

**Elektrophysiologische Untersuchungen des
neuromodulatorischen Einfluss von Dopamin und
Noradrenalin auf die synaptische Plastizität von Schaffer-
Collateral-CA1 Synapsen des murinen Hippocampus**

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades

doctor rerum naturalium (Dr. rer. nat.)

genehmigt durch die Fakultät für Naturwissenschaften

der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg

von **M. Sc. Monique Klausch**

geb. am 23.02.1990 in Magdeburg

Gutachter: **Prof. Dr. Volkmar Leßmann**

Prof. Dr. Dietmar Schmitz

eingereicht am: 14.07.2023

verteidigt am: 22.05.2024

Elektrophysiologische Untersuchungen des neuromodulatorischen Einfluss von Dopamin und Noradrenalin auf die synaptische Plastizität von Schaffer-Collateral-CA1 Synapsen des murinen Hippocampus

Zusammenfassung:

Der Hippocampus stellt eine essentielle Gehirnstruktur der Gedächtnisbildung dar. Entsprechend seiner afferenten und efferenten Verbindungen werden zwei funktionelle Kompartimente entlang der longitudinalen (septotemporalen) Achse unterschieden: der dorsale Hippocampus (DH), welcher an räumlichem und episodischem Lernen beteiligt ist, sowie der ventrale Hippocampus (VH), der an der Verarbeitung emotionaler Gedächtnisinhalte mitverantwortlich ist. Mithilfe elektrophysiologischer Techniken eignet sich der Hippocampus hervorragend zur Untersuchung neuroplastischer Prozesse auf zellulärer Ebene: zur Untersuchung von Lern- und Gedächtnisvorgängen stellt dabei die Langzeitpotenzierung (LTP) ein wissenschaftlich anerkanntes elektrophysiologisches Korrelat dar. Einige in den Hippocampus projizierende Transmittersysteme wie das dopaminerge und noradrenerge System sind in der Lage, die hippocampale synaptische Plastizität zu modulieren und durch Voraktivierung (engl. *priming*) des Systems mit einem nachfolgenden plastizitätsinduzierenden Ereignis dauerhafte Veränderungen hervorzurufen.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde der Prozess des „Behavioral tagging“ (BT) im zellulären Modell auf synaptischer Ebene untersucht. Dieser beschreibt die, durch zeitlich nahe Kopplung eines schwachen Lernreizes mit einem salienten Ereignis, langfristige Speicherung des Lerninhaltes. Dazu wurde der neuromodulatorische Einfluss der Neurotransmitter Dopamins (DA) und Noradrenalin (NE) als metaplastizitätsinduzierendes Ereignis (engl. *priming*) zu unterschiedlichen Zeiten auf die Kurz- und Langzeitpotenzierung entlang der longitudinalen Achse eingehend untersucht: in männlichen, 8-15 Wochen alten C57BL/6J-Mäusen wurde an akuten Hirnschnittpräparaten die synaptische Plastizität an Schaffer-Collateral (SC)- CA1 Synapsen mithilfe extrazellulärer Feldpotentialableitungen analysiert. Dazu wurde ein schwacher LTP-induzierender Stimulus mit dem Neurotransmitter-Priming (d.h. exogener Applikation von Neurotransmittern) gekoppelt. Es konnte gezeigt werden, dass die dauerhafte Anwesenheit des exogenen DA eine Verstärkung der frühen Phase der LTP (engl. *early*, e-LTP) bedingt. Um möglicherweise zeitabhängig vorliegende neuromodulatorische Wirkungen der Neurotransmitter auf die e-LTP zu detektieren, wurde exogenes DA bzw. NE zu unterschiedlichen Zeitpunkten (engl. *priming time*, PT) -bezogen auf den schwachen LTP-induzierenden Stimulus- entweder vor (proaktiv), zeitgleich mit (aktiv) oder nach (retroaktiv) der LTP-Induktion appliziert. Die Applikation von exogenem DA bewirkte 45 Minuten vor dem LTP-induzierenden Stimulus (d.h. proaktiv) über die longitudinale Achse hinweg eine Verstärkung der e-LTP. Eine sowohl zeitgleich mit (aktiv) als auch nach (retroaktiv) dem LTP-induzierenden Stimulus erfolgende Applikation von DA bedingte in keinem der untersuchten Hippocampusregionen eine e-LTP-verstärkende Wirkung. Weiterhin konnte unter Verwendung des D1/D5-Agonisten Dihydroxyphenylisopropylamin (DHP) gezeigt werden, dass der proaktive e-LTP-modulierende Effekt des exogenen DA durch D1-artige (engl. *D1-like*) Rezeptoren vermittelt wird. Die proaktive Applikation von exogenem NE bedingt nur im ventral-intermediären Hippocampus zehn Minuten vor dem LTP-induzierenden Stimulus eine Verstärkung der e-LTP, wohingegen dieser Effekt im ausschließlich ventralen und dorsalen Pol des Hippocampus nicht beobachtet werden konnte. Sowohl pro- als auch retroaktiv konnte im VH und DH kein e-LTP-verstärkender Effekt des NE gezeigt werden. Eine über β -Adrenorezeptoren vermittelte Aktivierung noradrenerger Rezeptoren konnte durch Applikation des β -Agonisten Isoproterenol nicht eindeutig signifikant belegt werden. Die ausschließlich im DH vorgenommene kombinierte pro- und retroaktive Applikation der Catecholamine (mit unterschiedlichen Variationen hinsichtlich der PT und Kombinationen der Substanzen) erzielte keine e-LTP-verstärkende Wirkung. Für den Aufbau persistierender Neuroplastizitätsformen, zu denen die LTP zählt, ist die Synthese plastizitätsrelevanter Proteine (engl. *plasticity related proteins*, PRPs) notwendig. Zur Untersuchung, ob Neurotrophine, im Speziellen BDNF (engl. *brain-derived neurotrophic factor*), als Kandidat eines PRP in dieser e-LTP in Frage kommt, wurde nach Abschluss der im DH o.g. durchgeführten extrazellulären Feldpotentialmessungen der BDNF-Gehalt mithilfe molekularbiologischer Analysen individuell quantifiziert. Es konnte eine Erhöhung der BDNF-Konzentration unter Einfluss des β -Agonisten Isoproterenol im Vergleich zum exogenen NE sowie in Zeitabhängigkeit der kombinierten pro- und retroaktiven Applikation der Catecholamine gezeigt werden.

Elektrophysiologische Untersuchungen des neuromodulatorischen Einfluss von Dopamin und Noradrenalin auf die synaptische Plastizität von Schaffer-Collateral-CA1 Synapsen des murinen Hippocampus

Abstract:

The hippocampus is an important brain structure for memory formation. According to its afferent and efferent connections, two functional compartments could be distinguished along the longitudinal (septotemporal) axis: the dorsal hippocampus (DH) is more heavily involved in spatial and episodic learning, while the ventral hippocampus (VH) is mainly responsible for processing of emotional memory contents. Using electrophysiological techniques, the hippocampus is an ideal subject for studying neuroplastic processes at the cellular level. Here, long-term potentiation (LTP) represents a scientifically widely accepted cellular mechanism to study learning and memory processes. Some transmitter systems projecting into the hippocampus, such as the dopaminergic and noradrenergic systems, are capable to modulate hippocampal synaptic plasticity and induce permanent changes through prior receptor priming.

In this thesis, the process of „Behavioral tagging“ (BT) was investigated in a cellular model at the synaptic level. BT describes a long-term storage of a learning content by temporally close coupling of a weak learning with a salient event. For this purpose, the neuromodulatory influence of the neurotransmitters dopamine (DA) and norepinephrine (NE) as a metaplasticity-inducing event (priming) at different times was investigated in detail: in male, 8-15 week old C57BL/6J mice, synaptic plasticity at Schaffer-Collateral (SC)-CA1 synapses was analyzed using extracellular field potential recordings in acute hippocampal slices. For this purpose, a weak LTP-inducing stimulus was coupled with the neurotransmitter priming, i.e. exogenous application of the neurotransmitter. It could be shown that the permanent presence of exogenous DA leads to an enhanced early phase of LTP (e-LTP). For detection of possible time-dependent neuromodulatory effects of neurotransmitters on e-LTP, exogenous DA or NE was applied at different times (i.e. priming time, PT) -related to the weak LTP-inducing stimulus- either before (proactively), simultaneously with (actively), or after (retroactively) LTP induction. Application of exogenous DA caused enhancement of e-LTP across the longitudinal axis 45 minutes before the LTP-inducing stimulus occur (i.e., proactively). Application of DA neither simultaneously with (active) nor after (retroactive) the LTP-induction elicited an e-LTP enhancing effect in any of the hippocampal regions tested. Furthermore, using the D1/D5 agonist dihydrexidine, it was shown that this proactive e-LTP-modulating effect of exogenous DA is mediated by D1-like receptors. The proactive activation of the noradrenergic system by application of exogenous NE lead to enhanced e-LTP only in the ventral-intermediate hippocampus when applied ten minutes before the LTP-inducing stimulus, whereas this effect could not be observed in the pure ventral and dorsal pole of the hippocampus. An e-LTP-enhancing effect of NE could not be shown, neither proactively nor retroactively in the VH and DH. Activation of noradrenergic receptors via β -adrenoreceptors by application of the β -agonist isoproterenol did not show significant effects. The combined proactive and retroactive application of the dopamine and noradrenaline (with different variations in terms of priming time (PT) and combinations of the substances) performed exclusively in the DH did not yield any e-LTP-enhancing effect. The synthesis of plasticity-related proteins (PRPs) is necessary for the establishment of persistent neuroplasticity, which includes LTP. To investigate whether neurotrophins, specifically BDNF (brain-derived neurotrophic factor), is a possible candidate for a PRP in this e-LTP, BDNF content was individually quantified using molecular biological analyses after completion of the extracellular field potential measurements performed in the DH as mentioned above. An increase in BDNF concentration under the influence of the β -agonist isoproterenol compared with exogenous NE as well as in time dependence of the combined pro- and retroactive application of catecholamines could be shown.

I. Inhaltsverzeichnis

II. Abkürzungsverzeichnis	7
1. Einleitung	13
1.1. Hippocampus	13
1.1.1. Histologie des Nager-Hippocampus	14
1.1.2. Synaptische Verbindungen des Hippocampus	15
1.1.3. Longitudinale Achse	17
1.2. Synaptische Plastizität	19
1.2.1. Langzeitpotenzierung (LTP)	20
1.2.2. Phasen der LTP	21
1.2.3. Molekulare Mechanismen der LTP	22
1.2.4. Eigenschaften der LTP	25
1.3. Neuromodulation	26
1.3.1. Dopamin und Noradrenalin	27
1.3.1.1. Synthese und Rezeptoren	28
1.3.1.2. Neuromodulatorischer Einfluss von DA und NE auf den Hippocampus	29
1.3.2. Der Einfluss von BDNF	30
1.4. Zielsetzung	32
2. Material und Methoden	34
2.1. Versuchstiere	34
2.2. Präparation und Anfertigung der Gehirnschnitte	34
2.3. Messkammer	35
2.4. Verwendete Lösungen	37
2.5. Extrazelluläre Feldpotentialmessungen	38
2.6. BDNF-ELISA	41
2.6.1. Probenaufarbeitung/ -lyisierung	42
2.6.2. BDNF-ELISA	42
2.6.3. Proteinbestimmung	43
2.7. Datenerfassung und -analyse	43
2.7.1. Datenerhebung	43
2.7.2. Datenanalyse und statistische Auswertung	44
3. Ergebnisse	46
3.1. Ventral-intermediärer Hippocampus (VIH)	46
3.1.1. Die Anwendung eines 1x100 Hz-Tetanus als LTP-induzierenden Stimulus führt im Vergleich zu einem 3x100 Hz-Tetanus zu einer verminderten LTP an SC-CA1-Synapsen	46
3.1.2. Neuromodulatorische Wirkung von Dopamin auf die LTP	48
3.1.2.1. Die kontinuierliche Anwesenheit von Dopamin (DA) führt zu einer verstärkten LTP	48
3.1.2.2. Anwesenheit des Dopamins zu verschiedenen Zeitpunkten	50
3.1.2.2.1. Die Steigerung der LTP durch proaktive Applikation von Dopamin hängt vom Intervall zwischen Beginn der Dopamin-Applikation und der LTP-Auslösung ab	50
3.1.2.2.2. Keine LTP-Verstärkung durch Dopaminapplikation zeitgleich mit der LTP-Induktion	54
3.1.2.2.3. Keine LTP-Verstärkung durch retroaktive Applikation von DA nach dem LTP-induzierenden Stimulus	56

3.1.3. Neuromodulatorische Wirkung von Noradrenalin auf die LTP	60
3.1.3.1. Die proaktive Applikation von Noradrenalin führt zeitabhängig zu einer Steigerung der LTP .	60
3.1.3.2. Keine LTP-Verstärkung durch Noradrenalinapplikation zeitgleich mit der LTP-Induktion	64
3.1.3.3. Keine LTP-Verstärkung durch retroaktive Applikation von NE nach dem LTP-induzierenden Stimulus	66
3.2. Ventraler Hippocampus (VH)	71
3.2.1. Die Anwendung eines 1x25 Hz-Tetanus als LTP-induzierender Stimulus führt im Vergleich zu einem 1x100 Hz-Tetanus im VH zu einer verminderten LTP an SC-CA1-Synapsen	71
3.2.2. Neuromodulatorische Wirkung von Dopamin auf die LTP im VH: Anwesenheit des DA zu verschiedenen Zeitpunkten: LTP wird im VH pro-, jedoch nicht retroaktiv verstärkt	73
3.2.3. Neuromodulatorische Wirkung von Noradrenalin auf die LTP im VH: Anwesenheit des NE zu verschiedenen Zeitpunkten: pro- oder retroaktive LTP-Verstärkung im VH.....	77
3.3. Dorsaler Hippocampus (DH)	84
3.3.1. Im DH bedingt der 1x25 Hz-Tetanus eine schwache, nicht saturierte e-LTP	84
3.3.2. Neuromodulatorische Wirkung von Dopamin auf die LTP im DH: Anwesenheit des DA zu verschiedenen Zeitpunkten: LTP wird im DH pro-, jedoch nicht retroaktiv verstärkt	86
3.3.3. Neuromodulatorische Wirkung von Noradrenalin auf die LTP im DH: Anwesenheit des NE zu verschiedenen Zeitpunkten: keine pro- oder retroaktive LTP-Verstärkung	89
3.3.4. Tabellarische Zusammenfassung der bisherigen Hauptergebnisse des DA- und NE-Primings entlang der longitudinalen Achse	96
3.3.5. Kombinierte neuromodulatorische Wirkung beider Neurotransmitter Dopamin und Noradrenalin auf die LTP im DH: 45 min vor und 45 min nach der LTP-Induktion.....	97
3.3.5.1. Die proaktive Applikation von Dopamin verstärkt die e-LTP mit additiver retroaktiver Applikation von Dopamin bzw. Noradrenalin im DH nicht	97
3.3.5.2. Die proaktive Applikation von Noradrenalin mit zusätzlich retroaktiver Applikation der Neurotransmitter Noradrenalin bzw. Dopamin zeigt keinen LTP-verstärkenden Effekt im DH	102
3.3.5.3. Die pro- und retroaktive kombinierte Applikation einer Mixtur aus Dopamin und Noradrenalin bewirkt keine LTP-Verstärkung im DH.....	107
3.3.6. Kombinierte neuromodulatorische Wirkung beider Neurotransmitter Dopamin und Noradrenalin auf die LTP im DH: zu verschiedenen Zeitpunkten	110
3.3.6.1. Die pro- (10 min vor) und retroaktive (10 min nach der LTP- Induktion) Aktivierung des noradrenergen Systems wirkt im DH nicht e-LTP-verstärkend	110
3.3.6.2. Die proaktive Applikation von Dopamin 45 min vor und Noradrenalin 10 min vor der LTP-Induktion bewirkt keine Verstärkung der e-LTP im DH.....	113
3.3.7. Wirkung eines spezifischen D1- und eines spezifischen β -Agonisten auf die LTP im DH	115
3.3.7.1. Der D1-artige Rezeptoragonist Dihydroxidin wirkt verstärkend auf die SC-CA1-LTP	115
3.3.7.2. Der β -Agonist Isoproterenol zeigt keine LTP-verstärkende Wirkung.....	120
3.4. Möglicher Einfluss des Vit. C auf die Messparameter in den verschiedenen Hippocampi.....	124
4. Diskussion.....	128
4.1. Neuromodulatorische Wirkung von DA auf die e-LTP	128
4.1.1. Die kontinuierliche Anwesenheit von DA verstärkt die e-LTP.....	129
4.1.2. Dopamin verstärkt proaktiv, 45 min vor LTP-Induktion die e-LTP.....	130
4.1.3. Stabiler proaktiver e-LTP-verstärkender Effekt des Dopamins 45 min vor LTP-Induktion entlang der longitudinalen Achse.....	131
4.1.4. Effekte der zusätzlichen retroaktiven Applikation bzw. eines spezifischen D1-Rezeptoragonisten auf die e-LTP im DH.....	134
4.2. Neuromodulatorische Wirkung von NE auf die e-LTP.....	136
4.2.1. Noradrenalin verstärkt proaktiv, 10 min vor LTP-Induktion die e-LTP	136

4.2.2. Keine e-LTP-verstärkenden Effekte von Noradrenalin entlang der longitudinalen Achse	137
4.3. Gleiche Verarbeitung des LTP-induzierenden Stimulus der SC-CA1-Synapsen und Analyse des LTP-Expressionsortes	140
4.4. BDNF scheint nicht als plastizitätsrelevantes Protein (PRP) der e-LTP zu agieren	142
4.5. Vergleichende Untersuchungen (der Kurzzeitplastizität) unter dem Einfluss von Vit. C entlang der longitudinalen Achse	145
4.6. Zusammenfassung und Ausblick	148
5. Anlage – Daten der statistischen Analyse	150
Kapitel 3.1. Ventral-intermediärer Hippocampus (VIH)	150
Kapitel 3.2. Ventraler Hippocampus (VH)	159
Kapitel 3.3. Dorsaler Hippocampus (DH)	163
Kapitel 3.4. Möglicher Einfluss des Vit. C auf die Messparameter in den verschiedenen Hippocampi.....	167
III. Literaturverzeichnis	171
IV. Danksagung	182
V. Ehrenerklärung	183
VI. Lebenslauf.....	184

II. Abkürzungsverzeichnis

°	Grad
°C	Grad Celcius
%	Prozent
Abb.	Abbildung
AC	Adenylatcyclase
A/C-Fasern	assoziative und kommissurale Fasern
ACSF	artifizielle Cerebrospinalflüssigkeit, engl. <i>artificial cerebrospinal fluid</i>
A. dest.	destilliertes Wasser
AMPA	α -Amino-3-Hydroxy-5-Methyl-4-Isoxazol-Propionsäure
Anova	Varianzanalyse, engl. <i>analysis of variance</i>
Arc	aktivitätsregulierende Zyosklett-assoziierte Protein, engl. <i>activity-regulated cytoskeleton-associated protein</i>
ATP	Adenosintriphosphat
BCA	Bicinchoninsäure, engl. <i>bicinchonic acid</i>
BDNF	engl. <i>brain-derived neurotrophic factor</i>
BSA	Rinderserumalbumin, engl. <i>bovine serum albumin</i>
BT	„Behavioral Tagging“
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa, ungefähr
CA	Ammonshorn, Cornu ammonis
Ca ²⁺	Calcium-Ionen
CaCl ₂	Calciumchlorid
CaMKII	Calcium/Calmodulin-abhängige Kinase II
cAMP	zyklisches Adenosin-3',5'-Monophosphat
cm	Zentimeter
CO ₂	Kohlenstoffdioxid
COX	Cyclooxygenase
Cre	Bestimmte DNA-Sequenzen
CREB	engl. <i>cAMP response element binding enzyme</i>
DA	Dopamin
D β H	Dopamin- β -Hydroxylase
DDC	DOPA-Decarboxylase

DG	Gyrus dentatus, engl. <i>dentate gyrus</i>
DH	dorsaler Hippocampus
DHX	Dihydraxidin
DNA	Desoxyribonukleinsäure, engl. <i>-acid</i>
D1-5R	Dopaminrezeptorsubtyp 1-5
D1-like	D1-artige Rezeptoren (D1R, D5R)
D2-like	D2-artige Rezeptoren (D2R, D3R, D4R)
EC	Entorhinaler Cortex, engl. <i>entorhinal cortex</i>
eIF4E	Translationsinitiationsfaktor
ELISA	antikörperbasiertes Nachweisverfahren, engl. <i>enzyme-linked immunosorbent assay</i>
engl.	englisch
e-LTP	frühe Langzeitpotenzierung, engl. <i>early-LTP</i>
EPSP	exzitatorische postsynaptische Potentiale
ER	endoplasmatisches Retikulum
ERK	extrazellulär regulierte Kinase, engl. <i>extracellular-signal regulated kinase</i>
Fyn	Tyrosinkinase
g	Gramm
GABA	Gamma-Aminobuttersäure engl. <i>Gamma aminobutyric acid</i>
Gi/o	inhibitorisches G-Protein
GIRK	G-Protein-abhängige einwärts gleichgerichtete K ⁺ -Kanäle, engl. <i>G-protein gated inwardly rectifying K⁺channels</i>
Glu	Glutamat
GPCR	G-Protein gekoppelter Rezeptor, engl. <i>G-protein coupled receptor</i>
Gs	stimulierendes G-Protein
h	Stunde, engl. <i>hour</i>
HCO ₃	Hydrogenkarbonat
HFS	hochfrequenter Stimulus, engl. <i>high frequency stimulation</i>
Hz	Hertz (1/s)
IO	Reiz-Reaktionskurve, engl. <i>input- output curve</i>
ISI	Interstimulusintervall
ISO	Isoproterenol
K	Kontrolle
K ⁺	Kalium-Ionen

KCl	Kaliumchlorid
kHz	Kilohertz (10^3 Hz)
l	Liter
L-DOPA	Levodopa
lat.	lateinisch
LC	Locus coeruleus
LFS	niederfrequente Stimulation, engl. <i>low frequency stimulation</i>
l-LTP	späte Langzeitpotenzierung, engl. <i>late LTP</i>
LPP	lateraler Tractus perforans, engl. <i>lateral perforans path</i>
LTD	Langzeitdepression, engl. <i>long-term depression</i>
LTSP	langanhaltende Neuroplastizität, engl. <i>long-term synaptic plasticity</i>
LTP	Langzeitpotenzierung, engl. <i>long-term potentiation</i>
m-BDNF	reifes BDNF, engl. <i>mature BDNF</i>
MAPK	Mitogen-aktivierte Proteinkinase, engl. <i>mitogen-activated protein kinase</i>
MF	Moosfaser, engl. <i>mossy fiber</i>
Mg ²⁺	Magnesium-Ionen
MgCl ₂	Magnesiumchlorid
min	Minute
Mix	Mitxtur aus Dopamin und Noradrenalin
Mol	Einheit der Stoffmenge
ml	Milliliter
mM	Millimolar (mmol/l)
mmol	Millimol
MPP	medialer Tractus perforans, engl. <i>medial perforans path</i>
mRNA	Boten-Ribonukleinsäure, engl. <i>messenger ribonucleic acid</i>
ms	Millisekunde (10^{-3} s)
mV	Millivolt (10^{-3} V)
MW	Mittelwert
MΩ	Megaohm
μA	Mikroampere (10^{-6} A)
μg	Mikrogramm (10^{-6} g)
μl	Mikroliter (10^{-6} l)
μm	Mikrometer (10^{-6} m)
μM	Mikromolar (10^{-6} mol/l)

n	Stichprobengröße (Anzahl analysierter Hirnschnitte)
N	Stichprobenumfang (Anzahl der Tiere)
N ₂	Stickstoff
Na ⁺	Natrium-Ionen
NaCl	Natriumchlorid
NaHCO ₃	Natriumhydrogencarbonat
NaH ₂ PO ₄	Natriumdihydrogenphosphat
NE	Noradrenalin, engl. <i>Norepinephrine</i>
NGF	Nervenwachstumsfaktor, engl. <i>nerve growth factor</i>
nm	Nanometer (10 ⁻⁹ m)
NM	Neuromodulator
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat
NO	Stickstoffmonoxid
NP40	nichtionisches Polyoxyethylen
ns	nicht signifikant
NT	Neurotrophin
NTR	Neurotrophinrezeptor
O ₂	Sauerstoff
o.g.	oben genannt
p	Signifikanzwert
PCP-4	spezifischer Marker für CA2-Neuronen, engl. <i>anti-Purkinje cell protein 4</i>
pg	Pikogramm (10 ⁻¹² g)
pH	lat. <i>potentia hydrogenii</i>
PKA	Proteinkinase A
PKC	Proteinkinase C
PKM	Proteinkinase M
PMSF	Phenylmethylsulfonylfluorid
PNMT	Phenylethanolamin-N-metyltransferase
PP	Tractus perforans, engl. <i>perforans pathway</i>
PPF	gepaarte Pulsbahnung (-fazilitierung), engl. <i>paired-pulse facilitation</i>
PPD	gepaarte Pulshemmung (-depression), engl. <i>paired-pulse depression</i>
PPR	Paarpulsverhältnis, engl. <i>paired-pulse ratio</i>
PRP	plastizitätsrelevantes Protein, engl. <i>plasticity related protein</i>
PSD	postsynaptische Verdichtung, engl. <i>postsynaptic density</i>

