Behav Process* 16: 14-26.
- Cooper SJ (1991) Interactions between endogenous opioids and dopamine: implications for reward and aversion. In: *The mesolimbic dopamine system: from motivation to action* (Wilner P, Scheel-Kruger J, eds) 331-366.
- Deadwyler SA, Dunwiddie T, Lynch G (1987) A critical level of protein synthesis is required for long-term potentiation. *Synapse* 1: 90-95.
- Deisseroth K, Heist EK, Tsien RW (1998) Translocation of calmodulin to the nucleus supports CREB phosphorylation in hippocampal neurons. *Nature* 392: 198-202.
- Diamond DM, Dunwiddie TV, Rose GM (1988) Characteristics of hippocampal primed burst potentiation in vitro and in the awake rat. *J Neurosci* 8: 4079-4088.
- Dobrunz LE, Huang EP, Stevens CF (1997) Very short-term plasticity in hippocampal synapses. *Proc Natl Acad Sci USA* 94: 14843-14847.
- Doralp S, Leung LS (2008) Cholinergic modulation of hippocampal CA1 basal-dendritic long-term potentiation. *Neurobiol Learn Mem* 90: 382-388.
- Dudek SM, Bear MF (1992) Homosynaptic long-term depression in area CA1 of hippocampus and effects of N-methyl-D-aspartate receptor blockade. *Proc Natl Acad Sci USA* 89: 4363-4367.
- Dunwiddie T, Lynch G (1978) Long-term potentiation and depression of synaptic responses in the rat hippocampus: localization and frequency dependency. *J Physiol* 276: 353-367.

- Dutar P, Bassant MH, Senut MC, Lamour Y (1995) The septohippocampal pathway: structure and function of a central cholinergic system. *Physiol Rev* 75: 393-427.
- Eichenbaum H (2001) The long and winding road to memory consolidation. *Nat Neurosci* 4: 1057-1058.
- Empson RM, Heinemann U (1995) The perforant path projection to hippocampal area CA1 in the rat hippocampal-entorhinal cortex combined slice. *J Physiol* 484 (Pt 3): 707-720.
- Fazeli MS, Corbet J, Dunn MJ, Dolphin AC, Bliss TV (1993) Changes in protein synthesis accompanying long-term potentiation in the dentate gyrus in vivo. *J Neurosci* 13: 1346-1353.
- Frey JU (2001) Long-lasting hippocampal plasticity: cellular model for memory consolidation? *Results Probl Cell Differ* 34: 27-40.
- Frey S, Bergado JA, Frey JU (2003) Modulation of late phases of long-term potentiation in rat dentate gyrus by stimulation of the medial septum. *Neuroscience* 118: 1055-1062.
- Frey S, Bergado-Rosado J, Seidenbecher T, Pape HC, Frey JU (2001) Reinforcement of early long-term potentiation (early-LTP) in dentate gyrus by stimulation of the basolateral amygdala: heterosynaptic induction mechanisms of late-LTP. *J Neurosci* 21: 3697-3703.
- Frey S, Frey JU (2009) Synaptic plasticity and the analysis of the field-EPSP as well as the population spike using separate recording electrodes in the dentate gyrus in freely moving rats. *J Neurosci Methods* 184: 79-87.
- Frey S, Schwiebert C, Krug M, Lossner B (1991a) Long-term potentiation induced changes in protein synthesis of hippocampal subfields of freely moving rats: time-course. *Biomed Biochim Acta* 50: 1231-1240.
- Frey U (1997) Cellular mechanisms of long-term potentiation: late maintenance. In: Donahoe J.W. and Dorsal V.P. (Eds.), *Neural Network Models of Cognition: Biobehavioural Foundations*. Elsevier Science Press, Amsterdam 105-128.
- Frey U, Frey S, Schollmeier F, Krug M (1996) Influence of actinomycin D, a RNA synthesis inhibitor, on long-term potentiation in rat hippocampal neurons in vivo and in vitro. *J Physiol* 490 (Pt 3): 703-711.
- Frey U, Hartmann S, Matthies H (1989) Domperidone, an inhibitor of the D2-receptor, blocks a late phase of an electrically induced long-term potentiation in the CA1-region in rats. *Biomed Biochim Acta* 48: 473-476.
- Frey U, Huang YY, Kandel ER (1993a) Effects of cAMP stimulate a late stage of LTP in hippocampal CA1 neurons. *Science* 260:1661-1664.
- Frey U, Krug M, Brodemann R, Reymann K, Matthies H (1989) Long-term potentiation induced in dendrites separated from rat's CA1 pyramidal somata does not establish a late phase. *Neurosci Lett* 97: 135-139.
- Frey U, Krug M, Reymann KG, Matthies H (1988) Anisomycin, an inhibitor of protein synthesis, blocks late phases of LTP phenomena in the hippocampal CA1 region in vitro. *Brain Res* 452: 57-65.

- Frey U, Matthies H, Reymann KG, Matthies H (1991b) The effect of dopaminergic D1 receptor blockade during tetanization on the expression of long-term potentiation in the rat CA1 region in vitro. *Neurosci Lett* 129: 111-114.
- Frey U, Morris RG (1997) Synaptic Tagging and long-term potentiation. *Nature* 385: 533-536
- Frey U, Morris RG (1998a) Synaptic tagging: implications for late maintenance of hippocampal long-term potentiation. *Trends Neurosci* 21: 181-188.
- Frey U, Morris RG (1998b) Weak before strong: dissociating synaptic tagging and plasticity-factor accounts of late-LTP. *Neuropharmacology* 37: 545-552.
- Frey U, Schollmeier K, Reymann KG, Seidenbecher T (1995) Asymptotic hippocampal long-term potentiation in rats does not preclude additional potentiation at later phases. *Neuroscience* 67: 799-807.
- Frey U, Schroeder H, Matthies H (1990) Dopaminergic antagonists prevent long-term maintenance of posttetanic LTP in the CA1 region of rat hippocampal slices. *Brain Res* 522: 69-75.
- Frey U, Seidenbecher T, Krug M (1993b) The action of the RNA-synthesis inhibitor anisomycin D on a late stage of LTP in hippocampal neurons in vivo and in vitro. *Society Neuroscience Abstract* 19, 912.
- Gasbarri A, Verney C, Innocenzi R, Campana E, Pacitti C (1994) Mesolimbic dopaminergic neurons innervating the hippocampal formation in the rat: a combined retrograde tracing and immunohistochemical study. *Brain Res* 668: 71-79.
- Gomperts SN, Carroll R, Malenka RC, Nicoll RA (2000) Distinct roles for ionotropic and metabotropic glutamate receptors in the maturation of excitatory synapses. *J Neurosci* 20: 2229-2237.
- Gutlerner JL, Penick EC, Snyder EM, Kauer JA (2002) Novel protein kinase A-dependent long-term depression of excitatory synapses. *Neuron* 36: 921-931.
- Hassan H, Frey S, Frey JU (2006) Search for a two-input model for future investigations of 'synaptic tagging' in freely moving animals in vivo. *J Neurosci Methods* 152: 220-228.
- Hebb DO (1949) *The organization of behaviour*. New York. Wiley.
- Heynen AJ, Bear MF (2001) Long-term potentiation of thalamocortical transmission in the adult visual cortex in vivo. *J Neurosci* 21: 9801-9813.
- Hirai H (2001) Modification of AMPA receptor clustering regulates cerebellar synaptic plasticity. *Neurosci Res* 39: 261-267.
- Huang EP (1998) Synaptic plasticity: going through phases with LTP. *Curr Biol* 8: R350-R352.
- Huang YY, Kandel ER (1994) Recruitment of long-lasting and protein kinase A-dependent long-term potentiation in the CA1 region of hippocampus requires repeated tetanization. *Learn Mem* 1: 74-82.

- Huang YY, Kandel ER (1995) D1/D5 receptor agonists induce a protein synthesis-dependent late potentiation in the CA1 region of the hippocampus. *Proc Natl Acad Sci USA* 92: 2446-2450.
- Izquierdo I, McGaugh JL (2000) Behavioural pharmacology and its contribution to the molecular basis of memory consolidation. *Behav Pharmacol* 11: 517-534.
- Izquierdo I, Medina JH (1997) Memory formation: the sequence of biochemical events in the hippocampus and its connection to activity in other brain structures. *Neurobiol Learn Mem* 68: 285-316.
- Jarrard LE (1983) Selective hippocampal lesions and behavior: effects of kainic acid lesions on performance of place and cue tasks. *Behav Neurosci* 97: 873-889.
- Jarrard LE (1993) On the role of the hippocampus in learning and memory in the rat. *Behav Neural Biol* 60: 9-26.
- Jarrard LE, Davidson TL (1991) On the hippocampus and learned conditional responding: effects of aspiration versus ibotenate lesions. *Hippocampus* 1: 107-117.
- Jarrard LE, Feldon J, Rawlins JN, Sinden JD, Gray JA (1986) The effects of intrahippocampal ibotenate on resistance to extinction after continuous or partial reinforcement. *Exp Brain Res* 61: 519-530.
- Jones EG (1994) Santiago Ramon y Cajal and the Croonian Lecture, March 1894. *Trends Neurosci* 17: 190-192.
- Jones EG (1999) Colgi, Cajal and the Neuron Doctrine. *J Hist Neurosci* 8: 170-178.
- Jork R, Grecksch G, Matthies H (1982) Apomorphine and glycoprotein synthesis during consolidation. *Pharmacol Biochem Behav* 17: 11-13.
- Kaibara T, Leung LS (1993) Basal versus apical dendritic long-term potentiation of commissural afferents to hippocampal CA1: a current-source density study. *J Neurosci* 13: 2391-2404.
- Kameyama K, Lee HK, Bear MF, Huganir RL (1998) Involvement of a postsynaptic protein kinase A substrate in the expression of homosynaptic long-term depression. *Neuron* 21: 1163-1175.
- Kandel ER (2001) The molecular biology of memory storage: a dialogue between genes and synapses. *Science* 294: 1030-1038
- Karnup S, Stelzer A (1999) Temporal overlap of excitatory and inhibitory afferent input in guinea-pig CA1 pyramidal cells. *J Physiol* 516 (Pt 2): 485-504.
- Kauer JA, Malenka RC, Nicoll RA (1988) NMDA application potentiates synaptic transmission in the hippocampus. *Nature* 334: 250-252.
- Kemp A, Manahan-Vaughan D (2004) Hippocampal long-term depression and long-term potentiation encode different aspects of novelty acquisition. *Proc Natl Acad Sci USA* 101: 8192-8197.