PT	Anwesenheit der Neurotransmitter zu unterschiedlichen Zeitpunkten bezogen auf den LTP-induzierenden Stimulus, engl. <i>priming time</i>
q-PCR	quantitative Polymerasekettenreaktion
R	Rezeptor
r	Korrelationskoeffizient
s	Sekunde
Str.	<i>Stratum</i>
SC	Schaffer-Collaterale, engl. <i>Schaffer collaterals</i>
SEM	Standardfehler des Mittelwertes, engl. <i>standard error of the mean</i>
SGZ	Subgranularschicht (polymorphe Zellschicht), engl. <i>subgranular zone</i>
SN	Substantia nigra
sog.	sogenannt
STDP	engl. <i>spike-timing dependent plasticity</i>
STP	kurzzeitige Neuroplastizität, engl. <i>short-term synaptic plasticity</i>
TA	temporoammonisch
TBS	engl. <i>theta burst stimulation</i>
TH	Tyrosinhydroxylase
t-LTP	zeitabhängige (engl. <i>t-</i>) LTP
t-LTD	zeitabhängige (engl. <i>t-</i>) LTD
Tris-HCl	Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan-hydrochlorid (Tromethan-Hydrochlorid)
TrkB	Tropomyosinrezeptorkinase B
u.a.	unter anderem
UE	Untereinheit
VH	ventraler Hippocampus
VIH	ventral-intermediärer (medio-temporal) Hippocampus
Vit. C	Vitamin C, Ascorbinsäure
VMAT	Vesikulärer Monoamintransporter, engl. <i>vesicular monoamine transporter</i>
VTA	ventrales tegmentales Areal
WR	Arbeitsreagenz (engl. <i>working reagent</i>)
x	mal
z.B.	zum Beispiel
ZNS	zentrales Nervensystem
α	Alpha
β	Beta

ζ Zeta

1. Einleitung

1.1. Hippocampus

Der paarig im Temporallappen gelegene Hippocampus befindet sich an der medialen Wand des lateralen Ventrikels (Knowles, 1992) und ist ein wichtiger Bestandteil des limbischen Systems (Trepel, 2015).

Diese nach innen gerollte trilaminäre allocortikale Struktur (Bartsch & Wulff, 2015) umfasst den *Gyrus dentatus* (DG), *Cornu Ammonis* (Ammonshorn, CA) und das *Subiculum*. Gemeinsam bilden sie die sogenannte (sog.) „Hippocampusformation“ (Knowles, 1992; Squire & Zola, 1996; von Bohlen und Halbach & von Bohlen und Halbach, 2017). Der sich anschließende entorhinale Cortex (EC) stellt den Übergang vom Archi- zum Neocortex dar (Liu et al., 2021).

Der Hippocampus stellt eine wichtige Struktur zur Ausbildung bestimmter Gedächtnistypen, wie dem episodischen und räumlichen Gedächtnis (Squire, 1992; Rolls, 2000; Squire et al., 2004; Citri & Malenka, 2008; von Bohlen und Halbach & von Bohlen und Halbach, 2017) dar, er spielt aber auch bei der (Langzeit-) Gedächtniskonsolidierung vor allem von deklarativen (expliziten) Gedächtnisinhalten eine besondere Rolle (Kandel et al., 1995; Moser & Moser, 1998; Neves et al., 2008; Trepel, 2015). Aufgrund seiner Interaktion mit anderen cortikalen und subcortikalen Hirnstrukturen (Bartsch & Wulff, 2015; Temido-Ferreira et al., 2019), wie z.B. dem präfrontalem Cortex und der Amygdala, ist der Hippocampus in vegetativen, endokrinen und emotionalen Vorgängen beteiligt (Sahay & Hen, 2007; Trepel, 2015).

Zwei voneinander unabhängige Entdeckungen spiegeln die bedeutende Rolle des Hippocampus beim räumlichen Lernen wider: 1971 zeigten O’Keefe und Dostrovsky, dass hippocampale Pyramidenzellen für räumliche Informationen codieren (Milner et al., 1998; O’Keefe & Dostrovsky, 1971), weitere zwei Jahre später beschrieben Bliss und Lømo die Langzeitpotenzierung (engl. *long term potentiation*, LTP) in synaptischen Verbindungen (Bliss & Lomo, 1973; Milner et al., 1998).

Im Zusammenhang mit möglichen Informationsspeichermechanismen im Gehirn stellt der Hippocampus ein großes experimentelles System für Studien synaptischer Plastizität dar. Dieser eignet sich aufgrund seiner einfachen laminaren Neuronen- und Leitungsbahnorganisation hervorragend zur Untersuchung neuroplastischer Prozesse mittels

elektrophysiologischer, biochemischer und molekularer Techniken (Andersen et al., 1971; Bliss et al., 2007; Neves et al., 2008).

1.1.1. Histologie des Nager-Hippocampus

Die Hippocampusformation besteht aus zwei gekrümmten, interdigitierenden Zellschichten: den Körnerzellen des DG und den Pyramidenzellen der CA-Regionen.

Der DG weist einen dreischichtigen Aufbau auf: *Stratum (Str.) moleculare*, *Str. granulosum* und *Str. plexiforme*. Die im DG hauptsächlich vorkommenden typischen kleinen und dicht gepackten Körnerzellen sind mit ihren Somata im deutlich erkennbaren *Str. granulosum* lokalisiert. Ihre Dendriten befinden sich im *Str. moleculare* und die Axone bilden die sog. Moosfasern (engl. *mossy fibers*, MF). Die Verbindung der Körnerzellschicht mit der CA4-Region stellt das *Str. plexiforme* dar, welches auch als polymorphe Zellschicht bzw. Subgranularschicht (engl. *subgranular zone*, SGZ) bezeichnet wird (Duvernoy, 2005; Schmeißer et al., 2020). Im Jahre 1934 wurde durch Lorente de Nó das histologisch C-förmig angeordnete Ammonshorn (*Hippocampus proper*) in die vier Subregionen CA1 bis CA4 unterteilt (Knowles, 1992), die einen mehrschichtigen Aufbau aufweisen: Der *Alveus* enthält Axone subiculärer und hippocampaler Neurone, das angrenzende *Str. oriens* wird hauptsächlich von basalen Dendriten der Pyramidenzellen gebildet. Das Hauptelement der CA-Regionen, die Pyramidenzellen, sind mit ihren Somata im *Str. pyramidale* lokalisiert, wohingegen sich ihre apikalen Dendriten im als *Str. radiatum-lacunosum-moleculare* zusammengefassten Bereich befinden (Abb. 1, Duvernoy, 2005; Schmeißer et al., 2020).

Die CA1-Region weist bei Nagern eine hohe Dichte von Pyramidenzellen auf, die CA2-Region ist kleiner und nicht deutlich von der CA1-Region abgrenzbar. Die angrenzende CA3-Region weist im Vergleich zur CA2-Region weniger kompakt verteilte Pyramidenzellen sowie eine hohe Dichte an MF (Axone der Körnerzellen des DG) auf (Knowles, 1992). Eine klare lichtmikroskopische Differenzierung der CA-Regionen ist kaum möglich; lediglich mithilfe immunhistochemischer Analysen unter Nutzung eines CA2-Neuronenspezifischen Markers, namens PCP-4 (engl. *Purkinje cell protein 4*) (Renelt et al., 2014) kann eine exakte Unterscheidung erfolgen. Die durch Lorente de Nó charakterisierte CA4-Region wird typischerweise vom DG umschlossen (Duvernoy, 2005) und trägt aufgrund ihrer Lokalisation die Bezeichnung *Hilus dentatus* (Knowles, 1992).

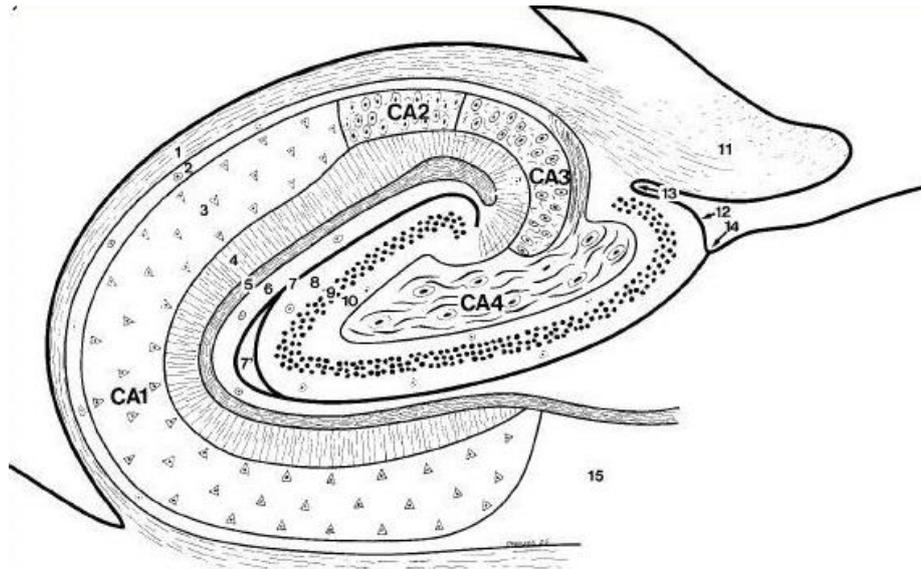


Abb. 1: Coronarschnitt durch einen menschlichen Hippocampus.

CA1-CA4-Region: (1) Alveus, (2) Stratum (Str.) oriens, (3) Str. pyramidale, (4) Str. radiatum, (5) Str. lacunosum, (6) Str. moleculare, (7) Sulcus hippocampi mit Aushöhlung (7')

Gyrus dentatus: (8) Str. moleculare, (9) Str. granulosum, (10) polymorphe Schicht, Subgranularzone (SGZ), (11) Fimbria, (12) Margo denticularis, (13) Sulcus fimbriodentatus, (14) oberflächlicher Sulcus hippocampi, (15) Subiculum (modifiziert nach Duvernoy, 2005).

1.1.2. Synaptische Verbindungen des Hippocampus

Der hippocampale Schaltkreis sowie das neuronale Netzwerk sind in Abb. 2 dargestellt. Die Beschreibung der hippocampalen Verschaltung erfolgt typischerweise als trisynaptische, größtenteils unidirektionale Schleife (engl. *trisynaptic pathway*). Der Hippocampus erhält von den oberflächlichen Schichten (Schichten II und III) des sechsschichtig aufgebauten entorhinalen Cortex (EC) synaptische Eingänge. Über einen gebündelten Fasertrakt, den sog. *Tractus perforans* (engl. *perforans pathway*, PP), projizieren Neurone der EC-Schicht II zu den Körnerzellen des DG. Die Axone dieser erregenden, glutamatergen Neurone bilden mit den Dendriten der granulären DG-Neurone exzitatorische Synapsen aus und unterteilen so den PP in einen medialen (MPP) und lateralen (LPP) Abschnitt. Die Körnerzellen projizieren über MF zu den proximalen apikalen Dendriten der ebenfalls exzitatorischen pyramidalen CA3-Neuronen (Amaral & Lavenex, 2007; Neves et al., 2008; Deng et al., 2010). Dem trisynaptischen Verlauf weiter folgend werden Informationen einerseits über Schaffer-Collaterale (engl. *Schaffer collaterals*, SC) zu ipsilateralen pyramidalen CA1-Neuronen (SC-CA1-Synapsen) und andererseits über assoziative und kommissurale (A/C)- Fasern zu kontralateralen CA1- und CA3-Pyramidenzellen übermittelt. Direkte Eingänge vom EC erhalten außerdem die Pyramidenzellen der CA3-Region, ebenfalls über den PP (EC-Schicht

II-Neurone), und die der CA1-Region über den temporoammonischen (TA) Weg (EC-Schicht III-Neurone). Die weitere Informationsübertragung findet nun von den CA1-Pyramidenzellen zu denen des *Subiculum* statt. Die subikulären Pyramidenzellen projizieren in die tiefen Zellschichten des EC (Schichten V und VI) zurück, wodurch diesen Neuronen der bedeutendste Output des Hippocampus zugeschrieben wird (Amaral & Lavenex, 2007; Neves et al., 2008; Deng et al., 2010; Bartsch & Wulff, 2015; Temido-Ferreira et al., 2019).

Die trisynaptische Schleife (engl. *trisynaptic pathway*) „EC-DG - CA3 (über MF) - CA1 (über SC) - EC“ stellt einen prinzipiellen sich-selbstverstärkenden (engl. *feedforward*-) Kreislauf dar (Bartsch & Wulff, 2015; Temido-Ferreira et al., 2019), der eine wichtige Rolle in Mechanismen, die dem hippocampalen Lernen und Gedächtnisbildung zugeschrieben werden, einnimmt (von Bohlen und Halbach & von Bohlen und Halbach, 2017).

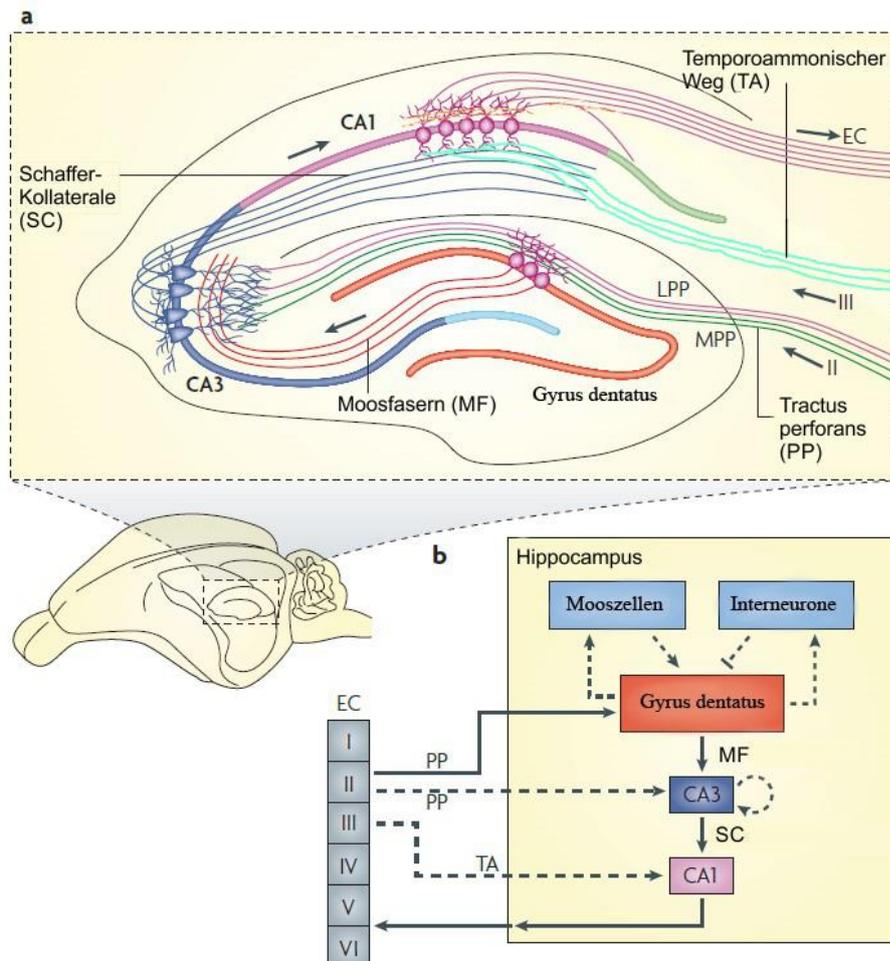


Abb. 2: Darstellung des neuronalen Schaltkreises im Hippocampus von Nagern.

(a) Illustration des hippocampalen Schaltkreises sowie

(b) Schema des neuronalen hippocampalen Netzwerks. Der exzitatorische trisynaptische Weg wird mithilfe der durchgehenden Pfeile gekennzeichnet: Entorhinaler Cortex (EC) – Gyrus dentatus (DG) – CA3 – CA1 – EC. Über den Tractus perforans (PP) projizieren die die Axone der EC-Schicht II-Neurone in den DG. Der PP beinhaltet einen lateralen (LPP) und medialen (MPP) Bereich. Projektionen vom DG

zur CA3-Region erfolgen über Moosfasern (MF) zu den Pyramidenzellen der CA3-Region. Die dort ansässigen Neurone sorgen für die Informationsübermittlung zu den pyramidalen CA1-Neuronen über Schaffer-Collaterale (SC). Abschließend projizieren die CA1-Pyramidenzellen in tiefergelegene EC-Neuronenschichten (Schicht V und VI) über das Subiculum (hier nicht dargestellt). Weiterhin (durch gestrichelte Pfeile dargestellt) erhält die CA3-Region direkten Input von EC-Schicht II-Neuronen über den PP; über den temporoammonischen (TA) Weg gelangen Informationen von Schicht III-Neuronen des EC direkt in die CA1-Region. Die Körnerzellen des DG projizieren in die sich im Hilus befindlichen Mooszellen und Interneuronen, die ebenfalls wieder exzitatorische und inhibitorische Projektionen zurück zum DG senden (**PP**- Tractus perforans; **MPP**- medialer Tractus perforans; **LPP**- lateraler Tractus perforans; **CA**- Cornu Ammonis, Ammonshorn; **TA**- temporoammonischer Weg; **EC**- Entorhinaler Cortex) (modifiziert nach Masterarbeit Klausch, 2017, Deng et al., 2010).

1.1.3. Longitudinale Achse

Der Hippocampus weist entlang seiner longitudinalen Achse verschiedene afferente und efferente Verbindungen auf und wird folglich in zwei funktionelle Kompartimente unterteilt: dorsaler (septaler Pol, DH) und ventraler (temporaler Pol, VH) Hippocampus (Moser & Moser, 1998; Sahay & Hen, 2007). In Nagetieren wird die longitudinale Achse als dorsoventrale bzw. septotemporale Achse sowie in Primaten als posterior-anteriore Achse bezeichnet (Strange et al., 2014, Abb. 3).

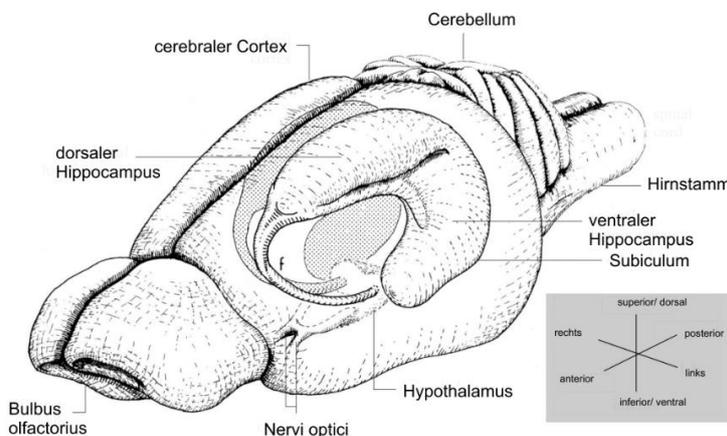


Abb. 3: Darstellung der anatomischen Lokalisation eines Nagetier-Hippocampus (modifiziert nach Cheung & Cardinal, 2005).

Der VH weist starke und spezifische Efferenzen zu verschiedenen subcortikalen Vorderhirnstrukturen, wie z.B. der Amygdala, dem rostralem Hypothalamus und dem *Nucleus accumbens* auf, projiziert auch zum präfrontalen Cortex (Moser & Moser, 1998; Sahay & Hen, 2007). Folglich ist der VH hauptsächlich an der Kontrolle/ Regulation autonomer, emotionaler

und neuroendokriner Reaktionen beteiligt (Moser & Moser, 1998; Fanselow & Dong, 2010; Strange et al., 2014; Dubovyk & Manahan-Vaughan, 2018). Der DH interagiert anatomisch u.a. mit den zum caudalen Abschnitt des Hypothalamus gehörenden Mamillarkörpern, dem Thalamus und dem retrosplenialen Cortex (Fanselow & Dong, 2010; Bienkowski et al., 2018; Vogel et al., 2020) und ist daher an kognitiven Prozessen wie Lernen und Gedächtnis, aber auch an räumlichen Orientierungsfähigkeiten und Exploration involviert (Fanselow & Dong, 2010). In Abb. 4 sind die verschiedenen Afferenzen und Efferenzen entlang der septotemporalen Achse dargestellt.

Weiterhin konnte gezeigt werden, dass sich auch Plastizitätsmarker, die spezifisch für die im DG stattfindende adulte Neurogenese oder der LTP sind, in den beiden funktionellen Kompartimenten differenziell exprimiert werden (Wu & Hen, 2014; Bartsch & Wulff, 2015; Opendak & Gould, 2015).

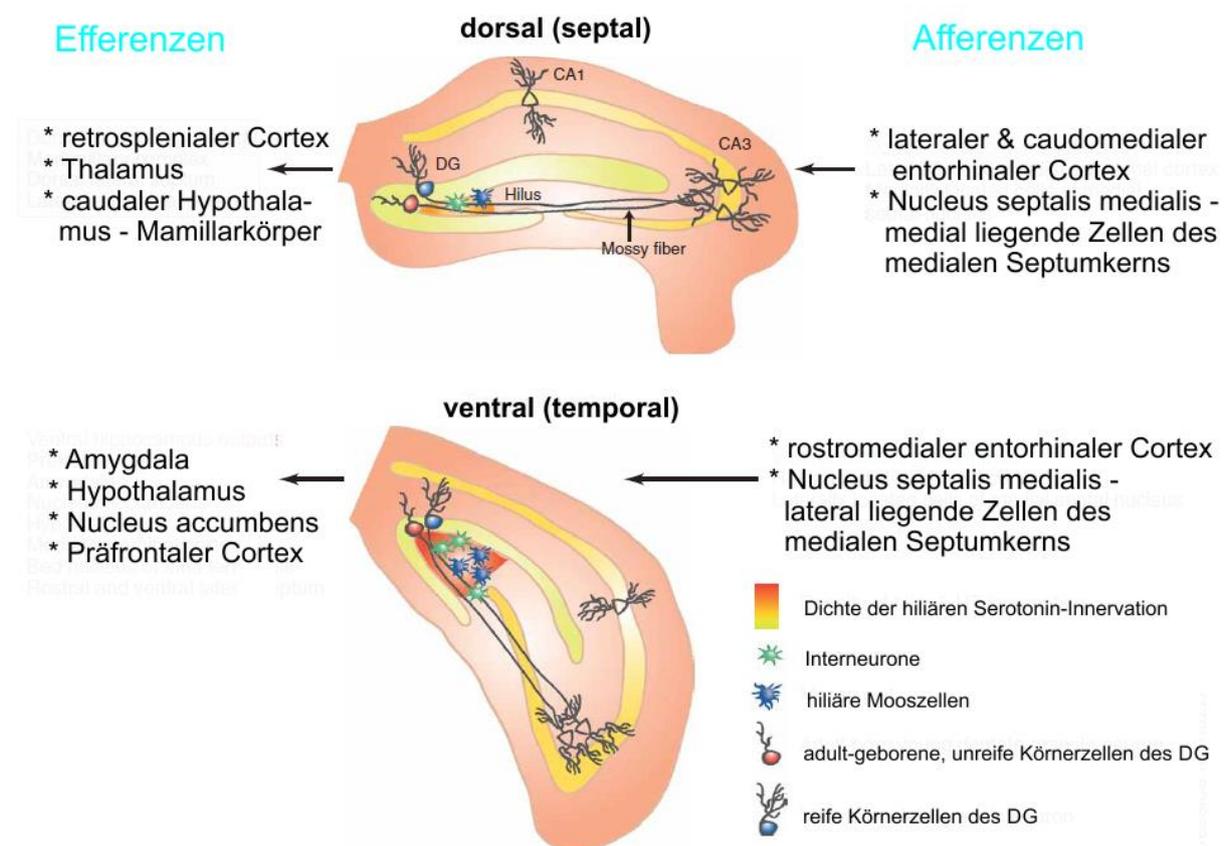


Abb. 4: Dichotome Organisation des hippocampalen Netzwerks. Unterschiedliche afferente und efferente Verbindungen des Hippocampus werden entlang seiner longitudinalen (dorsoventralen/septotemporalen) Achse dargestellt (modifiziert nach Sahay & Hen, 2007).

1.2. Synaptische Plastizität

Der Begriff „synaptische Plastizität“ wurde von Jerzy Konorski im Jahre 1949 eingeführt (Konorski, 1949), beschreibt aktivitätsabhängige Veränderungen in der Effizienz der synaptischen Informationsübertragung und stellt eine der faszinierendsten und wichtigsten Eigenschaften des Gehirns dar (Citri & Malenka, 2008). Die synaptische Plastizität spielt bereits in der frühen Entwicklung neuronaler Schaltkreise und bei der Konsolidierung transienter Erfahrungen in dauerhafte Gedächtnisspuren eine wichtige Rolle. Dysfunktionen können zu schweren neurodegenerativen bzw. -psychiatrischen Erkrankungen wie z.B. Morbus Alzheimer (Balschun & Rowan, 2018; Mango et al., 2019), Morbus Huntington (Smith-Dijak et al., 2019), Depression (Liu et al., 2017), Schizophrenie (Brisch et al., 2014) und der Aufmerksamkeitsdefizit-Hyperaktivitätsstörung (Rapoport & Gogtay, 2008) führen.

Es existieren zahlreiche Formen und Mechanismen der synaptischen Plastizität, wobei entsprechend ihrer zeitlichen Persistenz zwischen kurzzeitiger (STP, engl. *short-term synaptic plasticity*) und langanhaltender (LTSP, engl. *long-term synaptic plasticity*) Neuroplastizität unterschieden werden muss.

An fast allen Synapsen zahlreicher Organismen konnten zahlreiche Formen der STP mit einer Dauer von einigen Zehntelsekunden (ms) bis Minuten (min) beobachtet werden, die im Verlauf zu einer transienten Calcium- (Ca^{2+}) Konzentrationserhöhung in der präsynaptischen Terminale führt und Veränderungen in der Freisetzungswahrscheinlichkeit von Neurotransmittern bedingt (zusammengefasst in Citri & Malenka, 2008). Zur STP zählt die posttetanische Potenzierung, die eine infolge der tetanischen Stimulation verstärkte, für einige Sekunden bis Minuten anhaltende Reizantwort des Neurons (synaptische Bahnung) beschreibt, sowie die gepaarte Pulsbahnung (engl. *paired pulse facilitation*, PPF) bzw. gepaarte Pulsstärkung (engl. *paired pulse depression*, PPD), bei der durch zwei aufeinanderfolgende, zeitlich wenige ms getrennte Pulse aufgrund deren zeitlicher Abfolge eine veränderte (verstärkte oder abgeschwächte) Reaktion auf den zweiten Puls beobachtet wird. Liegt ein kurzes Zeitintervall (Interstimulusintervall) von weniger als 20 ms zwischen dem beiden Stimuli, so wird meist eine PPD beobachtet. Bei größeren Interstimulusintervallen von 20-500 ms zeigen die meisten Synapsen eine PPF, da durch die infolge des ersten Aktionspotentials noch anhaltende Ca^{2+} -Erhöhung durch den zweiten Stimulus eine zusätzlich höhere zytoplasmatische Ca^{2+} -Konzentration hervorgerufen wird. Jedoch scheinen auch weitere Proteinkinase-abhängigen Mechanismen zur Modulation präsynaptischer Phosphoproteine (z.B. Synapsin) beizutragen (zusammengefasst in Citri & Malenka, 2008).

Neben den o.g. Formen existieren weitere aktivitätsabhängige Plastizitätsformen wie u.a. die Depotenzierung, De-Depression und die sog. *spike-timing dependent plasticity* (STDP) (zusammengefasst in Neves et al., 2008). Letztere bedingt in Abhängigkeit von einer präzisen zeitlichen Steuerung einzelner prä- und postsynaptischer Aktionspotentiale entweder eine zeitabhängige LTP (engl. *t-LTP*; Aktivierung des präsynaptischen Neurons 5 bis 20 ms vor dem postsynaptischen Neuron) oder eine zeitabhängige LTD (engl. *t-LTD*; Aktivierung des postsynaptischen Neurons 5 bis 20 ms vor dem präsynaptischen Neuron) (Edelmann et al., 2014, 2017; zusammengefasst in Edelmann & Lessmann, 2018).

Die beiden großen und bedeutenden Formen der langanhaltenden Neuroplastizität sind die Langzeitpotenzierung (LTP) und die Langzeitdepression (LTD). Im Rahmen dieser Arbeit wird nachfolgend detaillierter auf die LTP eingegangen:

1.2.1. Langzeitpotenzierung (LTP)

Die Entdeckung der LTP geht auf die Erkenntnisse der beiden Wissenschaftler Timothy Bliss und Terje Lømo aus dem Jahre 1973 zurück. Sie beobachteten im Kaninchen *in-vivo*, dass durch eine kurze hochfrequente Reizung des PP eine Erhöhung der synaptischen Stärke in den exzitatorischen glutamatergen PP-DG-Synapsen erreicht werden kann und eine Aufrechterhaltung sowohl im anästhetisierten Tier für Stunden als auch im Wachen für mehrere Tage bis Wochen möglich war (Bliss & Lomo, 1973; Milner et al., 1998).

Bei der LTP handelt es sich um eine aktivitätsabhängige und langanhaltende Verstärkung der synaptischen Effizienz, die u.a. mithilfe einer kurzen hochfrequenten Folge (typischerweise 100 Hz für mehrere Sekunden) experimenteller elektrischer Stimulationen induziert werden kann (zusammengefasst in Milner et al., 1998; Edelmann & Lessmann, 2018). Ein gegenteiliger Effekt, eine langandauernde Abnahme der synaptischen Übertragungsstärke aufgrund niederfrequenter Stimulation (mehr als 500 Wiederholungen bei 1 Hz über 15 min), wird bei der LTD beobachtet (zusammengefasst in Milner et al., 1998; Edelmann & Lessmann, 2018). Allerdings werden die LTP-Induktionsprotokolle und deren hervorgerufene Wirkungen (LTP oder LTD) kontrovers diskutiert (zusammengefasst in Kumar, 2011).

Gemeinsam mit anderen Formen der synaptischen Plastizität stellt die LTP ein geeignetes neuronales Modell für zelluläre Mechanismen dar, die an Lernprozessen und Gedächtnisspeicherung beteiligt sind. Zunächst wurde die LTP *in-vivo* an exzitatorischen glutamatergen Synapsen PP-DG-Synapsen des Hippocampus von Kaninchen untersucht.

Später konnte die LTP auch *in-vivo* und *in-vitro* bei Mäusen, Ratten, Affen und Menschen beobachtet werden (zusammengefasst in Kumar, 2011).

Bei einer kontinuierlichen elektrischen Teststimulation der SC z.B. bei einer Frequenz von 0,05 Hz (d.h. alle 20 s) erfolgt mithilfe des Neurotransmitters Glutamat die Generierung exzitatorischer postsynaptischer Potentiale (EPSP) in den postsynaptischen CA1-Pyramidenzellen. Als LTP-Induktion wird eine kurze Folge schnell aufeinanderfolgender Reizimpulse (z.B. 1x100 Hz für 1s) verwendet. Die LTP stellt die in den postsynaptischen CA1-Neuronen hervorgerufene langandauernde Erhöhung der mittleren EPSP-Amplitude bzw. Anstiegssteilheit (engl. *slope*) dar (d.h. normierte Änderung der mittleren Slope (in %) während der letzten Minuten einer Messung relativ zur mittleren Slope vor der LTP-Induktion).

Die LTP konnte nicht nur an exzitatorischen Synapsen des Hippocampus sondern auch in verschiedenen anderen Hirnregionen des ZNS, wie z.B. Cerebellum, Amygdala, Striatum und Cortex beobachtet werden (zusammengefasst in Kumar, 2011).

1.2.2. Phasen der LTP

Die LTP ist ein multiphasisches Ereignis und kann entsprechend ihres zeitlichen Verlaufs und in Abhängigkeit von Anzahl und Wiederholungsrate der zur LTP-Auslösung benutzten Stimuli in eine frühe (engl. *early*, e-LTP) und späte (engl. *late*, l-LTP) Phase eingeteilt werden.

Die e-LTP beschreibt eine kurzzeitige, etwa ein-bis dreistündig anhaltende Phase, die durch eine einzige Folge eines hochfrequenten Stimulus initiiert werden kann. Es ist bekannt, dass diese Phase eine posttranslationale Modifikation synaptischer Proteine benötigt, (meist) aber von der Proteinsynthese unabhängig ist (von Bohlen und Halbach & von Bohlen und Halbach, 2017). Demgegenüber steht die durch mehrere (> vier) Folgen tetanischer Stimuli induzierbare, für mindestens 24 Stunden (h) anhaltende l-LTP (Milner et al., 1998), die sowohl translations- als auch transkriptionsabhängig ist (von Bohlen und Halbach & von Bohlen und Halbach, 2017). Diese längeranhaltenden Formen der synaptischen Plastizität konnten nach Induktion mit repetitiven oder tetanischen Stimuli mit verlängerten Stimulusfolgen (engl. *trains*) (ca. 200 ms bis 5 s) bei hohen Frequenzen (10- 200 Hz) beobachtet werden (Citri & Malenka, 2008).

1.2.3. Molekulare Mechanismen der LTP

Die Stimulation der SC mit einem niederfrequent wiederholten (z.B. alle 20 s) präsynaptischen Stimulus bedingt die Freisetzung von Neurotransmittern, vorwiegend Glutamat, in den präsynaptischen Endigungen (engl. *terminals*), wodurch die Effizienz der basalen synaptischen Übertragung (engl. *transmission*) bestimmt werden kann. Es erfolgt die Bindung des Glutamats auf die in der postsynaptischen CA1-Pyramidenzellmembran befindlichen Rezeptoren. An glutamatergen Synapsen findet man zwei bedeutende Typen ionotroper Glutamatrezeptoren in der postsynaptischen Membran, die zur postsynaptischen Antwort beitragen: α -Amino-3-Hydroxy-5-Methyl-4-Isoxazol-Propionsäure (AMPA)- und N-Methyl-D-Aspartat (NMDA)-Rezeptoren (Rs), die oftmals co-lokalisiert auf individuellen dendritischen Dornfortsätzen (engl. *spines*) vorkommen. AMPARs sind monovalente Kationenkanäle, die eine etwa gleich gute Permeabilität für Na^+ und K^+ aufweisen. Die Bindung von Glutamat bedingt im Bereich des neuronalen Ruhemembranpotentials von ca. -70 mV (non-NMDARs) einen einwärtsgerichteten Strom, wodurch ein exzitatorisches postsynaptisches Potential (EPSP) ausgelöst wird. Die NMDARs weisen bei negativen Membranpotentialen (Ruhemembranpotential bei -70 mV) aufgrund der Blockade durch extrazelluläres Magnesium (Mg^{2+}) eine hohe Spannungsabhängigkeit auf.

Wird zur Glutamatbindung durch die zusätzliche Induktion eines hochfrequenten Stimulus eine ausreichend starke Depolarisierung der Zellmembran erzielt, erfolgt die Lösung der Mg^{2+} von den Kanalbindungsstellen am NMDAR. Die nun aktivierten NMDA-Kanäle ermöglichen den Einstrom von Na^+ und Ca^{2+} in den CA1-Dendriten. Dies resultiert in einer raschen Erhöhung der intrazellulären Ca^{2+} -Konzentration in der Postsynapse (zusammengefasst in Citri & Malenka, 2008). In Abb. 5 ist das Schema der LTP-Induktion in der CA1-Synapse dargestellt. Aufgrund dieser simultan ablaufenden Glutamatbindung und Zellmembrandepolarisation zur optimalen Aktivierung der NMDARs werden diesen Rezeptoren assoziative Eigenschaften zugeschrieben (Bliss & Collingridge, 1993; Milner et al., 1998) und sie agieren als Koinzidenzdetektoren für gleichzeitig prä- und postsynaptische Depolarisationen (Nicoll et al., 1988; Citri & Malenka, 2008).

Die Überschreitung einer kritischen Schwelle der intrazellulären Ca^{2+} -Konzentration sorgt für die Aktivierung biochemischer Prozesse, die für die (weitere) LTP notwendig sind und stellt somit, neben der postsynaptischen Depolarisation und Aktivierung der NMDARs, eine wichtige Komponente der Induktion der LTP dar. So werden -auf direktem oder indirektem Weg- drei verschiedene Proteinkinasen aktiviert: Calcium/ Calmodulin-abhängige Kinase II

(CaMKII), Proteinkinase C (PKC) sowie Tyrosinkinase Fyn, die posttranslationale Modifikation in entweder prä- oder postsynaptischen Neuronen herbeiführen und so eine gesteigerte postsynaptische Antwort hervorrufen (Kandel et al., 2013; zusammengefasst in Milner et al., 1998).

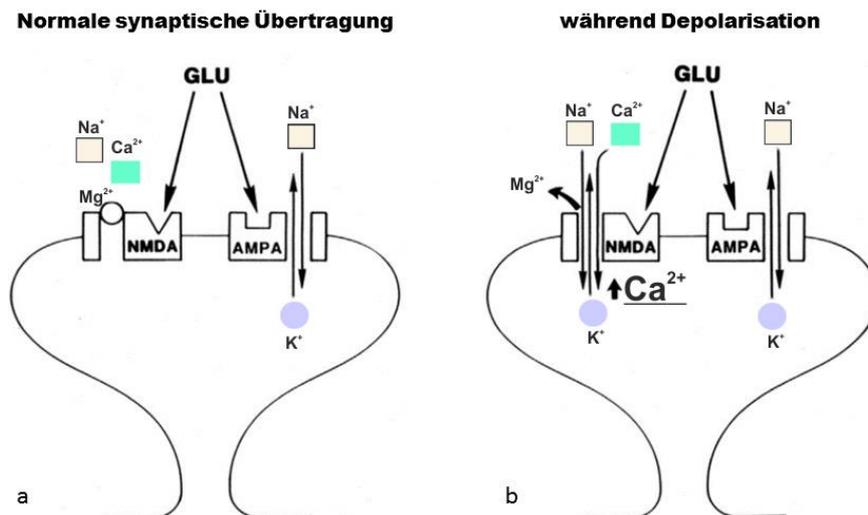


Abb. 5: Darstellung der LTP-Induktion in der CA1-Region des Hippocampus.

(a) Zustand während niederfrequenter basaler synaptischer Transmission: Freisetzung von Glutamat aus der präsynaptischen Terminalie und Bindung an AMPA- und NMDA-Rezeptoren. Durch den Kanal des AMPAR können Na⁺ und K⁺ strömen, wohingegen der NMDAR-Kanal durch extrazelluläres Mg²⁺ blockiert ist.

(b) Zustand während der Zellmembrandepolarisation der CA1-Postsynapse durch einen hochfrequenten Tetanus: Die Verdrängung des Mg²⁺-Blocks des NMDAR-Kanals wird durch die Depolarisation erreicht und bedingt den Influx von Na⁺, K⁺ und am wichtigsten, den Ca²⁺-Ionen durch den NMDAR in das postsynaptische Neuron. Die Ca²⁺-Konzentrationserhöhung im Cytoplasma der postsynaptischen Zelle führt u.a. zur Aktivierung der Calcium/ Calmodulin-abhängigen Kinase II (CaMKII) (nicht dargestellt) (modifiziert nach Masterarbeit Monique Klausch, 2017; Nicoll, 2017).

Bei ausreichend starker LTP-Induktionsprotokolle folgt der e-LTP die l-LTP (Kumar, 2011), die die Synthese neuer Boten-Ribonukleinsäure (engl. *messenger ribonucleic acid*, mRNA) und Proteine benötigt (Milner et al., 1998). Durch Erhöhung der intrazellulären Ca²⁺-Konzentration erfolgt die Aktivierung der Adenylatzyklase (AC), die die Katalyse von Adenosintriphosphat (ATP) zu 3',5'- zyklischem Adenosinmonophosphat (cAMP) bedingt, infolge dessen die PKA durch cAMP-Bindung aktiviert wird.

Die PKA aktiviert wiederum die Mitogen-aktivierte Proteinkinase (engl. *mitogen-activated protein kinase*, MAPK), welche spezielle extrazellulär regulierte Kinasen (engl. *extracellular-*

signal regulated kinases, ERKs) darstellen, die nach einmaliger Aktivierung den zellulären Transkriptionsfaktors CREB-1 (engl. *cAMP response element-binding enzyme*) phosphorylieren. Durch Bindung an eine spezifische Desoxyribonukleinsäure- (engl. *deoxyribonucleic acid*, DNA) Erkennungssequenz, dem sog. CRE (engl. *cAMP response elements*), werden Gene mit CRE-Sequenz verstärkt exprimiert (Kandel et al., 2013). Auch dieser ERK/MAPK-Weg scheint für die LTP und einige Formen von Lernen und Gedächtnis eine wichtige Rolle zu spielen (Citri & Malenka, 2008).

Der zusammengefasste molekulare Mechanismus der LTP (e- und I-LTP) ist in Abb. 6 dargestellt.

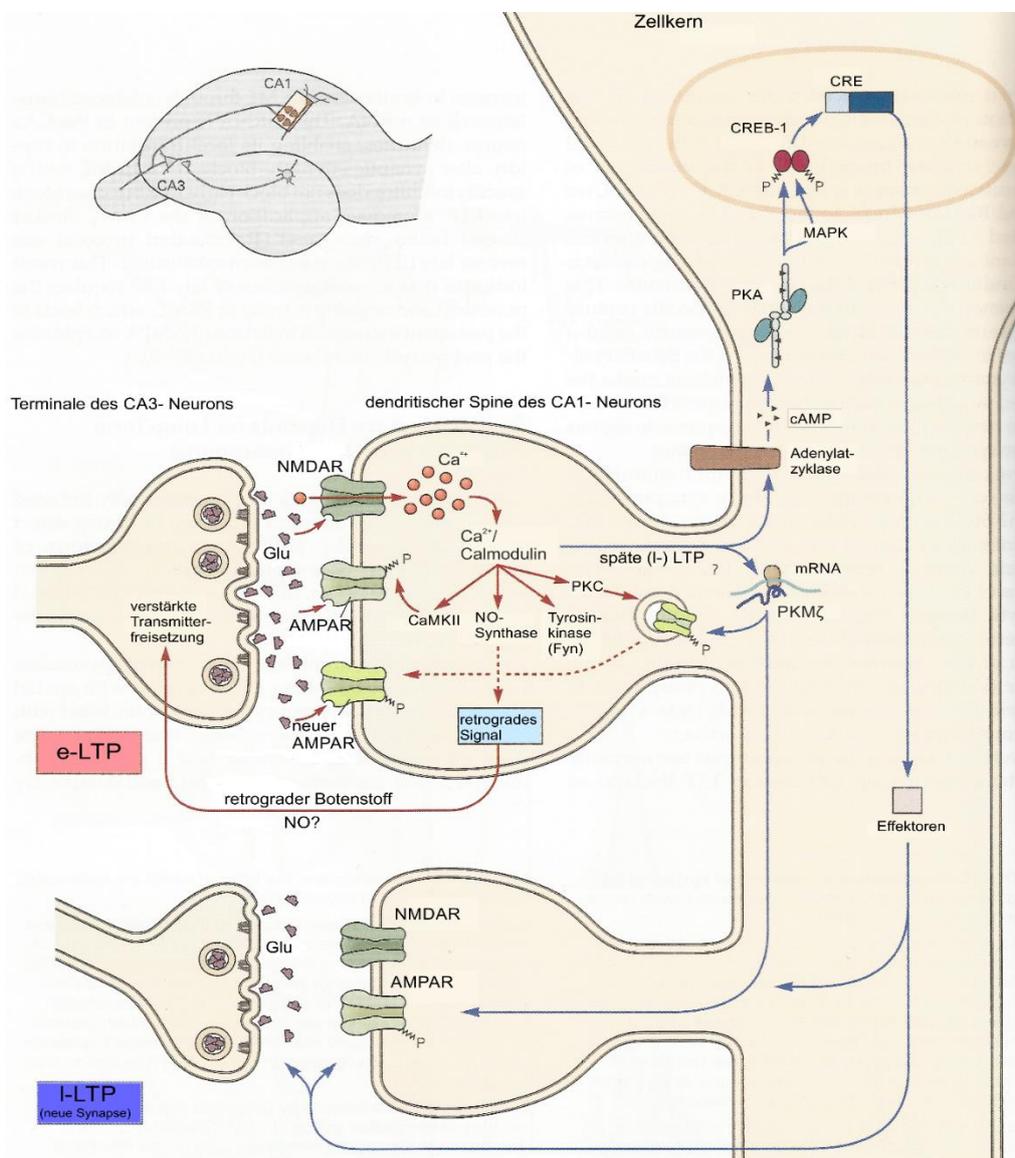


Abb. 6: Molekularer Mechanismus der frühen (e-) und späten (I-) LTP an der SC-CA1-Synapse. Die e-LTP wird durch einen einzigen Tetanus induziert: durch Bindung von Glutamat an den NMDAR, wird dieser aktiviert und ermöglicht den Ca^{2+} -Influx in den dendritischen Spine des CA1-Neurons.