- Kemp A, Manahan-Vaughan D (2008) The hippocampal CA1 region and dentate gyrus differentiate between environmental and spatial feature encoding through long-term depression. *Cereb Cortex* 18: 968-977.
- Korz V, Frey JU (2004) Emotional and cognitive reinforcement of rat hippocampal long-term potentiation by different learning paradigms. *Neuron Glia Biol* 1: 253-261.
- Krnjevic K, Ropert N (1982) Electrophysiological and pharmacological characteristics of facilitation of hippocampal population spikes by stimulation of the medial septum. *Neuroscience* 7: 2165-2183.
- Krug M, Koch M, Schoof E, Wagner M, Matthies H (1989) Methylglucamine orotate, a memory-improving drug, prolongs hippocampal long-term potentiation. *Eur J Pharmacol* 173: 223-226.
- Krug M, Lossner B, Ott T (1984) Anisomycin blocks the late phase of long-term potentiation in the dentate gyrus of freely moving rats. *Brain Res Bull* 13: 39-42.
- Kullmann DM, Erdemli G, Asztely F (1996) LTP of AMPA and NMDA receptor-mediated signals: evidence for presynaptic expression and extrasynaptic glutamate spill-over. *Neuron* 17: 461-474.
- Leis T, Pallage V, Toniolo G, Will B (1984) Working memory theory of hippocampal function needs qualification. *Behav Neural Biol* 42: 140-157.
- Lemon N, Manahan-Vaughan D (2006) Dopamine D1/D5 receptors gate the acquisition of novel information through hippocampal long-term potentiation and long-term depression. *J Neurosci* 26: 7723-7729.
- Leung LS, Au AS (1994) Long-term potentiation as a function of test pulse intensity: a study using input/output profiles. *Brain Res Bull* 33: 453-460.
- Leung LS, Shen B, Kaibara T (1992) Long-term potentiation induced by patterned stimulation of the commissural pathway to hippocampal CA1 region in freely moving rats. *Neuroscience* 48: 63-74.
- Lewis D, Teyler TJ (1986) Long-term potentiation in the goldfish optic tectum. *Brain Res* 2: 246-250
- Ling DS, Benardo LS, Serrano PA, Blace N, Kelly MT, Crary JF, Sacktor TC (2002) Protein kinase Mzeta is necessary and sufficient for LTP maintenance. *Nat Neurosci* 5: 295-296.
- Lisman J (1989) A mechanism for the Hebb and the anti-Hebb processes underlying learning and memory. *Proc Natl Acad Sci USA* 86: 9574-9578.
- Lisman JE, Grace AA (2005) The hippocampal-VTA loop: controlling the entry of information into long-term memory. *Neuron* 46: 703-713.
- Lisman J, Spruston N (2005) Postsynaptic depolarization requirements for LTP and LTD: a critique of spike timing-dependent plasticity. *Nat Neurosci* 8: 839-841.

- Lorenzini CA, Baldi E, Bucherelli C, Sacchetti B, Tassoni G (1996) Role of dorsal hippocampus in acquisition, consolidation and retrieval of rat's passive avoidance response: a tetrodotoxin functional inactivation study. *Brain Res* 730: 32-39.
- Lynch G, Kessler M, Arai A, Larson J (1990) The nature and causes of hippocampal long-term potentiation. *Prog Brain Res* 83: 233-250.
- Lynch GS, Dunwiddie T, Gribkoff V (1977) Heterosynaptic depression: a postsynaptic correlate of long-term potentiation. *Nature* 266: 737-739.
- Malenka RC, Nicoll RA (1999) Long-term potentiation--a decade of progress? *Science* 285: 1870-1874.
- Malinow R, Schulman H, Tsien RW (1989) Inhibition of postsynaptic PKC or CaMKII blocks induction but not expression of LTP. *Science* 245: 862-866.
- Manahan-Vaughan D (1997) Group 1 and 2 metabotropic glutamate receptors play differential roles in hippocampal long-term depression and long-term potentiation in freely moving rats. *J Neurosci* 17: 3303-3311.
- Manahan-Vaughan D (1998) Priming of group 2 metabotropic glutamate receptors facilitates induction of long-term depression in the dentate gyrus of freely moving rats. *Neuropharmacology* 37: 1459-1464.
- Manahan-Vaughan D, Braunewell KH (1999) Novelty acquisition is associated with induction of hippocampal long-term depression. *Proc Natl Acad Sci USA* 96: 8739-8744.
- Manahan-Vaughan D (2000) Long-term depression in freely moving rats is dependent upon strain variation, induction protocol and behavioral state. *Cereb Cortex* 10: 482-487.
- Manahan-Vaughan D, Kulla A, Frey JU (2000) Requirement of translation but not transcription for the maintenance of long-term depression in the CA1 region of freely moving rats. *J Neurosci* 20: 8572-8576.
- Manahan-Vaughan D, Ngomba RT, Storto M, Kulla A, Catania MV, Chiechio S, Rampello L, Passarelli F, Capece A, Reymann KG, Nicoletti F (2003) An increased expression of the mGlu5 receptor protein following LTP induction at the perforant path-dentate gyrus synapse in freely moving rats. *Neuropharmacology* 44: 17-25.
- Mangiavacchi S, Wolf ME (2004) D1 dopamine receptor stimulation increases the rate of AMPA receptor insertion onto the surface of cultured nucleus accumbens neurons through a pathway dependent on protein kinase A. *J Neurochem* 88: 1261-1271.
- Marr D (1970) A theory for cerebral neocortex. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 176: 161-234
- Marr D (1971) Simple memory: a theory for archicortex. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 262: 23-81.
- Martig AK, Mizumori SJ (2010) Ventral tegmental area disruption selectively affects CA1/CA2 but not CA3 place fields during a differential reward working memory task. *Hippocampus*. Published online in Wiley InterScience.
- Martin KC, Kosik KS (2002) Synaptic tagging -- who's it? *Nat Rev Neurosci* 3: 813-820.