Infolge dessen wird der Ca^{2+} /Calmodulin-Komplex aktiviert, der wiederum für die Aktivierung der Ca^{2+} /Calmodulin-abhängigen Kinase II (CaMKII), der Proteinkinase C (PKC), der Tyrosinkinase Fyn und der Stickstoffmonoxid (NO)- Synthase verantwortlich ist. Durch die Kinaseaktivität der CaMKII werden AMPA-Rezeptoren (R) phosphoryliert; das durch die NO-Synthase synthetisierte NO kann je nach gewähltem LTP-Paradigma als retrograder Botenstoff durch Diffusion auf die Präsynapse (CA3-Neuronterminale) wirken und so die Transmitterfreisetzung verstärken. Mit wiederholten tetanischen Stimuli löst der Ca^{2+} -Einstrom auch die Rekrutierung der Adenylatzyklase (AC) aus, die das zyklische Adenosinmonophosphat (cAMP) zur Aktivierung der Proteinkinase A (PKA) generiert. Dadurch werden Mitogen-aktivierte Proteinkinasen (MAPK) aktiviert, die zum Zellkern wandert und dort den zellulären Transkriptionsfaktor CREB-1 phosphoryliert. Der nun phosphorylierte Transkriptionsfaktor aktiviert die Transkription entsprechender Zielgene, was zur Ausbildung neuer synaptischer Verbindungen führen kann. Die wiederholte tetanische Stimulation aktiviert außerdem die Translation der Proteinkinase M ζ (PKM ζ), die anhaltend aktive Isoform der PKC. Dies hat eine langanhaltende Erhöhung der Zahl an AMPAR in der postsynaptischen Membran zur Folge (**AC**- Adenylatzyklase, **CaMKII**- Ca^{2+} /Calmodulin-abhängige Kinase II, **cAMP**- zyklisches Adenosinmonophosphat, **CRE**- bestimmte DNA-Sequenzen, **CREB-1**- zellulärer Transkriptionsfaktor, **Glu**- Glutamat, **MAPK**- Mitogen-aktivierte Proteinkinasen, **NO**- Stickstoffmonoxid, **PKM ζ** - Proteinkinase M ζ) (modifiziert nach Kandel et al., 2013).

Für den Aufbau persistierender Formen der synaptischen Plastizität (LTP und LTD) sind plastizitätsrelevante Proteine (engl. *plasticity related proteins*, PRPs), die infolge synaptischer Aktivierung oder postsynaptischer Aktivität synthetisiert oder aktiviert werden, notwendig (Abraham, 2008). Diese rufen an den aktivierten Synapsen Veränderungen funktioneller und struktureller Eigenschaften, wie z.B. die Neuausbildung und Verstärkung oder Abbau von Spines, den Umbau des Zytoskeletts und längeranhaltende Veränderungen der synaptischen Transmission, hervor (Bin Ibrahim et al., 2022). Mögliche, bereits beschriebene, als PRPs agierende Kandidaten, stellen u.a. die PKM ζ , das aktivitätsregulierende Zyosklett-assoziierte Protein (engl. *activity-regulated cytoskeleton-associated protein*, Arc) (Vishnoi et al., 2018) sowie das BDNF dar (Pang et al., 2004).

1.2.4. Eigenschaften der LTP

Die LTP stellt einen zellulären Mechanismus zur schnellen Informationsspeicherung dar. Sie weist neben der Möglichkeit zur schnellen Generierung sowie Verstärkung und Verlängerung durch Repetition auch die Schlüsseleigenschaften Kooperativität, Assoziativität und Eingangs- (Input-) spezifität auf (zusammengefasst in Citri & Malenka, 2008).

Kooperativität beschreibt die Eigenschaft, dass die LTP durch zeitgleich auftretende (co-inzidente) Aktivierung mehrerer Synapsen induziert wird; Assoziativität ist durch die Fähigkeit

zur Potenzierung eines schwachen Reizes (der selbst unterhalb der notwendigen, LTP-auslösenden Schwelle liegt) durch einen starken Reiz gekennzeichnet, wenn die gemeinsame Aktivierung beider unabhängiger Schaltwege in enger räumlicher und zeitlicher Nachbarschaft zueinander stattfindet (Bliss et al., 2018). Nur an den aktivierten, nicht an angrenzenden, inaktiven Synapsen desselben postsynaptischen Neurons wird die LTP hervorgerufen- diese Eigenschaft wird als Inputspezifität bezeichnet (Citri & Malenka, 2008).

Strukturelle Umbauprozesse der potenzierten Synapsen sind für die langanhaltende Aufrechterhaltung der LTP notwendig. Die mit der LTP einhergehenden morphologischen Veränderungen sind z.B. die Entstehung neuer bzw. die Volumenvergrößerung bestehender Spines. An der Membrannenseite der postsynaptischen Spines befindet sich das Proteinnetzwerk, der sog. postsynaptische Verdichtung (engl. *postsynaptic density*, PSD), welches den Einbau zusätzlicher AMPARs in die PSD in der e-LTP vermittelt (zusammengefasst in Citri & Malenka, 2008).

Für das deklarative Gedächtnis spielen die NMDARs und die NMDAR-bedingte synaptische Plastizität an den SC-CA1-Synapsen eine entscheidende Rolle. So konnte durch Richard Morris und Kollegen gezeigt werden, dass eine pharmakologische Inhibition der NMDARs eine Blockierung der LTP mit sich bringt -auf Verhaltensebene konnten die untersuchten Tiere zwar erfolgreich durch das von Morris zur Testung räumlichen Orientierungsvermögens entwickelten Schwimmlabyrinth (engl. *Morris water maze*) (Morris, 1984) navigieren, jedoch waren sie zur Bildung eines räumlichen Gedächtnisses nicht in der Lage (Morris et al., 1986; Milner et al., 1998).

Insgesamt wird angenommen, dass die *de-novo* stattfindende Gentranskription und Proteinsynthese mit der Ausbildung neuer Spines oder deren Vergrößerung ermöglicht und deshalb die LTP mit einer erhöhten Spinedichte an den potenzierten Synapsen einhergeht (zusammengefasst in von Bohlen und Halbach & von Bohlen und Halbach, 2017). Passend dazu konnten May-Britt Moser und Kollegen zeigen, dass räumliches Lernen durch eine Zunahme in der Spinedichte basaler Dendriten der CA1-Pyramidenneurone gekennzeichnet ist (Moser et al., 1994).

1.3. Neuromodulation

Der Begriff „Neuromodulation“ beschreibt die Veränderung synaptischer und zellulärer Eigenschaften durch Neuronen selbst oder durch von Neuronen freigesetzte Substanz(en) (Katz

& Calin-Jagemann, 2009) und stellt die Grundlage der Flexibilität synaptischer Schaltkreise dar. Über prä- und postsynaptische Mechanismen kann sowohl die Auslösung von LTP und LTD als auch die basale synaptische Transmission aktivitätsunabhängig verändert werden (Nadim & Bucher, 2014; zusammengefasst in Edelman & Lessmann, 2018). Dopaminerge und noradrenerge Axone, die aus verschiedenen Bereichen des Mittelhirns in den Hippocampus projizieren, sind in der Lage, die elektrische Erregbarkeit, die Effizienz der Transmitterausschüttung und die Empfindlichkeit der postsynaptischen Rezeptoren zu regulieren. Auf diese Weise beeinflussen sie die LTP-Induktion und kontrollieren die Beständigkeit der synaptischen Paarpulsbahnung an den SC-CA1-Synapsen (Kumar, 2011; zusammengefasst in Edelman & Lessmann, 2018).

Neuromodulatoren sind zellulär synthetisierte Botenstoffe (Transmitter, Lipid oder Protein), deren Freisetzung u.a. in der Nähe von glutamatergen Neuronen erfolgt (zusammengefasst in Edelman & Lessmann, 2018) und die Fähigkeit zur Modulation der Schwelle (engl. *threshold*) für die zukünftige synaptische Plastizität besitzen. Dieser als „Metaplastizität“ (Plastizität der synaptischen Plastizität) bezeichnete Prozess beschreibt, dass mithilfe synaptischer Aktivität (die selbst keinen Einfluss auf die synaptische Effizienz hat) persistierende Veränderungen in Stärke oder Richtung der nachfolgenden aktivitätsabhängigen synaptischen Plastizität hervorgerufen werden können (Bear et al., 1987; Abraham & Bear, 1996; Citri & Malenka, 2008; zusammengefasst Ireland et al., 2009). Konkret bedeutet dies: wird ein metaplastizitätsinduzierendes Ereignis (engl. *priming*) zu einem bestimmten Zeitpunkt mit einem nachfolgenden plastizitätsinduzierenden Ereignis (wie z.B. einem hochfrequenten/niederfrequenten Stimulus (HFS/ LFS) oder Lernen auf Verhaltensebene) gekoppelt, kann dadurch die synaptische Plastizität wie LTP oder LTD moduliert werden (Abraham, 2008; zusammengefasst in Ireland et al., 2009).

1.3.1. Dopamin und Noradrenalin

Dopamin (DA) und Noradrenalin (Norepinephrin, NE) sind, wie auch Adrenalin (Epinephrin) biogene Amine und zur Gruppe der Catecholamine gehörende, nicht Blut-Hirn-Schrankengängige Neurotransmitter des zentralen Nervensystems (ZNS). Dopamin spielt u.a. bei neurodegenerativen Erkrankungen (z.B. Parkinsonismus und Morbus Alzheimer) und psychiatrischen Erkrankungen (z.B. Schizophrenie) eine wichtige Rolle (von Bohlen und Halbach & Dermietzel, 2006) und wird bei einigen Lernaufgaben zur Gedächtniskonsolidierung benötigt (Matthies, 1989; Bliss et al., 2018). Dopamin spielt sowohl

bei der LTP-Induktion (Frey et al., 1990; Reymann & Frey, 2007; Bliss et al., 2018) als auch bei der Auslösung der STDP (z.B. Zhang et al., 2009; Brzosko et al., 2015; zusammengefasst in Edelman & Lessmann, 2018) in SC-CA1-Synapsen eine entscheidende Rolle.

1.3.1.1. Synthese und Rezeptoren

Die Synthese des DA (siehe Abb. 7) erfolgt auf Basis der Aminosäure Phenylalanin, welche durch das Enzym Phenylalaninhydroxylase in Tyrosin und anschließend durch Hinzufügen einer Carboxylgruppe mittels Tyrosinhydroxylase (TH) in L-Dihydroxyphenylalanin (Levodopa, L-Dopa) umgewandelt wird. Durch die anschließende Decarboxylierung entsteht das Catecholamin DA; mithilfe der Dopamin- β -Hydroxylase wird NE synthetisiert, welches mithilfe der Phenylethanolamin-N-methyltransferase abschließend zu Adrenalin umgewandelt werden kann (von Bohlen und Halbach & Dermietzel, 2006; Joyce & Vogeler, 2018; Speranza et al., 2021). Mithilfe synaptischer Vesikelproteine, sog. VMAT2 (engl. *vesicular monoamine transporter*) erfolgt der Transport des synthetisierten DA in Vesikel mit anschließender Freisetzung in den synaptischen Spalt sowie Bindung an deren spezifische Rezeptoren.

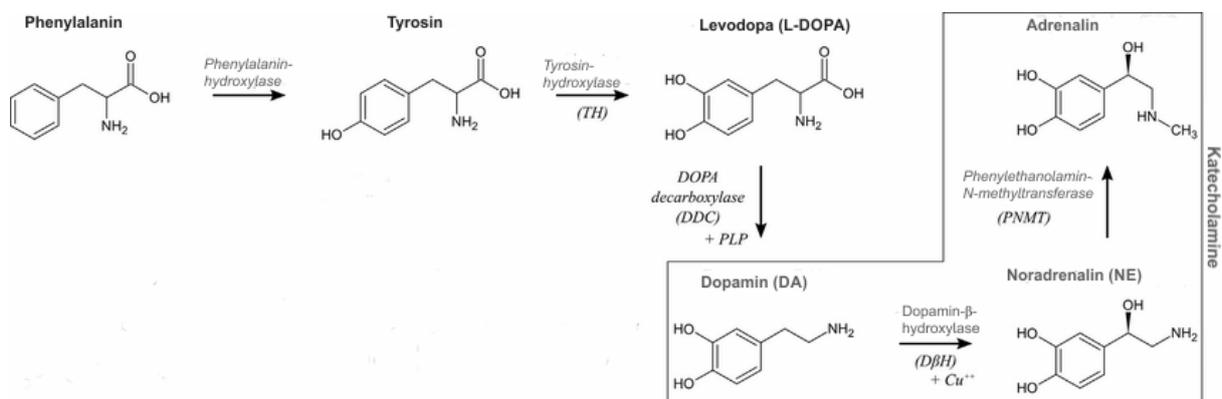


Abb. 7: Biosynthese der Catecholamine (modifiziert nach Joyce & Vogeler, 2018).

Die DA-Rezeptoren, zur Familie der G-Protein-gekoppelten Rezeptoren (engl. *G-protein coupled receptors*, GPCRs) gehörend, können mit ihren fünf verschiedenen Rezeptorsubtypen (D1-D5R) in eine der beiden Unterklassen eingeteilt werden: D1-artige (engl. *D1-like*) und D2-artige (engl. *D2-like*) Rezeptoren (Joyce & Vogeler, 2018; Palacios-Filardo & Mellor, 2019; Speranza et al., 2021). Die Aktivierung der D1-artigen Rezeptoren, zu denen D1Rs und D5Rs gehören, führt durch die generelle Kopplung mit G_s -Proteinen zu einer aktivierten AC. Die damit verbundene, vermehrte katalytische Umwandlung des Adenosintriphosphat (ATP) zu

3',5'- zyklischem Adenosinmonophosphat (cAMP), einem sekundären Botenstoff (engl. *second messenger*), bedingt die Aktivierung der Proteinkinase A (PKA), welche wiederum den zellulären Transkriptionsfaktor CREB (engl. *cAMP response element-binding enzyme*) im Zellkern phosphoryliert. Dieser ist für die Aktivierung der CREB-abhängigen Gentranskription verantwortlich. Durch die Aktivierung des D1Rs werden verschiedene Ionenkanäle, wie spannungsabhängige Ca²⁺-, K⁺- und Na⁺-Kanäle sowie G-Protein-abhängige einwärts gleichgerichtete K⁺-Kanäle moduliert (engl. *G-protein gated inwardly rectifying K⁺ channels*, GIRKs) (zusammengefasst in Speranza et al., 2021).

Gegensätzlich zu den D1-artigen Rezeptoren weisen die D2-artigen Rezeptoren, zu denen D2-D4Rs gehören, eine Kopplung mit der G_{i/o}-Untereinheit (UE) des GPCR auf. Dies hat nicht nur eine Inhibition der AC, damit einhergehender Erniedrigung des cAMP-Spiegels und einen nachfolgend gehemmten PKA-Signalweg zu Folge, sondern ist auch mit der Aktivierung der GIRKs- und Schließung der spannungsabhängigen Ca²⁺-Kanäle verbunden (Speranza et al., 2021).

1.3.1.2. Neuromodulatorischer Einfluss von DA und NE auf den Hippocampus

Die anatomisch und funktionell heterogenen DA-Neurone befinden sich im Di- und Telencephalon (Speranza et al., 2021), wobei der größte Teil, etwa 70 %, im ventralen Mesencephalon vorzufinden sind und dort drei bedeutende Kerngebiete bilden: ventrales tegmentales Areal (VTA), Substantia nigra (SN) *pars compacta* und Locus coeruleus (LC) (Bazzari & Parri, 2019; Palacios-Filardo & Mellor, 2019). Auf Basis dieser Kerngebiete projizieren die dopaminergen Fasern über unterschiedliche namensgebende Bahnen (nigrostriatal, mesolimbisch und mesocortikal) in verschiedenen Hirnregionen (Roeper, 2013; Bazzari & Parri, 2019; Speranza et al., 2021).

Der Ursprung der mesolimbischen Bahn befindet sich in der VTA, von dort aus gelangen dopaminerge Axone u.a. in den präfrontalen Cortex, Nucleus accumbens und den Hippocampus (Speranza et al., 2021). Die VTA wird als Quelle des hippocampalen DA angenommen, allerdings konnten Unterschiede in der dopaminergen Projektion entlang der longitudinalen Achse festgestellt werden (Kempadoo et al., 2016).

Die weitverbreitete Expression beider Rezeptorunterklassen konnte mit -einigen regionsspezifischen Unterschieden- im Hippocampus gezeigt werden (Wei et al., 2018; Palacios-Filardo & Mellor, 2019). Bedingt durch u.a. spezifische Rezeptoraktivierungen und

der damit einhergehend mechanistisch entgegengesetzten Wirkungen der Rezeptorunterklassen, ist DA in der Lage, die synaptische Plastizität durch exzitatorische bzw. inhibitorische Wirkungen zu beeinflussen (Palacios-Filardo & Mellor, 2019; Speranza et al., 2021). Auf Plastizitätsprozesse scheinen die D1Rs den größten Einfluss zu haben: die D1Rs setzen die zelluläre Erregbarkeit herab und bewirken eine Enthemmung und Modulation der NMDAR-Signalübertragung, wodurch die LTP und LTD fasziliert werden können. Dies ist ebenso möglich, wenn die Rezeptoraktivierung (sowohl der D1- als auch D2Rs) nach einem plastizitätsinduzierenden Event (mit einer beträchtlichen zeitlichen Verzögerung) durch Aktivierung von Gentranskription und Proteintranslation erfolgt (zusammengefasst in Palacios-Filardo & Mellor, 2019). So konnte gezeigt werden, dass die retroaktive Applikation von DA nach einem plastizitätsinduzierenden Event (STDP-Protokoll, d.h. Aktivierung der Postsynapse zeitlich vor Präsynapse), eine Umwandlung von t-LTD zu t-LTP hervorruft (Brzosko et al., 2015).

Die Hauptquelle des NE im ZNS stellt der zur Kerngruppe des Hirnstammes gehörende Locus coeruleus (LC) dar, dessen Neurone in verschiedene cortikale und subcortikale Hirnregionen, wie Cerebellum, Thalamus, Amygdala und Hippocampus projizieren. Die noradrenergen Rezeptoren werden in zwei Rezeptorklassen unterteilt: α - und β -Rezeptoren mit ihren Subtypen α_1 , α_2 , β_1 , β_2 sowie β_3 und gehören, wie auch die Dopaminrezeptoren, zur Gruppe der GPCRs. Je nach ihrer subzellulären Lokalisation und der relativen Expressionslevel sind sie in der Lage, zahlreiche neuronale Eigenschaften wie die zelluläre Erregbarkeit, synaptische Transmission und Plastizität zu beeinflussen (zusammengefasst in Nguyen & Connor, 2019). Dabei scheint die Aktivierung beider α -Rezeptorsubtypen nur einen schwachen Effekt auf die LTP-Induktion und deren Aufrechterhaltung zu haben (Nguyen & Connor, 2019), wohingegen die Wirkung des NE auf ihre β -Rezeptoren modulierende Fähigkeiten in Form einer verbesserten LTP und verstärkten Gedächtnisspeicherung besitzt (Stanton & Sarvey, 1984; Harley et al., 1996; Katsuki et al., 1997; Gelinás & Nguyen, 2005; Maity et al., 2015).

1.3.2. Der Einfluss von BDNF

Der Wachstumsfaktor BDNF stellt ein wichtiges Protein mit neurotrophischen und -protektiven Eigenschaften dar und gehört, neben dem Nervenwachstumsfaktor NGF (engl. *nerve growth factor*), Neurotrophin (NT)-3 und -4/5, der Neurotrophin-Familie an (Barde, 1994). Sowohl während der ontogenetischen Entwicklung als auch postnatal ist BDNF an der Regulierung zahlreicher Prozesse, wie der adulten Neurogenese, Neuronendifferenzierung und -überleben

aber auch an der synaptischen Plastizität im adulten Gehirn beteiligt (Lewin & Barde, 1996; Park & Poo, 2013; Brigadski & Lessmann, 2014).

BDNF wird als intrazellulär synthetisierter und bei Auslösung des LTP- bzw. LTD-induzierenden Stimulus freigesetzter biochemischer Botenstoff die Funktion eines Neuromediators zugeschrieben (zusammengefasst in Edelmann & Lessmann, 2018).

Der Wachstumsfaktor ist in der Lage, die synaptischer Effizienz durch entweder veränderte präsynaptische Transmitterfreisetzung oder verstärkte Transmittersensitivität der Postsynapse zu modulieren, was mit der Entstehung einer langanhaltenden synaptischen Plastizität verbunden ist. In heterozygoten BDNF-*Knockout*-Tieren wurde eine Beeinträchtigung der LTP an SC-CA1-Synapsen des Hippocampus festgestellt - dies untermauert die Bedeutsamkeit der Beteiligung des BDNF an der synaptischen Plastizität (zusammengefasst in Edelmann et al., 2014).

Nach Sezernierung des Vorläuferproteins (prä-pro BDNF) in das endoplasmatische Retikulum (ER) und der Prä-Sequenz-bedingten Bindung der BDNF-mRNA an die dortigen Ribosomen sowie BDNF-Proteintransport in das ER erfolgt durch Abspaltung der o.g. Sequenz das pro-BDNF. Dieses wird über den Golgi-Apparat zum Trans-Golgi-Netzwerk transportiert, wo die weitere Prozessierung sowie die für die Entstehung von reifem (engl. *mature*, m-) BDNF notwendige, durch Proteinkonvertasen vollzogene endoproteolytische Spaltung des pro-BDNF stattfindet. Anschließend erfolgt die Abschnürung der sowohl pro-BDNF als auch m-BDNF enthaltenden sekretorischen Granula, die dann über die Aktivierung rezeptorspezifischer Signalkaskaden teilweise antagonistische Wirkungen hervorrufen: die Bindung von pro-BDNF erfolgt hauptsächlich an p75-Neurotrophinrezeptoren (p75-NTR), was u.a. Apoptose und LTD zur Folge hat; das vorrangig an Tyrosinkinase B- Rezeptoren (TrkB-Rs) bindende m-BDNF hingegen fördert die neuronale Zellentwicklung, -differenzierung, -überleben und die LTP (zusammengefasst in Brigadski & Lessmann, 2014).

Die für die Proteinsynthese benötigte BDNF-mRNA kann weitverbreitet im ZNS, z.B. im cerebralen Cortex, Bulbus olfactorius, Hypothalamus, Amygdala und der hippocampalen Formation detektiert werden. Durchgeführte *in-vivo* und *in-vitro* Studien zeigen ein Vorkommen in somatischen und dendritischen (hippocampal: Körnerzellen des DG und Pyramidenzellen der CA1-3-Regionen) Strukturen, jedoch nicht in Axonen. Die BDNF-Proteinexpression ist im cerebralen Cortex sowie der hippocampalen Formation am stärksten ausgeprägt. Im Gegensatz zur BDNF-mRNA konnte hippocampal in den Axonterminalien der

Körnerzellen des DG und CA3-Pyramidenzellen endogenes BDNF lokalisiert werden (zusammengefasst in Edelman et al., 2014). Die BDNF-Expression kann neben neuronaler elektrischer Aktivität auch durch physische Aktivität (z.B. Ausdauersport), eine angereicherte Umgebung (engl. *enriched environment*), Stress und den zirkadianen Rhythmus bedingt sein. So konnte beispielsweise in den CA1-Dendriten eine vermehrte BDNF-Expression infolge des *enriched environments* und geringer Stresslevel beobachtet werden. Reduzierte BDNF-Spiegel zeigen sich in Erkrankungen wie Depression, Morbus Huntington oder der Alzheimer'schen Demenz (zusammengefasst in Brigadski & Lessmann, 2014; Edelman et al., 2014)

Das endogen sekretierte BDNF kann mithilfe der Immunzytochemie, Western Blot- oder des antikörperbasierten Nachweisverfahrens detektiert werden (engl. *enzyme-linked immunosorbent assay*, ELISA) (Brigadski & Lessmann, 2014).

1.4. Zielsetzung

In dieser Arbeit sollte der Prozess des „Behavioral tagging“ (BT) im zellulären Modell auf synaptischer Ebene untersucht werden. Der BT-Prozess beschreibt die langfristige Speicherung eines schwachen Lernreizes bei zeitlich naher Kopplung mit einem auffälligen Ereignis (z.B. Neuartiges, engl. *novelty*). Durch die, während der Novelty, synthetisierten oder aktivierten PRPs wird die Verankerung des schwachen Lernreizes im Langzeitgedächtnis begünstigt (Moncada & Viola, 2007; Ballarini et al., 2009; Moncada et al., 2015). Wichtige Modulatoren der Novelty sind DA und NE (Rangel-Gomez & Meeter, 2016) die an den aktivierten Synapsen langanhaltende Veränderungen hervorrufen können.