- Matthies H (1974) The biochemical basis of learning and memory. *Life Sci* 15: 2017-2031.
- Matthies H, Becker A, Schroeder H, Kraus J, Hollt V, Krug M (1997) Dopamine D1-deficient mutant mice do not express the late phase of hippocampal long-term potentiation. *Neuroreport* 8: 3533-3535.
- Matthies H, Frey U, Krug M, Pohle W, Reymann KG, Rüttrich H (1990a) Long-term synaptic potentiation and macromolecular changes in memory formation. *Ergebnisse der Experimentellen Medizin* 5: 188-94.
- Matthies H, Frey U, Reymann K, Krug M, Jork R, Schroeder H (1990b) Different mechanisms and multiple stages of LTP. *Adv Exp Med Biol* 268: 359-368.
- Matthies H, Reymann KG (1993) Protein kinase A inhibitors prevent the maintenance of hippocampal long-term potentiation. *Neuroreport* 4: 712-714.
- Mayr B, Montminy M (2001) Transcriptional regulation by the phosphorylation-dependent factor CREB. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2: 599-609.
- McEchron MD, Disterhoft JF (1999) Hippocampal encoding of non-spatial trace conditioning. *Hippocampus* 9: 385-396.
- Milner B, Penfield W (1955) The effect of hippocampal lesions on recent memory. *Transact Amer Neurol Assoc* 80: 42-48
- Mochida H, Sato K, Sasaki S, Yazawa I, Kamino K, Momose-Sato Y (2001) Effects of anisomycin on LTP in the hippocampal CA1: long-term analysis using optical recording. *Neuroreport* 12: 987-991.
- Moncada D und Viola H (2007) Induction of Long-Term Memory by Exposure to Novelty Requires Protein Synthesis: Evidence for a Behavioral Tagging. *J Neurosci* 27(28): 7476-7481
- Morris R (1984) Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. *J Neurosci Methods* 11: 47-60.
- Moser E, Mathiesen I, Andersen P (1993) Association between brain temperature and dentate field potentials in exploring and swimming rats. *Science* 259: 1324-1326.
- Moscovitch M, Nadel L (1998) Consolidation and the hippocampal complex revisited: in defense of the multiple-trace model. *Curr Opin Neurobiol* 8: 297-300.
- Moscovitch M, Nadel L (1999) Multiple-trace theory and semantic dementia: Response to K.S. Graham (1999). *Trends Cogn Sci* 3: 87-89.
- Moscovitch R, Cohen-Kashi S, Dror U, Levy I, Maimon A, Shahar Y (2006) Multiple hierarchical classification of free-text clinical guidelines. *Artif Intell Med* 37: 177-190.
- Mulkey RM, Malenka RC (1992) Mechanisms underlying induction of homosynaptic long-term depression in area CA1 of the hippocampus. *Neuron* 9: 967-975.
- Nadel L, Moscovitch M (1997) Memory consolidation, retrograde amnesia and the hippocampal complex. *Curr Opin Neurobiol* 7: 217-227.

- Nadel L, Samsonovich A, Ryan L, Moscovitch M (2000) Multiple trace theory of human memory: computational, neuroimaging, and neuropsychological results. *Hippocampus* 10: 352-368.
- Navakkode S, Sajikumar S, Frey JU (2004) The type IV-specific phosphodiesterase inhibitor rolipram and its effect in hippocampal long-term potentiation and synaptic tagging. *J Neurosci* 24: 7740-7744
- Navakkode S, Sajikumar S, Frey JU (2005) Mitogen-activated protein kinase-mediated reinforcement of hippocampal early long-term depression by the type IV-specific phosphodiesterase inhibitor rolipram and its effect on synaptic tagging. *J Neurosci* 25: 10664-10670.
- Navakkode S, Sajikumar S, Frey JU (2007) Synergistic requirements for the induction of dopaminergic D1/D5-receptor-mediated LTP in hippocampal slices of rat CA1 in vitro. *Neuropharmacology* 52: 1547-1554.
- Nayak A, Zastrow DJ, Lickteig R, Zahniser NR, Browning MD (1998) Maintenance of late-phase LTP is accompanied by PKA-dependent increase in AMPA receptor synthesis. *Nature* 394: 680-683.
- Nguyen PV, Abel T, Kandel ER (1994) Requirement of a critical period of transcription for induction of a late phase of LTP. *Science* 265: 1104-1107.
- Nguyen PV, Kandel ER (1996) A macromolecular synthesis-dependent late phase of long-term potentiation requiring cAMP in the medial perforant pathway of rat hippocampal slices. *J Neurosci* 16: 3189-3198.
- Nguyen PV, Kandel ER (1997) Brief theta-burst stimulation induces a transcription-dependent late phase of LTP requiring cAMP in area CA1 of the mouse hippocampus. *Learn Mem* 4: 230-243.
- Nguyen PV, Woo NH (2003) Regulation of hippocampal synaptic plasticity by cyclic AMP-dependent protein kinases. *Prog Neurobiol* 71: 401-437.
- O'Keefe J, Nadel L (1978) *The hippocampus as a cognitive map*. Oxford: Oxford University Press
- Osten P, Valsamis L, Harris A, Sacktor TC (1996) Protein synthesis-dependent formation of protein kinase Mzeta in long-term potentiation. *J Neurosci* 16: 2444-2451.
- Otani S, Abraham WC (1989) Inhibition of protein synthesis in the dentate gyrus, but not the entorhinal cortex, blocks maintenance of long-term potentiation in rats. *Neurosci Lett* 106: 175-180.
- Otani S, Marshall CJ, Tate WP, Goddard GV, Abraham WC (1989) Maintenance of long-term potentiation in rat dentate gyrus requires protein synthesis but not messenger RNA synthesis immediately post-tetanzation. *Neuroscience* 28: 519-526.
- Packard MG, White NM (1989) Memory facilitation produced by dopamine agonists: role of receptor subtype and mnemonic requirements. *Pharmacol Biochem Behav* 33: 511-518.

Parfitt KD, Doze VA, Madison DV, Browning MD (1992) Isoproterenol increases the phosphorylation of the synapsins and increases synaptic transmission in dentate gyrus, but not in area CA1, of the hippocampus. *Hippocampus* 2: 59-64.

Parvez S, Ramachandran B, Frey JU (2010) Functional differences between and across different regions of the apical branch of hippocampal CA1 dendrites with respect to long-term depression induction and synaptic cross-tagging. *J Neurosci* 30: 5118-5123.

Penfield W, Rasmussen T (1950) *The Cerebral Cortex of Man. A Clinical Study of Localization of Function.* New York, The Macmillan Comp.

Pierre Paul Broca (1861) Perte de la Parole, Ramollissement Chronique et Destruction Partielle du Lobe Antérieur Gauche du Cerveau. *Bulletin de la Société Anthropologique* 2: 235-238.

Pike FG, Meredith RM, Olding AW, Paulsen O (1999) Rapid report: postsynaptic bursting is essential for 'Hebbian' induction of associative long-term potentiation at excitatory synapses in rat hippocampus. *J Physiol* 518 (Pt 2): 571-576.

Racca C, Stephenson FA, Streit P, Roberts JD, Somogyi P (2000) NMDA receptor content of synapses in stratum radiatum of the hippocampal CA1 area. *J Neurosci* 20: 2512-2522.

Racine RJ, Milgram NW, Hafner S (1983) Long-term potentiation phenomena in the rat limbic forebrain. *Brain Res* 260: 217-231.

Raymond CR (2008) Different requirements for action potentials in the induction of different forms of long-term potentiation. *J Physiol* 586: 1859-1865.

Raman IM, Tong G, Jahr CE (1996) Beta-adrenergic regulation of synaptic NMDA receptors by cAMP-dependent protein kinase. *Neuron* 16: 415-421.

Ramon y Cajal S (1968) *The structure of Ammon's horn: implications of normal brain development for the pathogenesis of schizophrenia.* LM Kraff transl. Charles C Thomas, Springfield, IL.

Ramon y Cahal (1896) in: Fuster, Joaquin M (1999) *Memory in the in the cerebral cortex: an empirical approach to neural networks in the human and nonhuman primate.* Cambridge, Massachusetts, London England.

Rebec GV, Pierce RC (1994) A vitamin as neuromodulator: ascorbate release into the extracellular fluid of the brain regulates dopaminergic and glutamatergic transmission. *Prog Neurobiol* 43: 537-565.

Reymann KG (1988) A multi-phase model of synaptic long-term potentiation in hippocampal CA1 neurons: protein kinase C activation and protein synthesis are required for the maintenance of the trace. In: Haas H.L. and Buzsaki G. (Eds.), *Synaptic Plasticity in the Hippocampus.* Springer, Berlin, Heidelberg 126-129.

Reymann KG, Brodemann R, Kase H, Matthies H (1988a) Inhibitors of calmodulin and protein kinase C block different phases of hippocampal long-term potentiation. *Brain Res* 461: 388-392.