Mithilfe elektrophysiologischer Ableitungen synaptischer Signale von benachbarten CA1-Neuronen sollte auf zellulärer Ebene der neuromodulatorische und metaplastische Einfluss von DA und NE zu verschiedenen Zeitpunkten auf die hippocampale Kurz- und Langzeitpotentierung an SC-CA1-Synapsen entlang der longitudinalen Achse des Hippocampus analysiert werden. Dazu wurde die synaptische Plastizität in 8-15 Wochen alten C57BL/6J-Tieren männlichen Geschlechts an akuten Hirnschnittpräparaten mittels extrazellulärer Feldpotentialableitungen untersucht.

Nach erfolgter Etablierung eines schwachen LTP-induzierenden Stimulus (im BT-Prozess: schwacher Lernreiz) sollte die Kopplung mit den Neurotransmittern DA bzw. NE -durch exogene Applikation in die Messkammer- als metaplastizitätsinduzierendes Ereignis (engl. *priming*) erfolgen (im BT-Prozess: Novelty), um eine stabile und langanhaltende effiziente e-

LTP hervorzurufen (im BT-Prozess: Verankerung des Lerninhaltes im Langzeitgedächtnis). Dabei fand die Anwesenheit der Neurotransmitter DA und NE -zeitlich bezogen auf den LTP-induzierenden Stimulus- zu unterschiedlichen Zeitpunkten (engl. *priming time*, PT) (sowohl vor, zeitgleich mit als auch nach dem LTP-induzierenden Stimulus) statt, um möglicherweise zeitabhängig vorliegende pro-/aktive und/oder retroaktive neuromodulatorische Wirkungen der Neurotransmitter DA und auf die e-LTP entlang der longitudinalen Achse des Hippocampus zu detektieren.

Für die Aufrechterhaltung persistierender Formen von LTP und LTD werden PRPs benötigt (Abraham, 2008); für die Expression der l-LTP wurde BDNF als wichtiges PRP beschrieben (Pang et al., 2004). Zur Untersuchung, ob BDNF der durch den neuromodulatorischen Einfluss der Neurotransmitter DA und NE hervorgerufenen e-LTP als PRP in Frage kommt und so die synaptische Aktivität über einen längerfristigen Zeitraum herbeigeführt bzw. aufrechterhalten werden kann, sollte der BDNF-Gehalt nach Abschluss der durchgeführten extrazellulären Feldpotentialmessungen in den (abgeleiteten) Hippocampus-Schnitten des DH mittels des molekularbiologischen antikörperbasierten Nachweisverfahrens (ELISA, engl. *enzyme-linked immunosorbent assay*) individuell quantifiziert werden.

2. Material und Methoden

2.1. Versuchstiere

Für diese Arbeit wurden institutsintern gezüchtete 8 bis 15 Wochen alte C57BL/6J- Mäuse männlichen Geschlechts (Ursprung: Charles River, Sulzfeld, Deutschland) verwendet. Sie wurden unter standardisierten Bedingungen in Makrolon-Käfigen Typ II mit jeweils 2 bis 4 Tieren bei einer Umgebungstemperatur von 22 ± 2 °C sowie einer Hell-/Dunkelphase von 12:12 Stunden (Licht ab 07:00 Uhr) und unbegrenztem Futter- und Trinkwasserzugang (*ad libitum*) gehalten. Während der Hellphase fanden alle durchgeführten Experimente statt.

Die Durchführung aller Experimente erfolgte nach den Vorgaben der Richtlinie 2010/63/EU und unter entsprechender Überwachung der zuständigen Aufsichtsbehörde (Landesverwaltungsamt Sachsen-Anhalt).

Die im Folgenden beschriebene Vorgehensweise erfolgte analog zu der wie bereits in meiner Masterarbeit beschrieben (Klausch, 2017):

2.2. Präparation und Anfertigung der Gehirnschnitte

Zunächst wurden die Tiere zur Präparationsvorbereitung mithilfe des Inhalationsnarkotikums Isofluran (CP-Pharma, Karlsruhe, Deutschland; 0,5 ml in 2 l Inkubator, DURAN) anästhesiert. Nachdem durch Prüfung des Pedalreflexes ein ausreichender Bewusstseinsverlust beurteilt wurde, erfolgte die Dekapitation. Um eine fortschreitende Zellischämie zu vermeiden, wurde nachfolgend eine rasche Präparation des Gehirns und Anfertigung der akuten Schnitte vorgenommen.

Die Kopfhaut wurde auf einer eisgekühlten Arbeitsfläche dorsomedial, zwischen den Augen beginnend, mit einem Skalpell von rostral nach caudal geteilt und vom Schädeldach gelöst. Anschließend konnte die coronale Absetzung des Os frontale mit Teilen des Bulbus olfactorius entlang der *Sutura coronalis* erfolgen. Die Schädelkalotte wurde entlang der *Sutura sagittalis* von caudal nach rostral eröffnet. Nach Entfernung des Schädeldachs konnte eine vollständige Hirnentnahme mithilfe eines gebogenen Spatels erfolgen. Das Gehirn wurde unmittelbar in eisgekühlte artifizielle Cerebrospinalflüssigkeit (engl. *artificial cerebrospinal fluid*, ACSF) in folgender Zusammensetzung aufgenommen (in mM): 126 Natriumchlorid (NaCl), 26

Natriumhydrogencarbonat (NaHCO_3), 0,8 Natriumdihydrogenphosphat (NaH_2PO_4), 2,5 Kaliumchlorid (KCl), 1 Calciumchlorid (CaCl_2), 6 Magnesiumchlorid (MgCl_2) und 10 Glukose -durch Begasung mit Carbogen, bestehend aus 95 % Sauerstoff (O_2) und 5 % Kohlenstoffdioxid (CO_2) gesättigt-, um eine ausreichende Nährstoffversorgung und Gewebsschonung zu gewährleisten. In der ACSF-Lösung wurden Bulbus olfactorius, Hirnstamm, Cerebellum und präfrontaler Cortex (ca. erstes frontales Drittel) des entnommenen Gehirns entfernt.

Zur Anfertigung der institutsintern üblichen Standardschnitte, d.h. akuter transversaler Hirnschnitte (z.B. Hessler et al., 2015) wurde das Gehirn in einem 11° Winkel zu beiden Seiten transversal geschnitten und mit der Ventralseite auf einer vorgekühlten und mit Cyanacryl-Klebstoff (Sekundenkleber; UHU, Bühl, Deutschland) bedeckten Schneideplattform einer Schneidekammer fixiert. Beide Hemisphären wurden entlang der *Fissura longitudinalis* voneinander getrennt. Für die Anfertigung akuter coronaler Hirnschnitte erfolgte die Fixierung des Gehirns entsprechend mit der Rostralseite. Zur Stabilisierung des Gehirns wurde auf der Schneideplattform zusätzlich ein Agarblock platziert und die Schneidekammer mit der bereits zuvor verwendeten eisgekühlten, carbogenierten ACSF-Lösung gefüllt.

Mithilfe eines Vibratoms (Leica VT1200S Vibratome, Leica Biosystems, Deutschland), in dessen Schwingkopf eine Rasierklinge (Gillette, Boston, USA) eingespannt war, wurden transversale (für die Experimente an ventral-intermediären (VIH) bzw. ventralen Hippocampus-Schnitten (VH)) bzw. coronale Hirnschnitte (zum Erhalt von dorsalen Hippocampus-Schnitten (DH)) mit einer Stärke von $350\ \mu\text{m}$ angefertigt. Anschließend erfolgte die Übertragung der gewonnenen akuten Hirnschnitte mittels abgebrochener und feuerpolierter Pasteurpipette in die Messkammer, wo sie abgedeckt bis zu ihrer weiteren Verwendung mindestens eine Stunde inkubierten, um eine ausreichende Regeneration zu gewährleisten.

2.3. Messkammer

Es wurde eine in der institutseigenen Werkstatt angefertigte „Interface“-Messkammer aus Plexiglas verwendet, die durch Magnete auf einer erschütterungsgedämpften Metalltischplatte fixiert war. Der umgebende Faraday-Käfig sorgte für eine effektive Abschirmung elektrostatischer Felder, wodurch Messungen kleinster Potentialschwankungen ermöglicht wurden.

In der Messkammer befand sich mittig eine etwa 5 x 2,5 cm große Vertiefung (Perfusionskammer), in der die Gehirnschnittpräparate auf Linsenreinigungspapier (TIFFEN, Hauppauge, USA) auf einer entsprechend angefertigten Ableitplatte platziert wurden. Zu Beginn eines Versuchstages wurde die Messkammer zu zwei Dritteln mit destilliertem Wasser (A. dest.) gefüllt; eine Konstanthaltung der Kammertemperatur bei 32 °C gewährleistete die darin befindliche Heizspirale gemeinsam mit einem Temperaturregler (FST TR-100, Fine Science Tools GmbH, Heidelberg, Deutschland) und Labornetzgerät (VOLTCRAFT PS-1302 D, Conrad Electronic AG, Wollerau, Deutschland). Ein ebenfalls in diesem Bereich des Kammergehäuses vorhandener Kunststoffschlauch ermöglichte durch kleine Öffnungen eine ununterbrochene Carbogenbegasung und somit den Erhalt eines notwendigen hohen Hydrogencarbonat (HCO_3)- Gehalts zur Aufrechterhaltung des pH-Wertes und zur Sauerstoffversorgung der Schnitte in der Perfusionskammer. Die Versorgung der Gewebsschnitte in der „Interface“-Messkammer erfolgte durch das aufsteigende erwärmte Gas. Die auf der Ableitplatte in der Perfusionskammer liegenden Schnitte wurden durchgängig mit 32 °C warmer ACSF mit der folgenden Zusammensetzung überspült (in mM): 126 NaCl, 26 NaHCO_3 , 0,8 NaH_2PO_4 , 2,5 KCl, 2 CaCl_2 , 1 MgCl_2 , 10 Glukose -durch Begasung mit Carbogen aus 95 % O_2 und 5 % CO_2 gesättigt- und mit einer Perfusionsgeschwindigkeit von 0,7 ml/ min über eine Rollenpumpe (ISMATEC, Wertheim, Deutschland) versorgt. Zusätzlich wurde die gesamte „Interface“-Messkammer mithilfe eines Deckels und speziellen Schiebern abgedeckt, wodurch die Austrocknung der Hirnschnitte verhindert wurde. Zu beiden Seiten der Messkammer befanden sich manuell betriebene Mikromanipulatoren (Märzhäuser, Wetzlar, Deutschland), in denen die Elektroden eingespannt wurden. Mittels dieser Mikromanipulatoren konnten die Stimulations- und Ableitelektrode in den entsprechenden Regionen des Hirnschnitts unter Kontrolle eines Stereomikroskops (Carl Zeiss AG, Oberkochen, Deutschland) platziert werden. In Abb. 8 ist der prinzipielle Aufbau des Feldpotentialmessplatzes dargestellt.

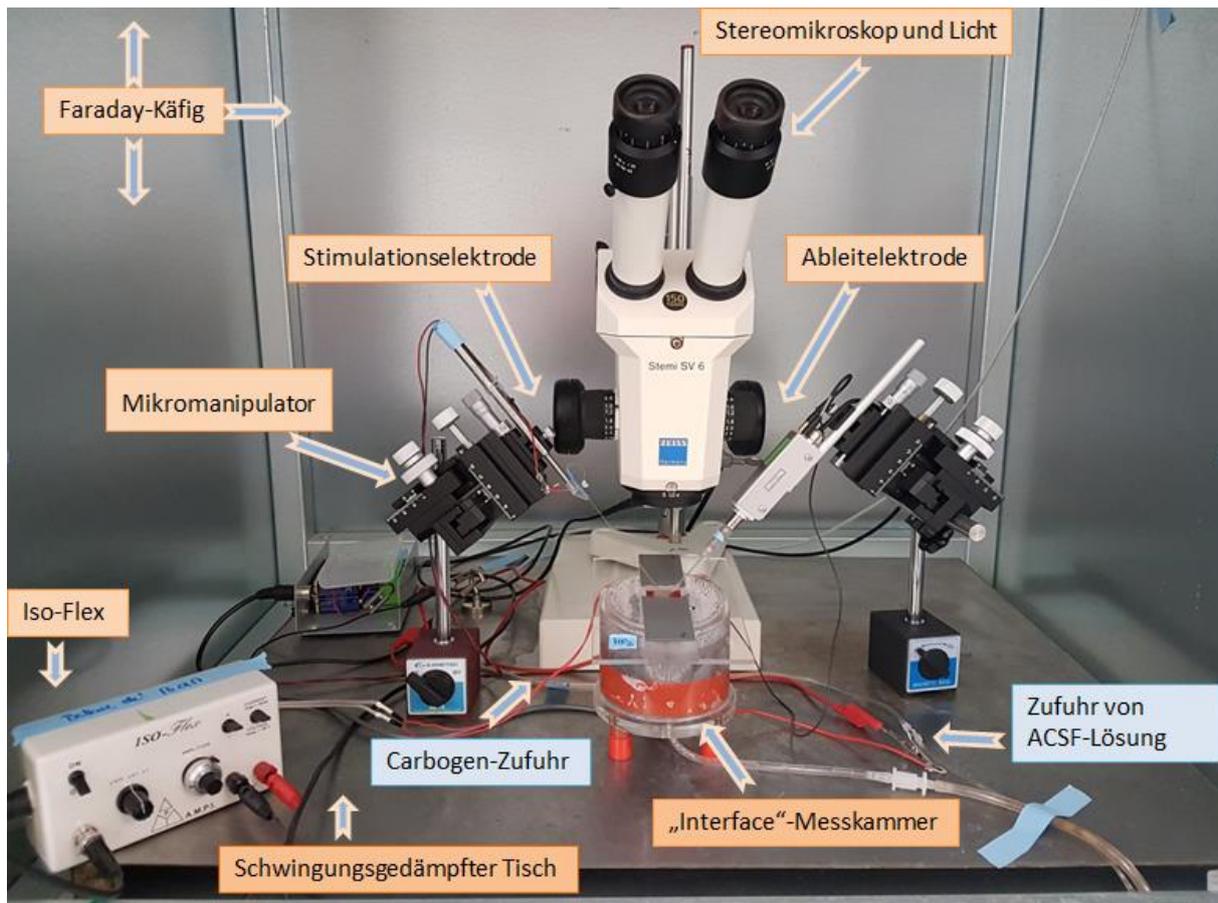


Abb. 8: Prinzipieller Aufbau des Messplatzes (aus Masterarbeit Klausch, 2017- persönliche Fotoaufnahme).

2.4. Verwendete Lösungen

- ACSF-Lösung:

NaCl	126 mM
NaHCO ₃	25 mM
NaH ₂ PO ₄	0,8 mM
KCl	2,5 mM

wurde in einer 10- fach konzentrierten Stammlösung mit A.dest. angesetzt und bei 4°C gelagert.

An jedem Versuchstag wurden zur einfach konzentrierten ACSF-Lösung 10 mM Glukose zugegeben. Die Lösung wurde mit Carbogenbegasung äquilibriert und anschließend mit MgCl₂ und CaCl₂ versetzt:

- für Präparation und Anfertigung der Gehirnschnitte:

MgCl ₂	6 mM
CaCl ₂	1 mM

- für extrazelluläre Feldpotentialmessungen: MgCl₂ 1 mM
CaCl₂ 2 mM.
- Ascorbinsäure (Vit. C; L-Ascorbinsäure, Sigma-Aldrich): 40 µM - wurde in einer 40mM- Stammlösung in A. dest. angesetzt und bei 4°C gelagert.
- Dopamin (DA; Dopamin-Hydrochlorid, Sigma-Aldrich): 20 µM – als Radikalfänger wurde Vit. C (40 µM) benutzt, in einer 1000- fach konzentrierten Stammlösung in A. dest. angesetzt und bei 4°C lichtgeschützt gelagert.
- Noradrenalin (Norepinephrin, NE; L-Norepinephrin-Hydrochlorid, Sigma-Aldrich): 20 µM – als Radikalfänger wurde Vit. C (40 µM) benutzt, in einer 1000- fach konzentrierten Stammlösung in A. dest. angesetzt und bei 4°C lichtgeschützt gelagert.
- Dihydropyridin (DHP; Dihydropyridin-Hydrochlorid, Tocris) - D1/D5-Rezeptor Agonist: 10 µM - wurde in einer 1000- fach konzentrierten Stammlösung in A. dest. angesetzt und bei -20°C gelagert.
- Isoproterenol (ISO; Isoproterenol-Hydrochlorid, Santa Cruz Biotechnology): β-Rezeptor-Agonist 1µM - als Radikalfänger wurde Vit. C (40 µM) benutzt, in einer 1000- fach konzentrierten Stammlösung in A. dest. angesetzt und bei 4°C lichtgeschützt gelagert.

2.5. Extrazelluläre Feldpotentialmessungen

Es wurden extrazelluläre Feldpotentialmessungen im Stratum radiatum zur Registrierung synaptischer Aktivität im dendritischen Bereich der CA1-Pyramidenzellen durchgeführt. Mit der Stimulationselektrode wurden die präsynaptischen Schaffer-Collateral (SC)-Axone der CA3-Pyramidenzellen gereizt, um die synaptische Übertragung an den SC-CA1-Synapsen zu untersuchen. Bei den registrierten Potentialänderungen handelt es sich um summierte exzitatorische postsynaptische Potentiale (engl. *field EPSP*, fEPSP) einer Gruppe der zur Ableitelektrode benachbarten CA1-Pyramidenzellen. Zur Stimulation der SC wurde eine konzentrische bipolare Stimulationselektrode (FHC, Bowdoin, USA) verwendet. Die Messung der Feldpotentiale erfolgte mithilfe einer fein ausgezogenen, mit ACSF befüllten Glaselektrode (~ 3-4 MΩ; Glaskapillare aus Borosilikat: Typ 30-0066 Harvard Apparatus, Massachusetts, USA), die mit einem vertikalen Pipettenziehgerät (Model List-Medical L/M-3P-A) angefertigt wurde.

Diese Ableitelektrode erfasste extrazelluläre Feldpotentialänderungen, deren Amplituden und Anstiegssteilheit (engl. *slopes*) als Maß für die Effizienz der synaptischen Übertragung an SC-CA1-Synapsen ausgewertet wurde.

In Abb. 9 ist die Elektrodenplatzierung exemplarisch für Ableitungen im ventralen bzw. intermediären Hippocampus dargestellt.

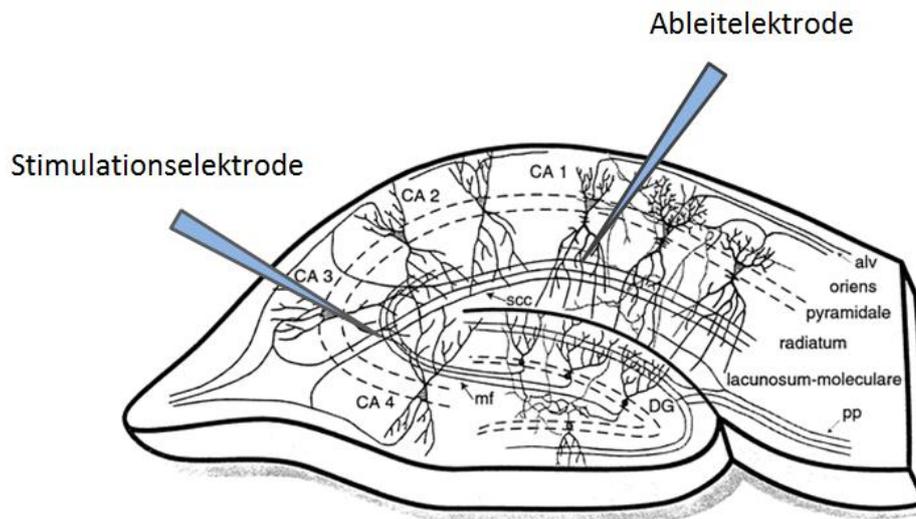


Abb. 9: Platzierung der Stimulations- und Ableitelektrode an der SC-CA1-Synapse (aus Masterarbeit Klausch, 2017- modifiziert nach Nishikawa & MacIver, 2000).

Mithilfe eines EXT-02F/1-Verstärkers (npi, Tamm, Deutschland) und eines CED 1401-Interfaces wurden alle abgeleiteten Signale aufgezeichnet und mit 10 kHz digitalisiert. Die Analyse der Feldpotentialamplituden und -Slopes erfolgte mithilfe des Programmes IntraCell 1.5 (LIN Magdeburg, Deutschland).

Zu Beginn eines jeden Experiments wurde zur Ermittlung einer adäquaten synaptischen Reizung der SC-CA1-Synapsen eine Reiz-Reaktions-Kurve (engl. *input-/output curve*, IO-Kurve) aufgenommen (Stimulationsstärke 20 μA bis zum Erreichen des Amplitudenmaximalwertes, maximal jedoch 600 μA ; Schrittweite 20 bzw. 50 μA). Aus der IO-Kurve erfolgte die Ermittlung derjenigen Stimulationsstärke, die ca. 30-50 % der maximalen synaptischen Feldpotentialamplitude der CA1-Neurone hervorrief. Diese wurde im gesamten weiteren Versuchsverlauf unverändert zur Stimulation der SC verwendet.

Zur Testung von Kurzzeitplastizitätsphänomenen erfolgte die Paarpuls-Stimulation: dabei wurden Interstimulusintervalle (ISIs) von 20, 50, 100 und 200 ms verwendet und dies dreimal bei einer Frequenz von 0,05 Hz wiederholt.

Im Anschluss daran wurde die Untersuchung der LTP mit grundsätzlich folgender Messprozedur vorgenommen: zunächst erfolgte eine 10- minütige Baseline-Messung bei einer Frequenz von 0,05 Hz, bevor dann ein LTP- induzierender Stimulus angewendet wurde. Dabei wurden folgende verschiedene LTP-induzierende Stimuli einer Dauer von 1 s verwendet:

- 100 Hz (3x, Inter-Tetanus-Intervall 30 s) bzw.

-100 Hz (1x)

- 25 Hz (1x).

Nach der Applikation des LTP-induzierenden Stimulus erfolgte dann die fEPSP-Ableitung für weitere 60 bzw. 120 min bei 0,05 Hz.

Zur Untersuchung des neuromodulatorischen Einflusses von Dopamin (DA) in **kontinuierlicher Anwesenheit** wurde der gesamten ACSF-Lösung DA (20 μ M, sowie 40 μ M Vit. C als Radikalfänger) hinzugefügt.

Bei der **Anwesenheit** von Dopamin und Noradrenalin (NE) **zu verschiedenen Zeitpunkten** (engl. *priming time*, PT) erfolgte die Zugabe von DA (20 μ M) bzw. NE (20 μ M) sowie 40 μ M Vit. C zur ACSF-Lösung. Die Inkubationsdauer der jeweiligen Substanz/en betrug 10 min.

- Für die Analyse der **proaktiven** neuromodulatorischen Wirkung (**Vorzeichen -**) erfolgte nach 10-minütiger Baseline-Messung die Inkubation der jeweiligen Substanz. Nach weiteren 45 min (PT: -45 min) bzw. 10 min (PT: -10 min) wurde der LTP-induzierende Stimulus angewendet und die fEPSP-Messung für weitere 60 bzw. 120 min fortgesetzt.
- Zur Untersuchung der **aktiven** (d.h. zeitgleich mit dem LTP-induzierenden Stimulus, PT: 0 min) neuromodulatorischen Wirkung erfolgte die zunächst 10-minütige Baseline-Messung, anschließend die zeitgleich mit dem LTP-induzierenden Stimulus ablaufende Inkubation (PT: 0 min) und weitere fEPSP-Ableitung für 60 min.
- Für die Analyse der **retroaktiven** neuromodulatorischen Wirkung (**Vorzeichen +**) erfolgte entsprechend der o.g. grundsätzlichen Messprozedur, wobei die Inkubation der Substanz/en 10 min (PT: +10 min) bzw. 45 min (PT: +45 min) nach dem LTP-induzierenden Stimulus durchgeführt wurde und die fEPSP-Messung für weitere 120 min vorgenommen wurde.