- Reymann KG, Frey U, Jork R, Matthies H (1988b) Polymyxin B, an inhibitor of protein kinase C, prevents the maintenance of synaptic long-term potentiation in hippocampal CA1 neurons. *Brain Res* 440: 305-314.
- Reymann KG, Frey JU (2007) The late maintenance of hippocampal LTP: requirements, phases, 'synaptic tagging', 'late-associativity' and implications. *Neuropharmacology* 52: 24-40.
- Reymann KG, Malisch R, Schulzeck K, Brodemann R, Ott T, Matthies H (1985) The duration of long-term potentiation in the CA1 region of the hippocampal slice preparation. *Brain Res Bull* 15: 249-255.
- Riedel G, Wetzel W, Reymann KG (1996) Comparing the role of metabotropic glutamate receptors in long-term potentiation and in learning and memory. *Progress in Neuro-Psychopharmacol and Biol Psychiat* Vol. 20. pp. 761-789
- Riedel G, Reymann KG (1996) Metabotropic glutamate receptors in hippocampal long-term potentiation and learning and memory. *Acta Physiol Scand* 157: 1-19.
- Robert A, Howe JR, Waxman SG (2000) Development of glutamatergic synaptic activity in cultured spinal neurons. *J Neurophysiol* 83: 659-670.
- Rosenbaum RS, Priselac S, Kohler S, Black SE, Gao F, Nadel L, Moscovitch M (2000) Remote spatial memory in an amnesic person with extensive bilateral hippocampal lesions. *Nat Neurosci* 3: 1044-1048.
- Sacktor TC, Osten P, Valsamis H, Jiang X, Naik MU, Sublette E (1993) Persistent activation of the zeta isoform of protein kinase C in the maintenance of long-term potentiation. *Proc Natl Acad Sci USA* 90: 8342-8346.
- Sajikumar S, Frey JU (2003) Anisomycin inhibits the late maintenance of long-term depression in rat hippocampal slices in vitro. *Neurosci Lett* 338: 147-150.
- Sajikumar S, Frey JU (2004) Late-associativity, synaptic tagging, and the role of dopamine during LTP and LTD. *Neurobiol Learn Mem* 82: 12-25.
- Sajikumar S, Navakkode S, Frey JU (2005a) Protein synthesis-dependent long-term functional plasticity: methods and techniques. *Curr Opin Neurobiol* 15: 607-613.
- Sajikumar S, Navakkode S, Frey JU (2007) Identification of compartment- and process-specific molecules required for "synaptic tagging" during long-term potentiation and long-term depression in hippocampal CA1. *J Neurosci* 27: 5068-5080.
- Sajikumar S, Navakkode S, Sacktor TC, Frey JU (2005b) Synaptic tagging and cross-tagging: the role of protein kinase Mzeta in maintaining long-term potentiation but not long-term depression. *J Neurosci* 25: 5750-5756.
- Scatton B, Simon H, Le MM, Bischoff S (1980) Origin of dopaminergic innervation of the rat hippocampal formation. *Neurosci Lett* 18: 125-131.
- Scherf T, Frey JU, Frey S (2010) Simultaneous recording of the field-EPSP as well as the population spike in the CA1 region in freely moving rats by using a fixed "double"-recording electrode. *J Neurosci Methods* 188: 1-6

Schultz W, Apicella P, Ljungberg T (1993) Responses of monkey dopamine neurons to reward and conditioned stimuli during successive steps of learning a delayed response task. *J Neurosci* 13: 900-913.

Scoville WB, Milner B (1957) Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 20: 11-21.

Scoville WB, Milner B (2000) Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. 1957. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 12: 103-113.

Seidenbecher T, Reymann KG, Balschun D (1997) A post-tetanic time window for the reinforcement of long-term potentiation by appetitive and aversive stimuli. *Proc Natl Acad Sci USA* 94: 1494-1499.

Sherrington CS (1906) Charles Scribner's Sons: New York.

Soderling TR, Derkach VA (2000) Postsynaptic protein phosphorylation and LTP. *Trends Neurosci* 23: 75-80.

Spencer PM, Wheal HV (1990) Synaptic inhibition in the rat hippocampus in vivo following stimulation of the substantia nigra and ventral tegmentum. *J Physiol* 423: 77-90

Squire LR (1992) Memory and the hippocampus: a synthesis from findings with rats, monkeys, and humans. *Psychol Rev* 99: 195-231.

Squire LR (2004) Memory systems of the brain: a brief history and current perspective. *Neurobiol Learn Mem* 82: 171-177.

Squire LR, Alvarez P (1995) Retrograde amnesia and memory consolidation: a neurobiological perspective. *Curr Opin Neurobiol* 5: 169-177.

Squire LR, Clark RE, Knowlton BJ (2001) Retrograde amnesia. *Hippocampus* 11: 50-55.

Squire LR, Knowlton B, Musen G (1993) The structure and organization of memory. *Annu Rev Psychol* 44: 453-495.

Squire LR, Zola-Morgan S (1991) The medial temporal lobe memory system. *Science* 253: 1380-1386.

Stanton PK, Sarvey JM (1984) Blockade of long-term potentiation in rat hippocampal CA1 region by inhibitors of protein synthesis. *J Neurosci* 4: 3080-3088.

Staubli U, Lynch G (1987) Stable hippocampal long-term potentiation elicited by 'theta' pattern stimulation. *Brain Res* 435: 227-234.

Staubli U, Scafidi J (1997) Studies on long-term depression in area CA1 of the anesthetized and freely moving rat. *J Neurosci* 17: 4820-4828.

Staubli UV, Ji ZX (1996) The induction of homo- vs. heterosynaptic LTD in area CA1 of hippocampal slices from adult rats. *Brain Res* 714: 169-176.

Steward O, Scoville SA (1976) Cells of origin of entorhinal cortical afferents to the hippocampus and fascia dentata of the rat. *J Comp Neurol* 169: 347-370.

- Swanson LW (1982) The projections of the ventral tegmental area and adjacent regions: a combined fluorescent retrograde tracer and immunofluorescence study in the rat. *Brain Res Bull* 9: 321-353.
- Swanson-Park JL, Coussens CM, Mason-Parker SE, Raymond CR, Hargreaves EL, Dragunow M, Cohen AS, Abraham WC (1999) A double dissociation within the hippocampus of dopamine D1/D5 receptor and beta-adrenergic receptor contributions to the persistence of long-term potentiation. *Neuroscience* 92: 485-497.
- Tsien JZ, Huerta PT, Tonegawa S (1996) The essential role of hippocampal CA1 NMDA receptor-dependent synaptic plasticity in spatial memory. *Cell* 87: 1327-1338.
- Uzakov S, Frey JU, Korz V (2005) Reinforcement of rat hippocampal LTP by holeboard training. *Learn Mem* 12:165-171.
- Verney C, Baulac M, Berger B, Alvarez C, Vigny A, Helle KB (1985) Morphological evidence for a dopaminergic terminal field in the hippocampal formation of young and adult rat. *Neuroscience* 14: 1039-1052.
- Vickers CA, Dickson KS, Wyllie DJ (2005) Induction and maintenance of late-phase long-term potentiation in isolated dendrites of rat hippocampal CA1 pyramidal neurones. *J Physiol* 568: 803-813.
- Walaas SI, Greengard P (1991) Protein phosphorylation and neuronal function. *Pharmacol Rev* 43: 299-349.
- Walters ET, Byrne JH (1985) Long-term enhancement produced by activity-dependent modulation of *Aplysia* sensory neurons. *J Neurosci* 5: 662-672.
- West AE, Chen WG, Dalva MB, Dolmetsch RE, Kornhauser JM, Shaywitz AJ, Takasu MA, Tao X, Greenberg ME (2001) Calcium regulation of neuronal gene expression. *Proc Natl Acad Sci USA* 98: 11024-11031.
- Wilsch VW, Behnisch T, Jäger T, Reymann KG, Balschun D (1998) When are class I metabotropic glutamate receptors necessary for long-term potentiation? *J Neurosci* 18: 6071-6080.
- Witter MP, Groenewegen HJ, Lopes da Silva FH, Lohman AH (1989) Functional organization of the extrinsic and intrinsic circuitry of the parahippocampal region. *Prog Neurobiol* 33: 161-253.
- Xiao MY, Zhou Q, Nicoll RA (2001) Metabotropic glutamate receptor activation causes a rapid redistribution of AMPA receptors. *Neuropharmacology* 41: 664-671.
- Yamakura T, Shimoji K (1999) Subunit- and site-specific pharmacology of the NMDA receptor channel. *Prog Neurobiol* 59: 279-298.
- Yaniv D, Schafe GE, LeDoux JE, Richter-Levin G (2001) A gradient of plasticity in the amygdala revealed by cortical and subcortical stimulation, in vivo. *Neuroscience* 106: 613-620.

Zola-Morgan S, Squire LR, Amaral DG (1986) Human amnesia and the medial temporal region: enduring memory impairment following a bilateral lesion limited to field CA1 of the hippocampus. *J Neurosci* 6: 2950-2967.

Zola-Morgan S, Squire LR, Clower RP, Rempel NL (1993) Damage to the perirhinal cortex exacerbates memory impairment following lesions to the hippocampal formation. *J Neurosci* 13: 251-265.

7. Akürzungsverzeichnis

AMPA	α -Amino-3-hydro-5-methyl-4-isoazol-propionsäure
AP	anterior-posterior
AP5	D-2-amino-5-phosphonopentanoate
ATP	Adenosintriphosphat
CA	Cornu ammonis
CA1	Cornu ammonis 1
CA3	Cornu ammonis 3
CaMKII	α -Calcium-Calmodolin-abhängigen Proteinkinase II
cAMP	zyklisches Adenosin-3',5-monophosphat
cCA1	kontralaterale CA1 (Cornu ammonis 1)
cCA3	kontralaterale CA3 (Cornu ammonis 3)
CREB	cAMP response element-binding protein
DG	Gyrus dentatus
DNA	Desoxyribonukleinsäure (engl. deoxyribonucleic acid)
DV	dorso-ventral
early-LTP	early- long-term potentiation
early-LTD	early- long-term depression
fEPSP	exzitatorisches postsynaptisches Feldpotential
GABA	Gamma-Aminobuttersäure
GDP	Guanaosin-3, 5'-diphosphat
Gs	stimulatorisches G-Protein
GTP	Guanaosin-3, 5'-triphosphat
hf	hippokampale Fissur
i.c.v.	intracerebroventriculär
I/O	Input/Output
i.p.	intraperitoneal
IPSP	inhibitorisches postsynaptisches Potential
LFS	niedrigfrequente Stimulation (engl. low-frequency stimulation)
LTP	Langzeitpotenzierung (engl. long-term potentiation)
late-LTP	late-long-term potentiation
LTD	Langzeitdepression (engl. long-term depression)

late-LTD	late-long-term depression
MAPK	mitogenaktivierende Proteinkinase
MF	Moosfasern
mGluR	metabotroper Glutamatrezeptor
mRNA	Boten-Ribonukleinsäure (engl. messenger ribonucleic acid, mRNA)
ML	medio-lateral
NMDA	N-methyl-D-aspartat
NMDAR	N-methyl-D-aspartat Rezeptor
non-NMDAR	non- N-methyl-D-aspartat Rezeptor
PB	primed burst
PKA	Proteinkinase A
PKC	Proteinkinase C
PKMξ	Proteinkinase M zeta
PP	Tractus perforans (engl. perforant path)
PRP	plasticity-related protein
PS	Summenaktionspotential (engl. population spike)
PSA	Summenaktionspotential-Amplitude (engl. population spike amplitude)
PTP	posttetanische Potenzierung
S	Subikulum
SC	Schaffer-Kollaterale
SCH23390	R (+)-SCH23390-Hydrochlorid
s.lm.	Stratum lacunosum moleculare
s.o.	Stratum oriens
s.p.	Stratum pyramidale
s.r.	Stratum radiatum
STD	Kurzzeitdepression (engl. short-term depression)
STP	Kurzzeitpotenzierung (engl. short-term potentiation)
VTA	ventrales tegmentales Areal
VTAhfs	elektrische hochfrequente Stimulation der VTA

Anhang

I. Selbstständigkeitserklärung

Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die von mir eingereichte Dissertation mit dem Thema

“Modulation funktioneller Plastizität in der hippocampalen CA1 Region der
frei beweglichen Ratte”

selbstständig verfasst, nicht schon als Dissertation verwendet habe und die benutzten
Hilfsmittel und Quellen vollständig angegeben habe.