Die synaptische Ermüdung (engl. *synaptic fatigue*), d.h. der jeweilig angewandte LTP-induzierende Stimulus wurde zur Analyse, ob und wie die Synapse fähig ist, dem LTP-induzierenden Stimulus zu folgen, untersucht.

Abschließend wurde eine nochmalige Paarpuls-Stimulation bei einem ISI von 50 ms durchgeführt, um eine Aussage über prä- und postsynaptische LTP-Expressionsloci zu erhalten.

In Abb. 10 ist das experimentelle Design exemplarisch zusammenfassend dargestellt.

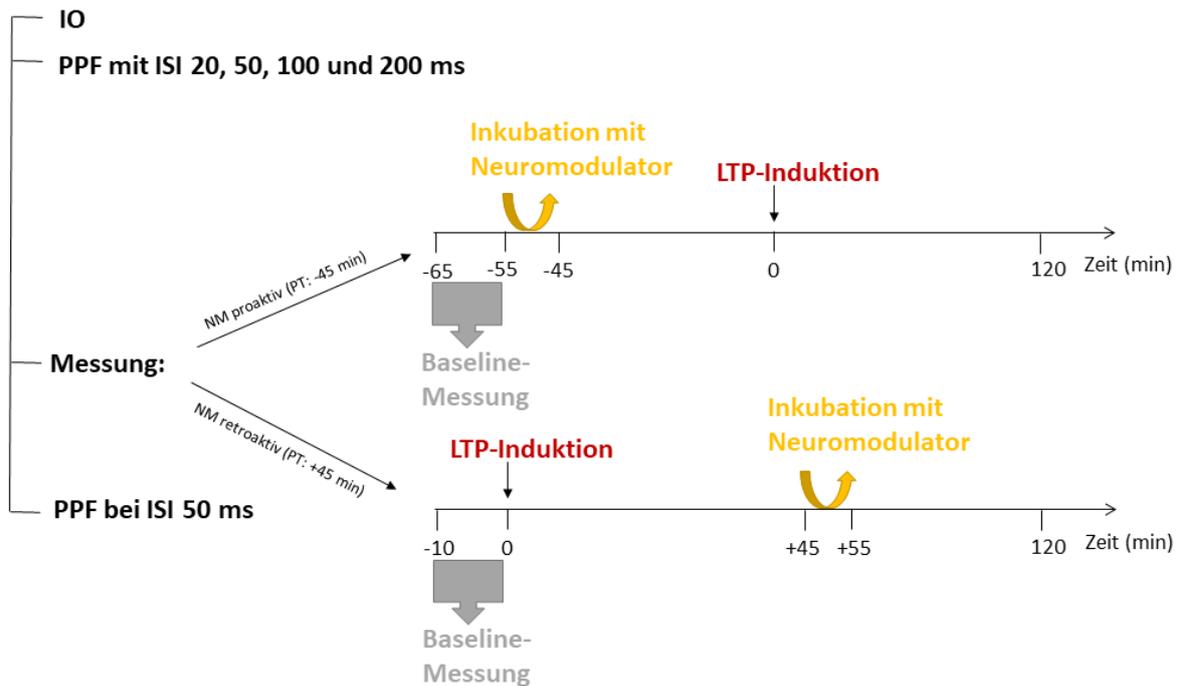


Abb. 10: Darstellung des experimentellen Designs am Beispiel der Neuromodulator (NM)- Inkubation bei einem PT 45 min vor (PT: -45 min; proaktiv) und einem PT 45 min nach (PT: +45 min; retroaktiv) dem LTP-induzierenden Stimulus.

2.6. BDNF-ELISA

Unmittelbar nach Abschluss der extrazellulären Feldpotentialmessungen in den akuten dorsalen Hirnschnitten wurden die Hippocampi der in der Kammer befindlichen Hirnschnitte in einer Petrischale, gefüllt mit ca. 10 ml ACSF-Lösung, mittels Skalpell und Pinzette herauspräpariert und für die folgenden BDNF-Quantifizierung in zuvor abgewogenen Eppendorf-Gefäßen (Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland) gesammelt, nach Ermittlung der Gewebsgewichte in flüssigem Stickstoff (N₂) einzeln schockgefroren und anschließend bei -80 °C bis zur weiteren

Aufarbeitung aufbewahrt. Die Hippocampi derjenigen Hirnschnitte, an denen keine Feldpotentialmessungen stattfand, wurden zusammen in die Eppendorf-Gefäße überführt.

2.6.1. Probenaufarbeitung/ -lyisierung

Zunächst wurden die Hippocampi im Eppendorf-Gefäß entsprechend ihres Gewichtes mit 200 µl auf Eis gelagertem Lysispuffer (Zusammensetzung siehe unten) pro mg Gewebe mittels einer 1 ml- Feindosierungsspritze (Omnifix-F Luer Solo, B. Braun SE, Melsungen, Deutschland) und einer Einmal-Injektionskanüle (26 G; Sterican, B. Braun SE, Melsungen, Deutschland) homogenisiert und bis zur weiteren Verwendung bei -80 °C aufbewahrt.

- Lysispuffer: NaCl (Carl Roth) 1 M » 6850 µl
- Tris-HCl (Biomol) 0,5 M » 2000 µl
- NP40 (unverdünnt; Fluka) » 500 µl
- 80 % Glycerol (GE Healthcare) » 6250 µl
- A.dest » auf 50 ml auffüllen
- PMSF (**P**henyl**m**ethylsulfonyl**f**luorid) (Sigma-Aldrich) 200 mM » 250 µl
- Aprotinin (Roche) 2 mg/ ml » 250 µl
- Leupeptin (Roche) 1 mg/ ml » 50 µl

2.6.2. BDNF-ELISA

Zur Quantifizierung des BDNF-Gehaltes in den Hippocampi wurde ein BDNF- ELISA (engl. *enzyme-linked immunosorbent assay*) gemäß Herstellerangaben verwendet (Human Free BDNF Quantikine ELISA Kits, R&D Systems - Bio-Techne, Minneapolis, USA):

Es wurde die mit einem monoklonalen Antikörper, der spezifisch für humanes freies BDNF ist, vorbeschichtete mitgelieferte 96-Wellplatte genutzt. Nachdem Standardlösungen und 1:2 verdünnte Proben in die Wells pipettiert wurden (doppelte Auftragung), erfolgte die Bindung von eventuell vorhandenem freien BDNF an den immobilisierten Antikörper auf der Platte. Ein weiterer monoklonaler Antikörper, spezifisch für humanes freies BDNF und mit Meerrettichperoxidase gekoppelt, wurde zur Reaktion mit den plattengebundenen

Probenanalyten hinzugefügt (Konjugat). Nachdem nach Inkubation ungebundenes Konjugat durch mehrere Waschvorgänge entfernt wurde, erfolgte die Zugabe der Substratlösung (Wasserstoffperoxid mit Chromogen Tetramethylbenzidin). Infolge der Reaktion des Chromogens mit dem Konjugatenzymteil zeigte sich ein Farbumschlag von blau zu gelb. Die hinzugefügte Stopplösung aus Schwefelsäure stoppte die Farbentwicklung, so dass abschließend innerhalb der nächsten 30 min die optische Dichte der Lösung mithilfe eines Plattenlesegerätes (Infinite 200, Tecan) bei einer Wellenlänge von 450 nm gemessen wurde.

2.6.3. Proteinbestimmung

Die Proteinquantifizierung der vorliegenden Hippocampi wurde mithilfe des „Pierce BCA Protein Assay Kits“ (Thermo Scientific) durchgeführt:

Zunächst wurde das Arbeitsreagenz (Carbonatpuffer mit enthaltenem BCA- (Bicinchoninsäure; engl. *bicinchoninic acid*) Reagenz sowie Kupfersulfatlösung im Verhältnis 50:1) hergestellt, welches eine klare grüne Farbe hervorrief. Als Standard diente BSA (Rinderserumalbumin; engl. *bovine serum albumin*). Nach doppelter Auftragung der Standards und Proben in die mitgelieferte 96-Wellplatte unter Hinzugabe des Arbeitsreagenz erfolgte eine 30-minütige Inkubation bei 37 °C im Inkubator (Heraeus). Es wurde ein Farbumschlag von grün zu lila beobachtet. Anschließend wurde die Wellplatte auf Raumtemperatur abgekühlt und die Absorption bei einer Wellenlänge von 562 nm mithilfe eines auf 27 °C vorgeheizten Plattenlesegeräts (Infinite F200, Tecan) bestimmt.

2.7. Datenerfassung und -analyse

2.7.1. Datenerhebung

Es wurden die Werte der Feldpotentialamplituden (maximale negative Auslenkung) und der Slope mithilfe des Programmes Intracell 1.5 (LIN Magdeburg, Deutschland) ermittelt.

Die Paarpuls-Stimulation mit den verschiedenen ISI wurde zur Berechnung des Paarpuls-Verhältnisses (engl. *paired-pulse ratio*, PPR) herangezogen: die fEPSP-Slopewerte der ersten und zweiten synaptischen Antwort auf beide Pulse wurden auf den mittleren Slopewert der ersten Antwort normiert und dieser als 100 % definiert. Das PPR wurde durch die Reaktionsstärke der zweiten synaptischen Antwort in Bezug auf die erste berechnet.

Zur Ermittlung der synaptischen Übertragungsstärke wurden fEPSP-Slopede auf den Mittelwert der 10-minütigen Baseline-Aufzeichnung, welcher als 100 % gesetzt wurde, normiert. Die **LTP** wurde folgend -unabhängig vom individuellen Kurvenverlauf- als normierte Änderung der mittleren fEPSP-Slope (in %) während der **letzten 10 min der Messung** (50-60 min bzw. 110-120 min nach der LTP-Induktion) **relativ zur Baseline** definiert. Es führten ausschließlich Ableitungen mit stabiler 10-minütiger Baseline zum Einschluss der gewonnenen Datenreihen in allen Abschnitten der Datenanalyse.

Die synaptische Ermüdung wurde durch Bestimmung der fEPSP-Slopede der aufeinanderfolgenden synaptischen Antworten durch die tetanische Reizung bestimmt. Alle synaptischen Antworten des LTP-induzierenden Stimulus wurden analysiert, wobei die erste Antwort normiert und als 1 definiert wurde. Zur Auswertung wurden bei Verwendung der 100 Hz- Protokolle die 2. (C2), 10. (C10), 50. (C50) und 100. Antwort (C100) (bei 3x100 Hz: Mittelwerte aller drei Tetani), bei Verwendung des 1x25 Hz- Protokolls die 2. (C2), 10. (C10) und 25. Antwort (C25) herangezogen.

Abschließend wurde das PPR mit einem ISI von 50 ms erneut ermittelt. In dieser Auswertung fanden ausschließlich diejenigen Daten einer Ableitung Berücksichtigung, bei der Änderungen der PPR von fEPSP-Amplitude und -Slope einen ähnlichen Verlauf aufwiesen.

Im Rahmen des durchgeführten BDNF-ELISA wurde nach Abschluss der elektrophysiologischen Experimente der BDNF-Gehalt sowohl derjenigen Hippocampi bestimmt, an denen elektrophysiologische Messungen durchgeführt wurden (_Stimulation) als auch an denen, die sich ohne jegliche Stimulation über den gesamten Versuchszeitraum in der Kammer befanden (_passiv). Es erfolgte die Analyse der optischen Dichte der Lösung mithilfe der Software Magellan (Tecan Trading AG, Schweiz) unter Leerwertreduktion. Durch die doppelte Probenauftragung wurde zunächst der Mittelwert beider Messwerte errechnet und als Einschlusskriterium die Standardabweichung ermittelt, die 10 % des Mittelwertes nicht überschreiten soll, gewählt.

2.7.2. Datenanalyse und statistische Auswertung

Alle elektrophysiologischen Daten wurden aus der Intracell-Software exportiert, mithilfe von Microsoft Office Excel 2010 (Microsoft Corporation, Redmond, USA) und OriginPro 2020 (OriginLab Corporation, Northampton, USA) ausgewertet und grafisch dargestellt.

Die Datendarstellung im Ergebnisteil erfolgte als Mittelwert (MW) \pm Standardfehler des MW (engl. *standard error of mean*, SEM).

Die Angabe der Anzahl der analysierten akuten Hirnschnitte und der Tiere erfolgt für jede experimentelle Gruppe individuell und wird in folgender Schreibweise im Ergebnisteil dargestellt: Gruppe (n = x (Anzahl der Hirnschnitte)/ y (Anzahl der Tiere)).

Die statistische Auswertung wurde mittels der Software OriginPro 2020 und GraphPad Prism 6 (GraphPad Software, San Diego, Kalifornien) vorgenommen. Zunächst die einmalige Überprüfung der gruppeninternen gewonnenen LTP-Daten auf Ausreißer (engl. *Outlier*) unter Verwendung des Grubbs' Test. Anschließend wurden alle Daten durch Nutzung des Shapiro-Wilk-Test auf Normalverteilung überprüft. Die Analyse der Unterschiede zwischen den Gruppen erfolgte mithilfe des Zweistichproben-t-Test (unter Berücksichtigung möglicherweise vorliegender Varianzheterogenität mithilfe der Welch-Korrektur) bzw. des Mann-Whitney-U- und Wilcoxon-Test als nichtparametrische Alternative zum (gepaarten) t-Test. Mithilfe des Einstichproben-t-Tests (engl. *one sample t-Test*) wurde die getestet, ob sich die LTP signifikant von der Baseline (100 %) unterschied.

Die Gruppenunterschiede multipler parametrischer Daten des BDNF-ELISA wurden mithilfe der einfaktoriellen Varianzanalyse (engl. *one-way Anova*) mit zusätzlich durchgeführten *Post-hoc* Tukey-Test analysiert.

Die Signifikanzniveaus wurden auf $p \leq 0,05$ (*), $p \leq 0,01$ (**) bzw. $p \leq 0,001$ (***) festgelegt.

Die Regressionsanalyse wurde mithilfe der Software OriginPro 2020 durchgeführt. Dabei wurden folgende Zusammenhangsstärken des Korrelationskoeffizienten „r“ definiert:

$0,0 \leq r < 0,1$	kein Zusammenhang
$0,1 \leq r < 0,3$	schwacher Zusammenhang
$0,3 \leq r < 0,5$	mittlerer Zusammenhang
$0,5 \leq r < 0,7$	hoher Zusammenhang
$0,7 \leq r \leq 1,0$	sehr hoher Zusammenhang

Für das Abbildungslayout wurde die Grafikdesign-Software CorelDRAW Graphic Suite X6 (Corel Corporation, Ontario, Kanada) verwendet.

3. Ergebnisse

3.1. Ventral-intermediärer Hippocampus (VIH)

3.1.1. Die Anwendung eines 1x100 Hz-Tetanus als LTP-induzierenden Stimulus führt im Vergleich zu einem 3x100 Hz-Tetanus zu einer verminderten LTP an SC-CA1-Synapsen

Zunächst erfolgte die Etablierung eines hochfrequenten LTP-induzierenden Stimulus, der optimalerweise keine oder nur eine schwache, nicht saturierende e-LTP im ventral-intermediären Hippocampus (VIH) erzeugt. Dazu wurden folgende LTP-Induktionsprotokolle getestet:

- Frequenz: 100 Hz, Dauer: 1 s, Wiederholung 1x (im Folgenden als 1x100 Hz bezeichnet)
- Frequenz: 100 Hz, Dauer: 1 s, Wiederholung 3x (Inter-Tetanus-Intervall 30 s) (im Folgenden als 3x100 Hz bezeichnet).

Beide angewandten Stimuli riefen eine LTP hervor, die sich signifikant von der Baseline (100%) unterschied (Abb. 11 a und b; *3x100 Hz*: $n=11/7$, LTP $227,09 \pm 30,4\%$, Einstichproben t-Test $t_{(10)}=4,180$, $p=0,0019$; *1x100 Hz*: $n=6/5$, LTP $128,23 \pm 10,0\%$; Einstichproben t-Test $t_{(5)}=2,818$, $p=0,0372$). Beide LTP-Induktionsprotokolle unterschieden sich signifikant voneinander (Zweistichproben-t-Test $t_{(12,01)}=3,088$, $p=0,0094$). Für alle weiterfolgenden Experimente wurde der 1x100 Hz-Stimulus als LTP-Induktion verwendet.

Hinsichtlich der synaptischen Ermüdung der SC-CA1-Synapsen wurde die Analyse beider LTP-induzierenden Stimuli vorgenommen. Es zeigte sich bei Verwendung des 1x100 Hz-Stimulus eine signifikant erhöhte fEPSP-Antwort auf den zweiten Puls im Vergleich zum 3x100 Hz-Stimulus (Mann-Whitney-U-Test, $U=8$, $p=0,0103$), alle anderen fEPSP-Antworten auf die untersuchten Pulse unterschieden sich nicht signifikant (Abb. 11 c; $p>0,05$) für Messwerte und Statistik siehe Anlage).

In Abb. 11 d ist das Paarpulsverhältnis (engl. *paired pulse ratio*, PPR) bei einem Interstimulusintervall (ISI) von 50 ms vor und nach der LTP dargestellt. Das PPR vor und nach der LTP unterschied sich unter Verwendung des 3x100 Hz-Stimulus signifikant, jedoch nicht unter 1x100 Hz (*vor LTP*: $1,49 \pm 0,1$ - *nach LTP 3x100 Hz* ($n=10/7$): $2,62 \pm 0,2$, Wilcoxon-Test $W=55$, $p=0,002$; - *nach LTP 1x100 Hz* ($n=5/5$): $2,63 \pm 0,4$, Wilcoxon-Test $W=15$, $p=0,0625$).

Die zu diesem Experiment gehörende Reiz-Reaktionskurve und das Paarpulsverhältnis (PPR; ISIs: 20, 50, 100 und 200 ms) sind in der Anlage, in Abb. A 1 zusammengefasst dargestellt.

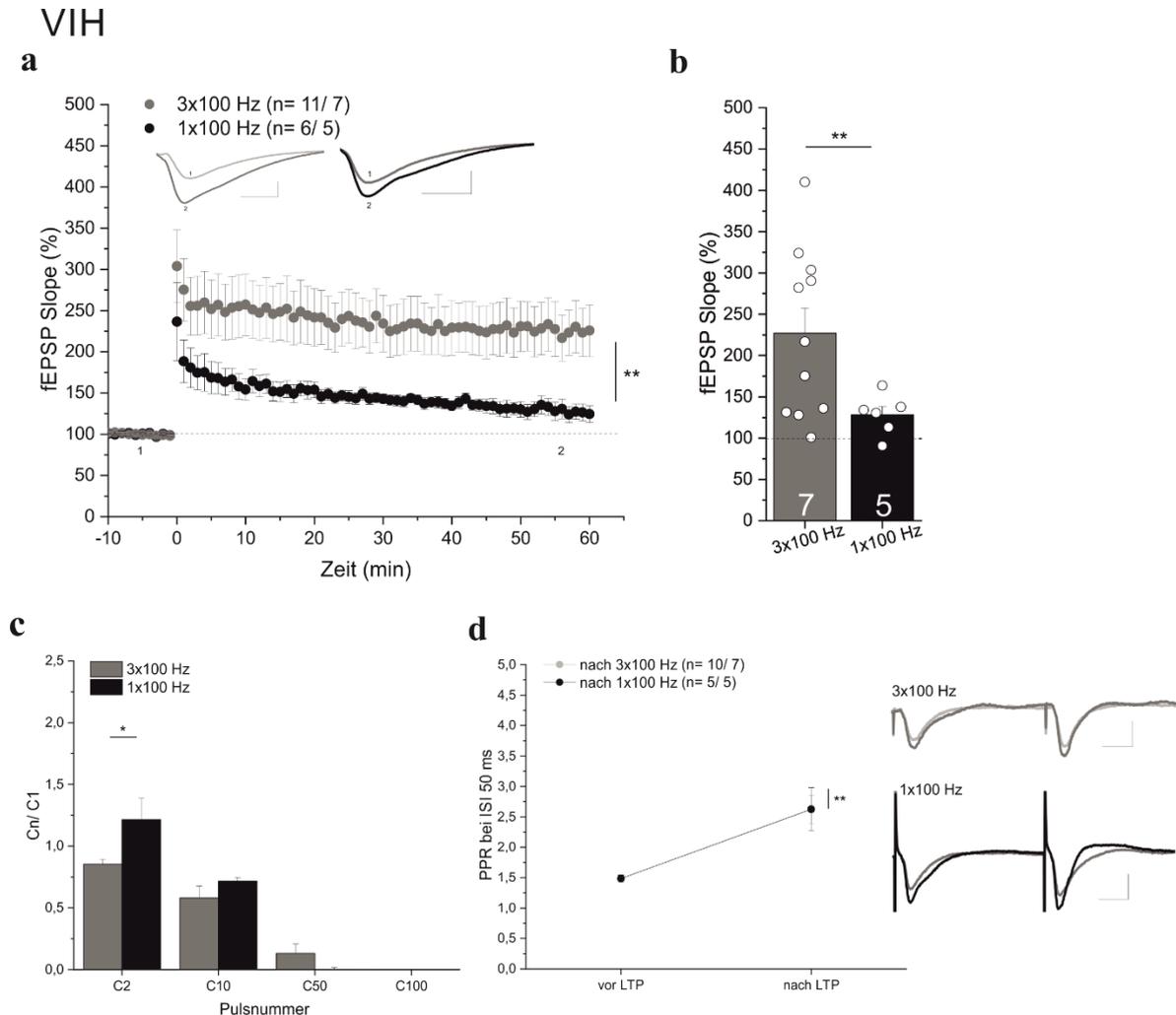


Abb. 11: Signifikant reduzierte LTP an SC-CA1-Synapsen im VIH nach Stimulation mit 1x100 Hz im Vergleich zu einer Stimulation mit 3x100 Hz.

(a) Zeitlicher Verlauf der LTP-Messung unter Verwendung eines 3x100 Hz- (grau; n= 11/ 7) bzw. 1x100 Hz- (schwarz; n= 6/ 5) Protokolls. Exemplarische Darstellung von repräsentativen originalen Feldpotentialspuren der 10-minütigen Baseline-Messung (1) sowie die der letzten 10 min der gesamten Messung (2); **links:** 3x100 Hz, **rechts:** 1x100 Hz; Maßstabsbalken: 1 mV/ 5 ms.

(b) Balkenstreudiagramm der erreichten Potenzierung während der letzten 10 min der Messung. Zwischen beiden Gruppen konnte ein signifikanter Unterschied in der LTP gezeigt werden ($p \leq 0,01$ (**)).

(c) Die Balkendiagramme stellen das mittlere Verhältnis (auf den ersten Puls normiert) der fEPSP-Antworten auf den LTP-induzierenden Stimulus 3x100 Hz (grau) bzw. 1x100 Hz (schwarz) der verschiedenen Pulsnummern (2, 10, 50 und 100) dar. Beim zweiten Puls zeigte sich bei dem 3x100 Hz-Stimulus eine signifikant reduzierte fEPSP-Antwort im Vergleich zum 1x100 Hz-Stimulus ($p \leq 0,05$ (*)). In allen anderen Pulsnummern unterschieden sich die fEPSP-Antworten beider Gruppen nicht signifikant ($p > 0,05$).

(d) Darstellung des PPR bei ISI 50 ms vor und nach der LTP bei einer Stimulation mit 3x100 Hz (grau;

n= 10/ 7) und bei einer Stimulation mit 1x100 Hz (schwarz; n= 5/ 5). Nach 3x100 Hz konnte im PPR vor und nach der LTP ein signifikanter Unterschied, jedoch nicht nach 1x100 Hz gezeigt werden ($p \leq 0,01$ (**)). In der Teilabbildung rechts sind exemplarisch repräsentative originale Feldpotentialspuren nach Paarpulsstimulation mit einem ISI von 50 ms vor (hellgrau) und nach der LTP (3x100 Hz: grau, 1x100 Hz: schwarz) dargestellt; **oben:** 3x100 Hz, **unten:** 1x100 Hz; Maßstabsbalken: 1 mV/ 10 ms.