Weiterhin erkläre ich, dass ich weder diese noch eine andere Arbeit zur Erlangung des
akademischen Grades doctor rerum naturalium (Dr. rer. nat.) an anderen Einrichtungen
eingereicht habe.

Magdeburg, 22.10.2010

Dipl.-Biol. Thomas Scherf

II. Publikationen

Thomas Scherf, Julietta U. Frey and Sabine Frey (2010). Simultaneous recording of the field-EPSP as well as the population spike in the CA1 region in freely moving rats by using a fixed "double"-recording electrode. *Journal of Neuroscience Methods*. 188 (2010) 1-6

Jorge A. Bergado, **Thomas Scherf**, William Almaguer-Melian, Sabine Frey, Jeffrey Lopez, Julietta U. Frey (2009). Stimulation of the nucleus raphe medialis modifies basal synaptic transmission at the dentate gyrus, but not long-term potentiation or its reinforcement by stimulation of the basolateral amygdala. *Neuroscience Letters*. 464 (2009) 179-183.

Posterpräsentationen (abstracts)

Thomas Scherf, John Kudolo, Julietta Uta Frey, Sabine Frey

Influence of electrical stimulation of the ventral tegmental area on field potentials in hippocampal CA1 of freely moving rats: Synaptic tagging/capturing mechanisms in vivo. 40th SFN meeting, San Diego, USA, November 13-17, 2010

Thomas Scherf, Julietta U. Frey and Sabine Frey

Influence of electrical stimulation of the ventral tegmental area on field potentials in hippocampal CA1 of freely moving rats. XIIth Magdeburg International Neurobiological Symposium "Learning and Memory: Cellular and Systemic Views, Magdeburg, Germany, September 4-8, 2010

Sabine Frey, **Thomas Scherf** and Julietta U. Frey

Electrical Stimulation of the ventral tegmental area and its influence on synaptic plasticity in hippocampal CA1 of freely moving rats. 39th SFN meeting, Chicago, USA, October 17-21, 2009

Thomas Scherf, Julietta U. Frey and Sabine Frey

Reinforcement of an early-LTP in the hippocampal CA1 by stimulation of the ventral tegmental area in freely moving rats. 9th International Congress of the Polish Neuroscience Society, Warsaw, Poland, September 9 -12, 2009

Thomas Scherf, Julietta U. Frey and Sabine Frey

Hippocampal CA1-LTP and reinforcement of an early-LTP by stimulation of the ventral tegmental area in freely moving rats. 8th Göttingen Meeting of the German Neuroscience Society, Göttingen, Germany, March 25-29, 2009

Thomas Scherf, Julietta U. Frey and Sabine Frey

Long-term potentiation in the hippocampal CA1 region in freely moving rats – double recording of field-EPSP and population spike.

6th Meeting of European Neuroscience, Geneva, Switzerland, July 12-16, 2008

III. Lebenslauf

Persönliche Daten:

Vorname, Name: Thomas Scherf

Anschrift: Privat: Gustav-Ricker-Straße 24
39120 Magdeburg
E-Mail: thomas_scherf@gmx.de

Dienstl. Abteilung Neurophysiologie
Leibniz-Institut für Neurobiologie
Brenneckestraße 6
D-39118 Magdeburg
Telefon: +49-391-6263-430
+49-391-6263-409
E-Mail: thomas.scherf@ifn-magdeburg.de

Geburtsort: Karl-Marx-Stadt (Chemnitz)

Geburtsdatum: 17.8.1977

Staatsangehörigkeit: Deutsch

Berufspraxis und Praktika:

Juli 2006 - November 2006 Wissenschaftlicher Mitarbeiter in der AG Molekulare Neuroentwicklungsbiologie am Max-Planck-Institut für biophysikalische Chemie in Göttingen

Juli 2004 - Dezember 2005 Wissenschaftlicher Mitarbeiter in der AG Neurobiologie am Deutschen Primatenzentrum in Göttingen

November/ Dezember 2003 Praktikum im Bereich Neurophysiologie des Paul-Flechsig-Institutes Leipzig

Bildungsweg:

- April 2007 – April 2011 Doktorand in der Abt. Neurophysiologie am Leibniz-Institut für Neurobiologie in Magdeburg
Thema: „Modulation funktioneller Plastizität in der hippokampalen CA1 Region der frei beweglichen Ratte“
- Oktober 1996 - Juni 2003 Studium der Biologie an der Universität Leipzig
Spezialisierungsrichtungen: Neurobiologie, Genetik, Verhaltensbiologie und Psychologie
- Projektarbeit in Genetik (Neurogenetik): „Mikroinjektion modifizierter P-Element Vektoren“
- Diplomarbeit in Neurobiologie: „Zeitliche Verarbeitung von sinusförmig amplitudenmodulierten Stimuli bei Neuronen des medialen Trapezkörpers“
- 1992 - 1996 Gymnasium in Limbach-Oberfrohna
- 1990 - 1992 Realschule in Limbach-Oberfrohna
- 1984 - 1990 Allgemeinbildende Oberschule in Limbach-Oberfrohna