3.1.2. Neuromodulatorische Wirkung von Dopamin auf die LTP

Mit diesen Experimenten sollte der neuromodulatorische Effekt des exogen hinzugeführten Dopamins auf die e-LTP untersucht werden. Hierzu wurde der 1x100 Hz-Stimulus, der eine schwache, nicht saturierte e-LTP bedingt, genutzt, um die (zeitabhängigen) Effekte des Dopamins zu untersuchen.

3.1.2.1. Die kontinuierliche Anwesenheit von Dopamin (DA) führt zu einer verstärkten LTP

In diesem Experiment wurde der dauerhafte Einfluss des DA auf die e-LTP untersucht. Dazu wurde der gesamten ACSF-Lösung **DA (20 μ M**, mit 40 μ M Vit. C als Radikalfänger) hinzugefügt, wodurch eine dauerhafte und **kontinuierliche Anwesenheit** der Substanz während der gesamten Versuchsdauer garantiert wurde.

- Der Zusatz von Vit. C allein hatte keinen Einfluss auf den Verlauf und die Stärke der e-LTP, weshalb alle Messungen der Kontrollgruppe unter kontinuierlicher Anwesenheit von Vit. C (40 μ M) durchgeführt wurden (die Experimente zur Untersuchung des Einflusses von Vit. C auf die Kurz- und Langzeitplastizität sind in der Anlage Abb. A 2 zusammenfassend dargestellt). -

Es konnte eine im Vergleich zur Kontrollgruppe verstärkte Wirkung des dauerhaft anwesenden DA auf die e-LTP gezeigt werden (*Kontrolle:* n= 14/ 8, LTP $142,29 \pm 14,4$ %; *DA:* n= 11/ 5, LTP $201,33 \pm 21,0$ %). Beide Gruppen unterschieden sich signifikant voneinander (Abb. 12 a und b; Zweistichproben-t-Test $t_{(18,44)} = 2,317$, $p = 0,0321$).

Die Analyse der synaptischen Ermüdung der SC-CA1-Synapsen in Antwort auf den 1x100 Hz-Stimulus ergab hinsichtlich des dauerhaft anwesenden Dopamins keine signifikanten Unterschiede in den fEPSP-Antworten ausgewählter Pulsnummern ($p > 0,05$) (Abb. 12 c; für Messwerte und Statistik siehe Anlage).

In Abb. 12 d ist das PPR bei einem ISI von 50 ms vor und nach der LTP dargestellt. Nur in der

Kontrollgruppe konnte eine signifikante Änderung im PPR vor und nach der LTP gezeigt werden (*Kontrolle* (n= 14/ 8) - vor LTP// nach LTP: $1,75 \pm 0,2$ // $3,07 \pm 0,4$, Wilcoxon-Test $W=105$, $p=0,0001$; *DA* (n= 10/ 5) - vor LTP// nach LTP: $1,66 \pm 0,1$ // $2,34 \pm 0,3$, Wilcoxon-Test $W=33$, $p=0,1055$).

Die Reiz-Reaktionskurven sowie das PPR (ISIs von 20, 50, 100 und 200 ms) unterschieden sich in den beiden Gruppen nicht ($p > 0,05$) und sind in der Anlage, in Abb. A 3 zusammengefasst dargestellt.

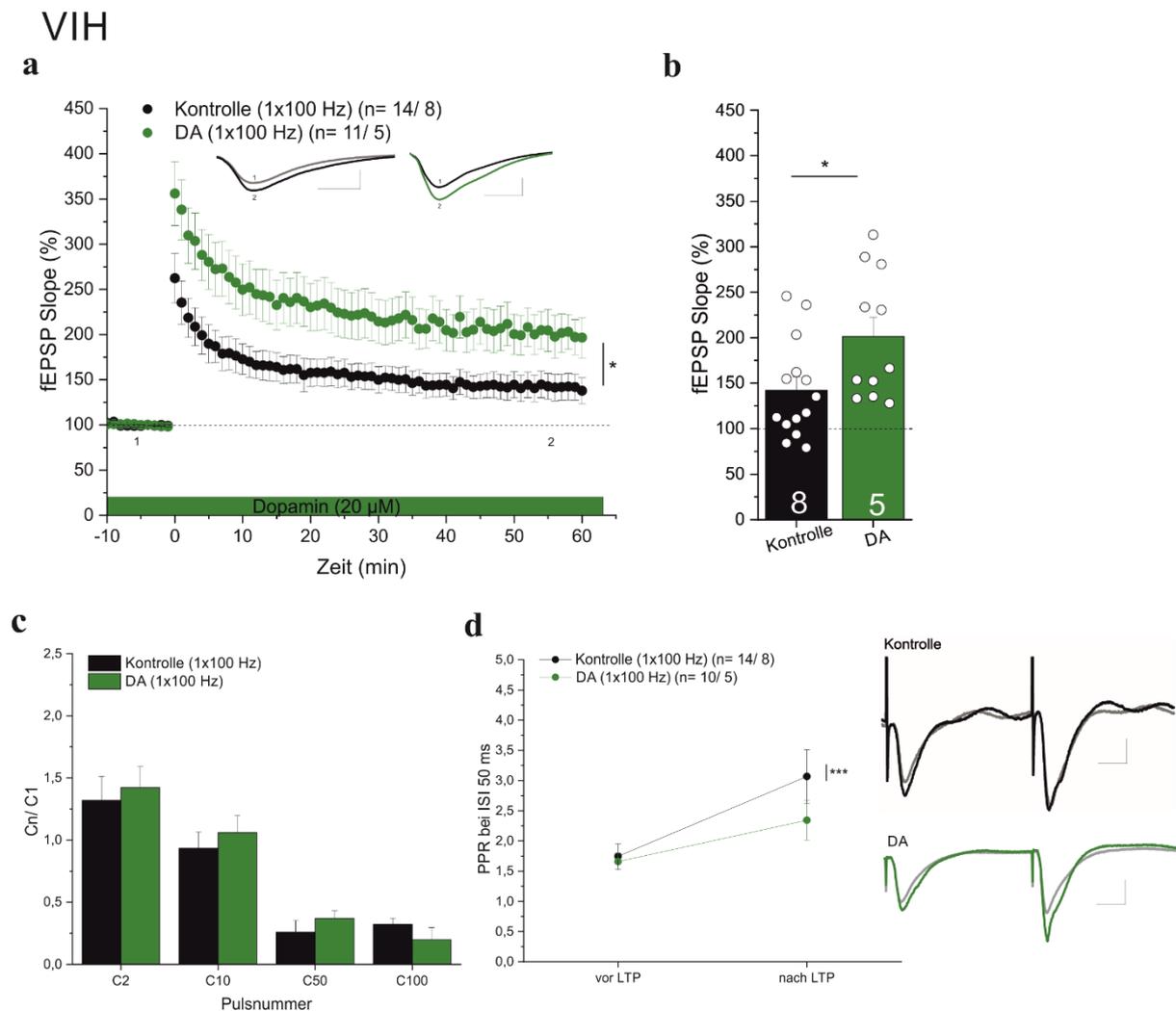


Abb. 12: Die mit dem 1x100 Hz- Stimulus ausgelöste schwach ausgeprägte LTP wird durch den dauerhaften Einfluss von DA im VIH signifikant vergrößert.

(a) Zeitlicher Verlauf der LTP-Messung der Kontrolle (ACSF ohne DA, schwarz; n= 14/ 8) im Vergleich zur kontinuierlichen Anwesenheit von Dopamin (DA, grün; n= 11/ 5). Exemplarische Darstellung von repräsentativen originalen Feldpotentialspuren der 10-minütigen Baseline-Messung (1) sowie die der letzten 10 min der gesamten Messung (2); **links:** Kontrolle, **rechts:** dauerhaftes DA; Maßstabsbalken: 1 mV/ 5 ms.

(b) Balkenstreudiagramm der erreichten Potenzierung während der letzten 10 min der Messung. Zwischen beiden Gruppen konnte ein signifikanter Unterschied in der LTP gezeigt werden ($p \leq 0,05$ (*)).

(c) Die dauerhafte Anwesenheit von DA zeigt im Vergleich zur Kontrolle keine veränderte synaptische Ermüdung der SC-CA1-Synapsen. Die Balkendiagramme stellen das mittlere Verhältnis (auf den ersten Puls normiert) der fEPSP-Antworten auf den LTP-induzierenden Stimulus 1x100 Hz mit und ohne DA der verschiedenen Pulsnummern (2, 10, 50 und 100) dar. Es konnten in keinen der Pulsnummern signifikante Unterschiede in den fEPSP-Antworten gezeigt werden ($p > 0,05$).

(d) Darstellung des PPR bei ISI 50 ms vor und nach der LTP der Kontrolle (schwarz; $n = 14/8$) und der bei kontinuierlicher Anwesenheit des DA (grün; $n = 10/5$). In der Kontrollgruppe konnte ein signifikanter Unterschied im PPR vor und nach der LTP ermittelt werden ($p \leq 0,001$ (***)). In der Teilabbildung rechts sind exemplarisch repräsentative originale Feldpotentialspuren nach Paarpulsstimulation mit einem ISI von 50 ms vor (grau) und nach der LTP (Kontrolle: schwarz, DA: grün) dargestellt; **oben**: Kontrolle, **unten**: DA; Maßstabsbalken: 1 mV/ 10 ms.

3.1.2.2. Anwesenheit des Dopamins zu verschiedenen Zeitpunkten

Aufgrund des positiven Effekts der dauerhaften, über den gesamten Versuchszeitraum kontinuierliche DA-Applikation wurde als nächstes getestet, ob eine Vergrößerung der e-LTP durch eine transiente, **10-minütige** DA-Inkubation möglich ist. Dazu erfolgte die DA-Inkubation (20 μM) zeitabhängig zum LTP-induzierenden 1x100 Hz- Stimulus zu verschiedenen Zeitpunkten (engl. *priming time*, PT):

- 45 min bzw. 10 min nach Abschluss der DA-Inkubation **vor** dem LTP-induzierenden Stimulus (Vorzeichen: -), d.h. **proaktive** Wirkung des DA

- **zeitgleich mit** dem LTP-induzierenden Stimulus, d.h. **aktive** Wirkung sowie

- 10 min bzw. 45 min **nach** dem LTP-induzierenden Stimulus (Vorzeichen: +), d.h. **retroaktive** Wirkung des DA.

Die zugehörigen Reiz-Reaktionskurven und Paarpuls-Verhältnisse finden sich zusammengefasst in der Anlage Abb. A 4.

3.1.2.2.1. Die Steigerung der LTP durch proaktive Applikation von Dopamin hängt vom Intervall zwischen Beginn der Dopamin-Applikation und der LTP-Auslösung ab

Bei Abschluss der 10-minütigen Inkubation mit **DA 45 min vor** dem LTP-induzierenden 1x100 Hz-Stimulus (Abb. 13 a und b) konnte eine signifikante Erhöhung der e-LTP nach 60 min im Vergleich zur Kontrollgruppe beobachtet werden (*Kontrolle*: $n = 14/8$, LTP $142,29 \pm 14,4\%$; *PT des DA: 45 min vor 1x100 Hz*: $n = 12/9$, LTP $191,12 \pm 19,4\%$; Mann-Whitney-U-Test $U = 42$, $p = 0,031$).

Die Analyse der synaptischen Ermüdung der SC-CA1-Synapsen in Antwort auf den 1x100 Hz-

Stimulus ergab in den ausgewählten Pulsnummern 2, 10, 50 und 100 keine signifikanten Unterschiede in den fEPSP-Antworten zwischen den beiden untersuchten Gruppen ($p > 0,05$) (Abb. 13 c; für Messwerte und Statistik siehe Anlage).

In Abb. 13 d ist das PPR bei einem ISI von 50 ms vor und nach der LTP dargestellt. Lediglich in der Kontrollgruppe zeigte sich eine signifikante Änderung im PPR vor und nach der LTP (vor LTP: 1,53 - nach LTP: *Kontrolle* ($n = 14/8$): $3,07 \pm 0,4$, Wilcoxon-Test $W = 105$, $p = 0,0001$; *PT des DA: 45 min vor 1x100 Hz* ($n = 10/5$): $2,74 \pm 0,4$, Wilcoxon-Test $W = 29$, $p = 0,0977$).

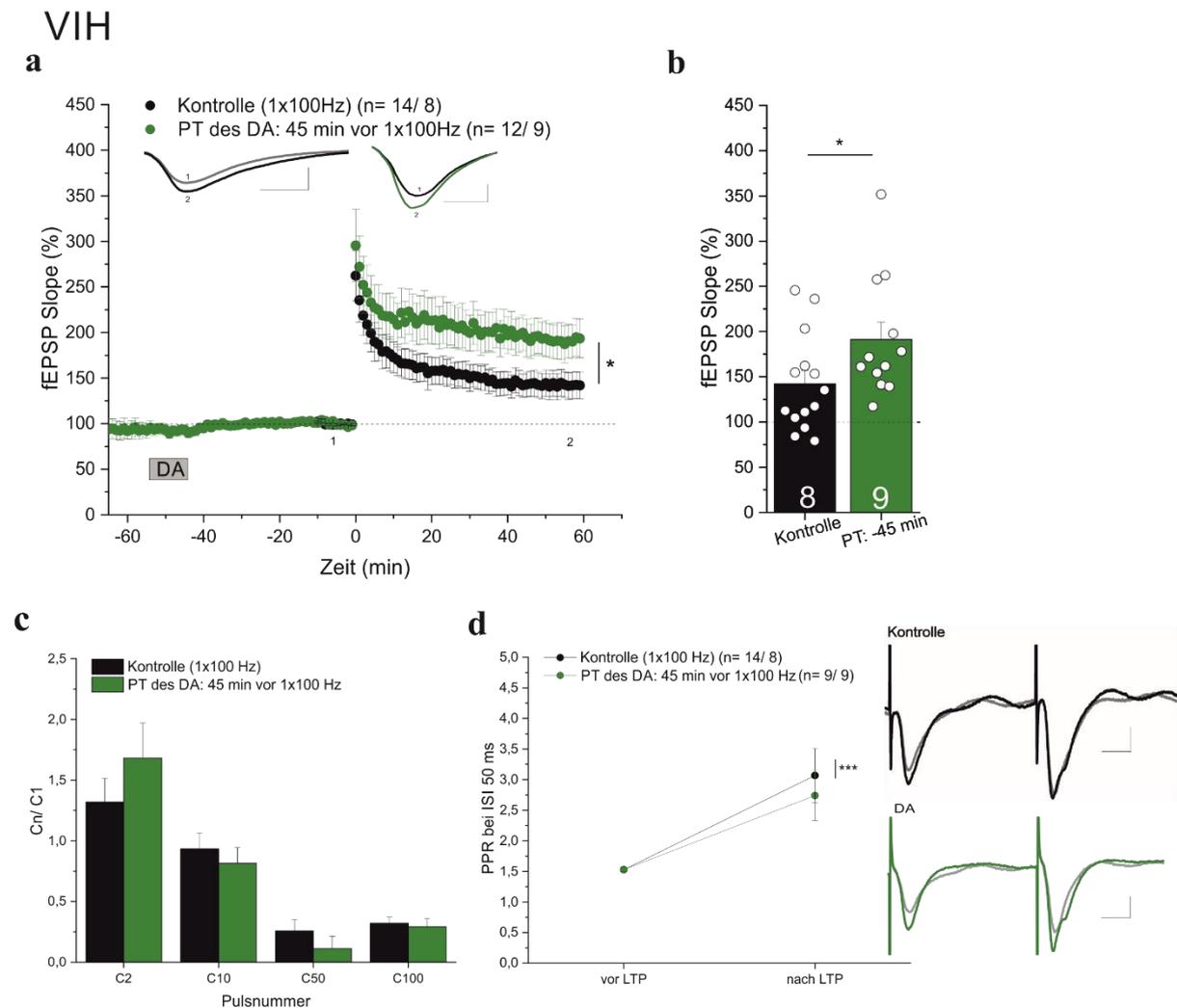


Abb. 13: LTP-verstärkender Effekt im VIH durch 10-minütige DA-Applikation 45 min vor der LTP-Induktion mit 1x100 Hz-Stimulus.

(a) Zeitlicher Verlauf der LTP-Messung der Kontrolle (schwarz; $n = 14/8$) und der einem PT des DA 45 min vor 1x100 Hz (grün; $n = 12/9$). Exemplarische Darstellung von repräsentativen originalen Feldpotentialspuren der letzten 10 min der Baseline-Messung (1) sowie die der letzten 10 min der gesamten Messung (2); **links:** Kontrolle, **rechts:** DA; Maßstabsbalken: 1 mV/ 5 ms.

(b) Balkenstreudiagramm der erreichten Potenzierung während der letzten 10 min der Messung. Zwischen beiden Gruppen konnte ein signifikanter Unterschied in der LTP gezeigt werden ($p \leq 0,05$ (*)).

(c) Die transiente, 10-minütige Anwesenheit von DA zeigte im Vergleich zur Kontrolle keine veränderte synaptische Ermüdung der SC-CA1-Synapsen. Die Balkendiagramme stellen das mittlere Verhältnis

(auf den ersten Puls normiert) der fEPSP-Antworten der verschiedenen Pulsnummern (2, 10, 50 und 100) dar. Es konnten in keinen der Pulsnummern signifikanten Unterschiede in den fEPSP-Antworten ermittelt werden ($p > 0,05$).

(d) Signifikante Änderungen im PPR bei ISI 50 ms vor und nach der LTP in der Kontrollgruppe. Darstellung des PPR bei ISI 50 ms vor und nach der LTP der Kontrolle (schwarz; $n = 14/8$) und der bei einem PT des DA 45 min vor 1x100 Hz (grün; $n = 9/9$). In der Kontrollgruppe konnte ein signifikanter Unterschied im PPR vor und nach der LTP gezeigt werden ($p \leq 0,001$ (***)). In der Teilabbildung rechts sind exemplarisch repräsentative originale Feldpotentialspuren nach Paarpulsstimulation mit einem ISI von 50 ms vor (grau) und nach der LTP (Kontrolle: schwarz, DA: grün) dargestellt; **oben:** Kontrolle, **unten:** DA; Maßstabsbalken: 1 mV/ 10 ms.

Wurde eine 10-minütige **DA**-Inkubation **10 min vor** dem LTP-induzierenden 1x100 Hz-Stimulus (Abb. 14 a und b) abgeschlossen, konnte keine signifikante Veränderung der e-LTP im Vergleich zur Kontrolle beobachtet werden (*Kontrolle:* $n = 14/8$, LTP $142,29 \pm 14,4$ %; *PT des DA: 10 min vor 1x100 Hz:* $n = 9/8$, LTP $143,03 \pm 19,0$ %; Zweistichproben-t-Test $t_{(16,46)} = 0,031$, $p = 0,9756$).

Die Analyse der synaptischen Ermüdung der SC-CA1-Synapsen in Antwort auf den 1x100 Hz-Stimulus ergab in den ausgewählten Pulsnummern 2, 10, 50 und 100 keine signifikanten Unterschiede in den fEPSP-Antworten beider untersuchter Gruppen ($p > 0,05$) (Abb. 14 c; für Messwerte und Statistik siehe Anlage).

In Abb. 14 d ist das PPR bei einem ISI von 50 ms vor und nach der LTP dargestellt. In der Kontrollgruppe konnte vor und nach der LTP eine signifikante Änderung im PPR gezeigt werden (vor LTP: 1,53 – nach LTP: *Kontrolle* ($n = 14/8$): $3,07 \pm 0,4$, Wilcoxon-Test $W = 105$, $p = 0,0001$; *PT des DA: 10 min vor 1x100 Hz* ($n = 6/6$): $2,45 \pm 0,4$, Wilcoxon-Test $W = 11$, $p = 0,3125$).

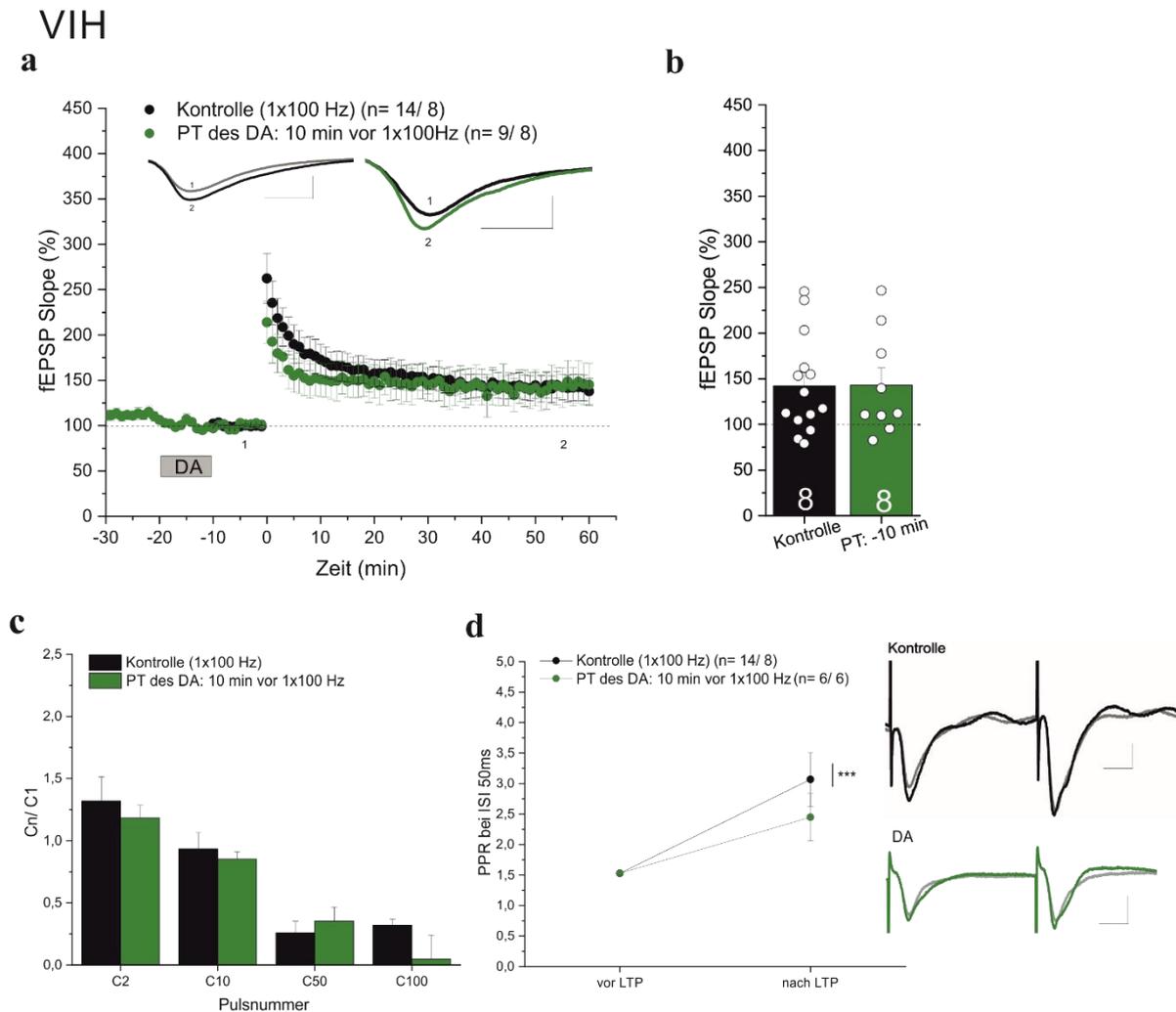


Abb. 14: Keine Veränderung in der LTP durch 10-minütige DA-Applikation 10 min vor LTP-Induktion mit 1x100 Hz-Stimulus im VIH.

(a) Zeitlicher Verlauf der LTP-Messung der Kontrolle (schwarz; n= 14/ 8) und der einem PT des DA 10 min vor 1x100 Hz (grün; n= 9/ 8). Exemplarische Darstellung von repräsentativen originalen Feldpotentialspuren der letzten 10 min der Baseline-Messung (1) sowie die der letzten 10 min der gesamten Messung (2); **links:** Kontrolle, **rechts:** DA; Maßstabsbalken: 1 mV/ 5 ms.

(b) Balkenstreuendiagramm der erreichten Potenzierung während der letzten 10 min der Messung. Zwischen beiden Gruppen konnte kein signifikanter Unterschied in der LTP gezeigt werden ($p > 0,05$).

(c) Die transiente, 10-minütige Anwesenheit von DA zeigte im Vergleich zur Kontrolle keine veränderte synaptische Ermüdung der SC-CA1-Synapsen. Die Balkendiagramme stellen das mittlere Verhältnis (auf den ersten Puls normiert) der fEPSP-Antworten der verschiedenen Pulsnummern (2, 10, 50 und 100) dar. Es konnten in keinen der Pulsnummern signifikanten Unterschiede in den fEPSP-Antworten gezeigt werden ($p > 0,05$).

(d) Signifikante Änderungen im PPR bei ISI 50 ms vor und nach der LTP. Darstellung des PPR bei ISI 50 ms vor und nach der LTP der Kontrolle (schwarz; n= 14/ 8) und der bei einem PT des DA 10 min vor 1x100 Hz (grün; n= 6/ 6). Lediglich in der Kontrollgruppe konnte ein signifikanter Unterschied im PPR vor und nach der LTP gezeigt werden ($p \leq 0,001$ (***)). In der Teilabbildung rechts sind exemplarisch repräsentative originale Feldpotentialspuren nach Paarpulsstimulation mit einem ISI von 50 ms vor (grau) und nach der LTP (Kontrolle: schwarz, DA: grün) dargestellt; **oben:** Kontrolle, **unten:** DA; Maßstabsbalken: 1 mV/ 10 ms.

3.1.2.2.2. Keine LTP-Verstärkung durch Dopaminapplikation zeitgleich mit der LTP-Induktion

Bei einer **zeitgleich mit** dem LTP-induzierenden 1x100 Hz-Stimulus beginnenden Inkubation des **DA** (Abb. 15 a und b) wurde keine signifikante Erhöhung der e-LTP im Vergleich zur Kontrollgruppe gezeigt (*Kontrolle*: n= 14/ 8, LTP $142,29 \pm 14,4$ %; *PT des DA: mit 1x100 Hz*: n= 14/ 8, LTP $166,79 \pm 13,0$ %; Zweistichproben-t-Test $t_{(26)} = 1,264$, $p = 0,2174$).

Die Analyse der synaptischen Ermüdung der SC-CA1-Synapsen in Antwort auf den 1x100 Hz-Stimulus ergab in den ausgewählten Pulsnummern 2, 10, 50 und 100 keine signifikanten Unterschiede in den fEPSP-Antworten beider untersuchter Gruppen ($p > 0,05$) (Abb. 15 c; für Messwerte und Statistik siehe Anlage).

In Abb. 15 d ist das PPR bei einem ISI von 50 ms vor und nach der LTP dargestellt. In beiden Gruppen konnte eine signifikante Änderung im PPR vor und nach der LTP gezeigt werden (vor LTP: 1,53 – nach LTP: *Kontrolle* (n= 14/ 8): $3,07 \pm 0,4$, Wilcoxon-Test $W = 105$, $p = 0,0001$; *PT des DA: mit 1x100 Hz* (n= 6/ 6): $2,54 \pm 0,2$, Wilcoxon-Test $W = 77$, $p = 0,0134$).

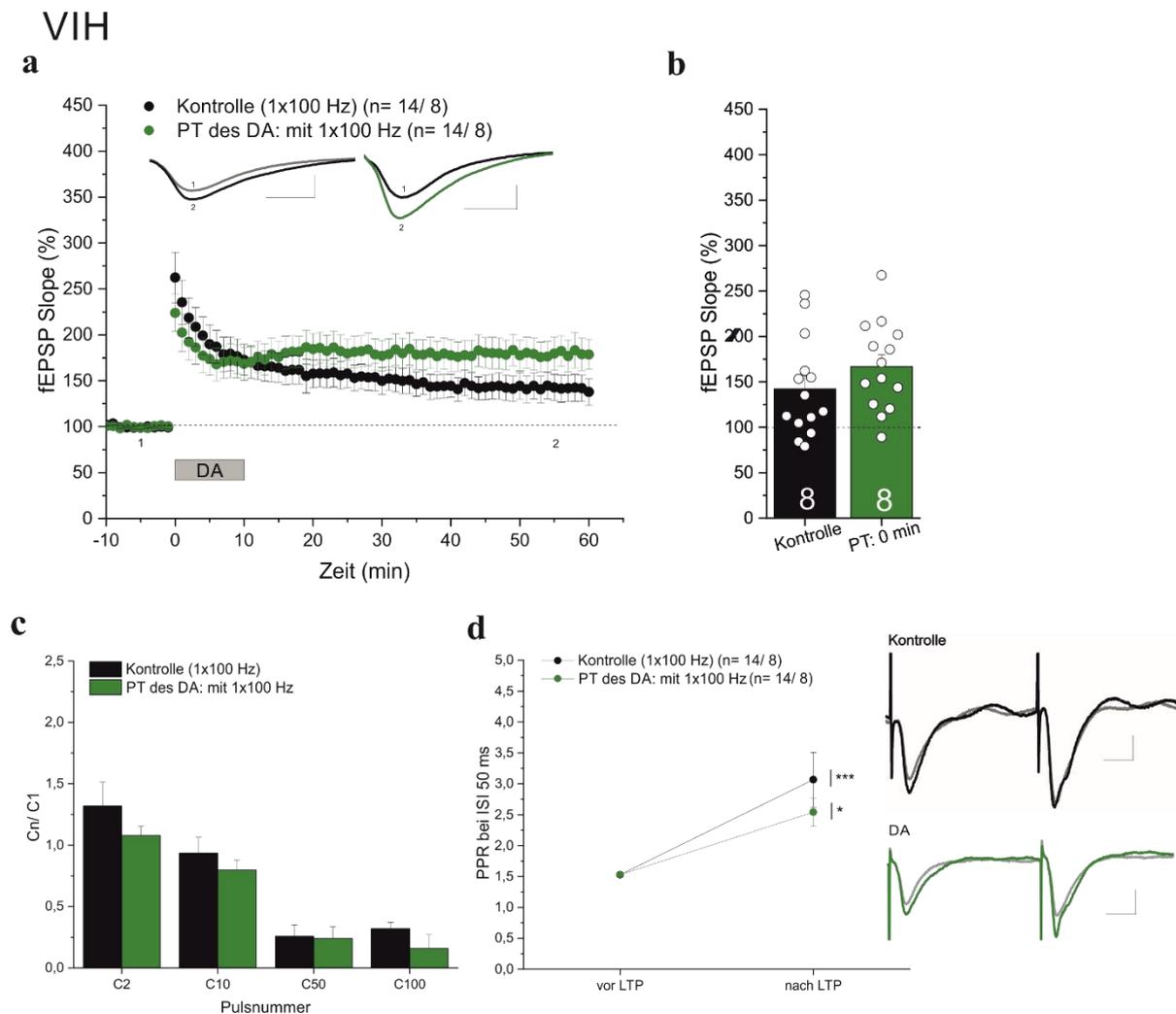


Abb. 15: Keine Veränderung in der LTP durch 10-minütige DA-Applikation zeitgleich mit dem LTP-induzierenden 1x100 Hz-Stimulus im VIH.

(a) Zeitlicher Verlauf der LTP-Messung der Kontrolle (schwarz; n= 14/ 8) und der einem PT des DA zeitgleich mit 1x100Hz (grün; n= 14/ 8). Exemplarische Darstellung von repräsentativen originalen Feldpotentialspuren der letzten 10 min der Baseline-Messung (1) sowie die der letzten 10 min der gesamten Messung (2); **links:** Kontrolle, **rechts:** DA; Maßstabsbalken: 1 mV/ 5 ms.

(b) Balkenstreuendiagramm der erreichten Potenzierung während der letzten 10 min der Messung. Zwischen beiden Gruppen konnte kein signifikanter Unterschied in der LTP nachgewiesen werden ($p > 0,05$).

(c) Die transiente, 10-minütige Anwesenheit von DA zeigte im Vergleich zur Kontrolle keine veränderte synaptische Ermüdung der SC-CA1-Synapsen. Die Balkendiagramme stellen das mittlere Verhältnis (auf den ersten Puls normiert) der fEPSP-Antworten der verschiedenen Pulsnummern (2, 10, 50 und 100) dar. Es konnten in keinen der Pulsnummern signifikanten Unterschiede in den fEPSP-Antworten gezeigt werden ($p > 0,05$).

(d) Signifikante Änderungen im PPR bei ISI 50 ms vor und nach der LTP. Darstellung des PPR bei ISI 50 ms vor und nach der LTP der Kontrolle (schwarz; n= 14/ 8) und der bei einem PT des DA zeitgleich mit 1x100 Hz (grün; n= 14/ 8). In beiden Gruppen konnte ein signifikanter Unterschied im PPR vor und nach der LTP gezeigt werden ($p \leq 0,05$ (*), $p \leq 0,001$ (***)). In der Teilabbildung rechts sind exemplarisch repräsentative originale Feldpotentialspuren nach Paarpulsstimulation mit einem ISI von

50 ms vor (grau) und nach der LTP (Kontrolle: schwarz, DA: grün) dargestellt; **oben:** Kontrolle, **unten:** DA; Maßstabsbalken: 1 mV/ 10 ms.

3.1.2.2.3. Keine LTP-Verstärkung durch retroaktive Applikation von DA nach dem LTP-induzierenden Stimulus

Erfolgte die beginnende Inkubation der akuten Hirnschnitte mit **DA 10 min nach** dem LTP-induzierenden 1x100 Hz-Stimulus (Abb. 16 a und b), konnte keine signifikante Veränderung der e-LTP nach 120 min im Vergleich zur Kontrolle gezeigt werden (*Kontrolle:* n= 10/ 6, LTP $129,34 \pm 12,2$ %; *PT des DA: 10 min nach 1x100 Hz:* n= 9/ 7, LTP $132,57 \pm 22,9$ %; Mann-Whitney-U-Test U= 31, p= 0,2727).

Die Analyse der synaptischen Ermüdung der SC-CA1-Synapsen in Antwort auf den 1x100 Hz-Stimulus dieses Experiments ist in Abb. 16 c dargestellt und ergab in den ausgewählten Pulsnummern 2, 10, 50 und 100 keine signifikanten Unterschiede in den fEPSP-Antworten beider untersuchter Gruppen (p> 0,05). In Abb. 16 d ist das PPR bei einem ISI von 50 ms vor und nach der LTP ersichtlich. In beiden Gruppen konnten keine signifikanten Änderungen im PPR vor und nach der LTP gezeigt werden (vor LTP: 1,53 – nach LTP: *Kontrolle* (n= 8/ 5): $2,76 \pm 0,4$, Wilcoxon-Test W= 18, p=0,25; *PT des DA: 10 min nach 1x100 Hz* (n= 7/ 6): $2,8 \pm 0,5$, Wilcoxon-Test W= 16, p= 0,2188).

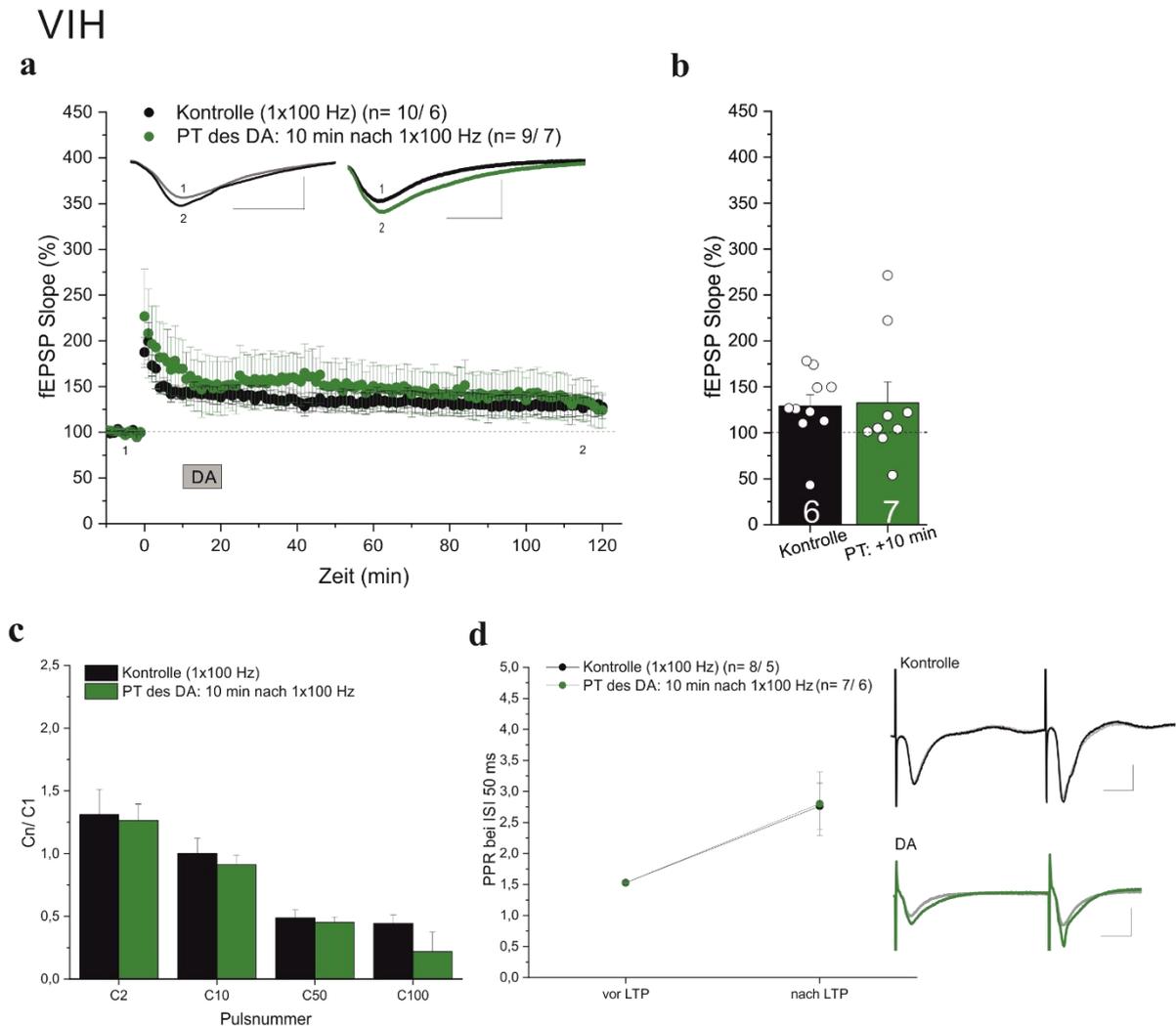


Abb. 16: Keine Veränderung in der LTP durch eine 10-minütige DA-Applikation 10 min nach LTP-Induktion mit 1x100 Hz-Stimulus im VIH.

(a) Zeitlicher Verlauf der LTP-Messung der Kontrolle (schwarz; n= 10/ 6) und der einem PT des DA 10 min nach 1x100 Hz (grün; n= 9/ 7). Exemplarische Darstellung von repräsentativen originalen Feldpotentialspuren der 10-minütigen Baseline-Messung (1) sowie die der letzten 10 min der gesamten Messung (2); **links:** Kontrolle, **rechts:** DA; Maßstabsbalken: 1 mV/ 5 ms.

(b) Balkenstreuendiagramm der erreichten Potenzierung während der letzten 10 min der Messung. Zwischen beiden Gruppen konnte kein signifikanter Unterschied in der LTP nachgewiesen werden ($p > 0,05$).

(c) Darstellung der synaptischen Ermüdung der SC-CA1-Synapsen auf den LTP-induzierenden Stimulus 1x100 Hz. Die Balkendiagramme zeigen das mittlere Verhältnis (auf den ersten Puls normiert) der fEPSP-Antworten der verschiedenen Pulsnummern (2, 10, 50 und 100). In allen untersuchten Pulsnummern unterschieden sich die fEPSP-Antworten beider Gruppen nicht signifikant voneinander ($p > 0,05$).

(d) Keine signifikanten Änderungen im PPR bei ISI 50 ms vor und nach der LTP. Darstellung des PPR bei ISI 50 ms vor und nach der LTP der Kontrolle (schwarz; n= 8/ 5) und der bei einem PT des DA 10 min nach 1x100 Hz (grün; n= 7/ 6). In keiner der beiden Gruppen konnte ein signifikanter Unterschied im PPR vor und nach der LTP gezeigt werden ($p > 0,05$). In der Teilabbildung rechts sind exemplarisch repräsentative originale Feldpotentialspuren nach Paarpulsstimulation mit einem ISI von 50 ms vor

(grau) und nach der LTP (Kontrolle: schwarz, DA: grün) dargestellt; **oben:** Kontrolle, **unten:** DA; Maßstabsbalken: 1 mV/ 10 ms.

Bei einer beginnenden **DA**-Inkubation **45 min nach** dem LTP-induzierenden 1x100 Hz-Stimulus (Abb. 17 a und b) konnte keine signifikante Erhöhung der e-LTP im Vergleich zur Kontrollgruppe gezeigt werden (*Kontrolle*: n= 10/ 6, LTP $129,34 \pm 12,2$ %; *PT des DA: 45 min nach 1x100 Hz*: n= 13/ 9, LTP $157,95 \pm 18,8$ %; Zweistichproben-t-Test $t_{(19,56)} = 1,275$, p= 0,2171).

Die Analyse der synaptischen Ermüdung der SC-CA1-Synapsen in Antwort auf den 1x100 Hz-Stimulus dieses Experiments ist in Abb. 17 c ersichtlich und ergab in den ausgewählten Pulsnummern 2, 10, 50 und 100 keine signifikanten Unterschiede in den fEPSP-Antworten beider untersuchter Gruppen (p> 0,05). In Abb. 17 d ist das PPR bei einem ISI von 50 ms vor und nach der LTP dargestellt. In keiner der beiden Gruppen konnte eine signifikante Änderung im PPR vor und nach der LTP gezeigt werden (vor LTP: 1,53 – nach LTP: *Kontrolle* (n= 8/ 5): $2,76 \pm 0,4$, Wilcoxon-Test W= 18, p= 0,25; *PT des DA: 45 min nach 1x100 Hz* (n= 11/ 7): $2,46 \pm 0,3$, Wilcoxon-Test W= 28, p= 0,2402).

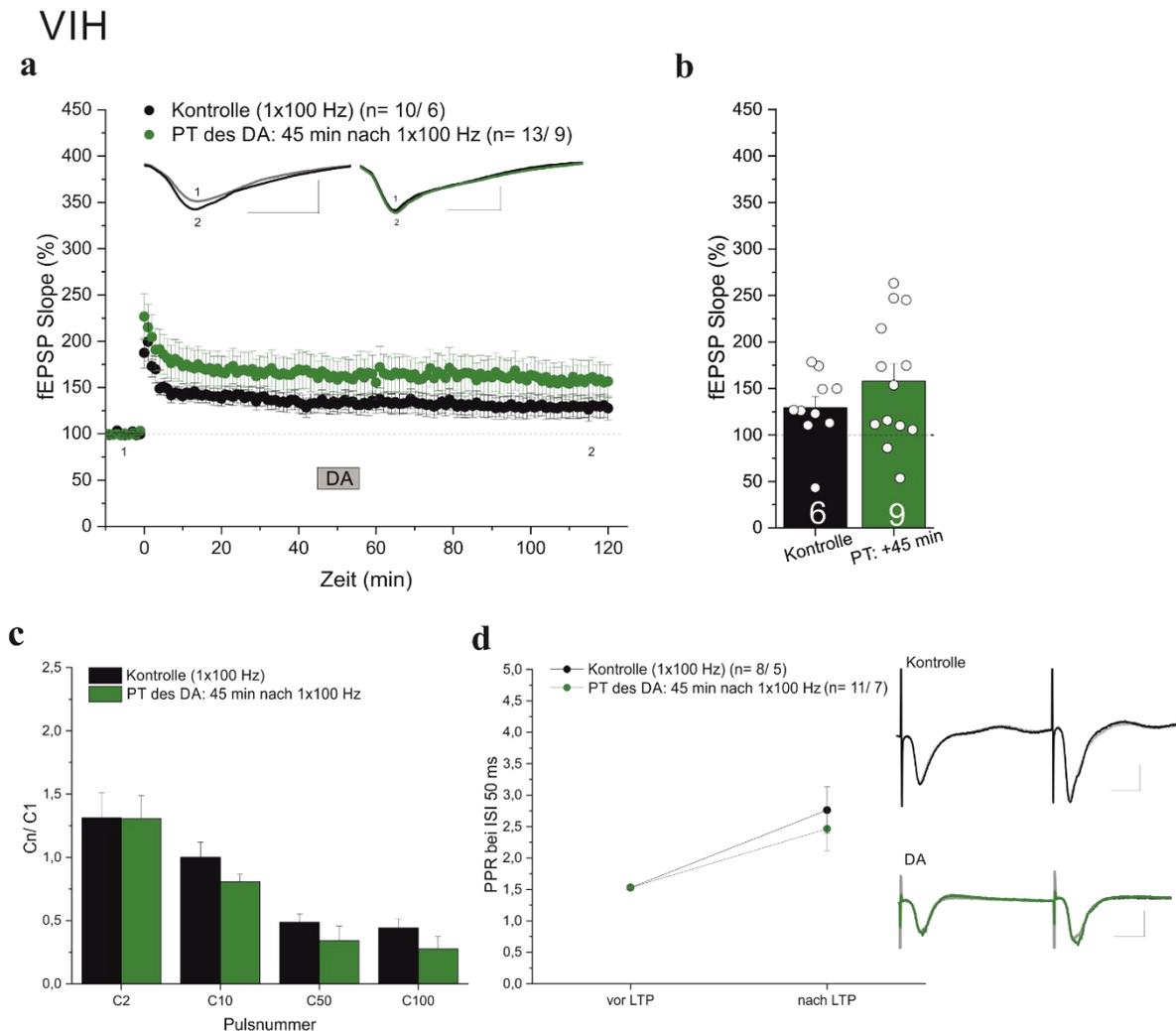


Abb. 17: Keine Veränderung in der LTP durch DA-Applikation 45 min nach LTP-Induktion mit 1x100 Hz-Stimulus im VIH.

(a) Zeitlicher Verlauf der LTP-Messung der Kontrolle (schwarz; n= 10/ 6) und der einem PT des DA 45 min nach 1x100 Hz (grün; n= 13/ 9). Exemplarische Darstellung von repräsentativen originalen Feldpotentialspuren der 10-minütigen Baseline-Messung (1) sowie die der letzten 10 min der gesamten Messung (2); links: Kontrolle, rechts: DA; Maßstabsbalken: 1 mV/ 5 ms.

(b) Balkenstreuendiagramm der erreichten Potenzierung während der letzten 10 min der Messung. Zwischen beiden Gruppen konnte kein signifikanter Unterschied in der LTP nachgewiesen werden ($p > 0,05$).

(c) Darstellung der synaptischen Ermüdung der SC-CA1-Synapsen auf den LTP-induzierenden 1x100 Hz-Stimulus. Die Balkendiagramme zeigen das mittlere Verhältnis (auf den ersten Puls normiert) der fEPSP-Antworten der verschiedenen Pulsnummern (2, 10, 50 und 100). In allen untersuchten Pulsnummern unterschieden sich die fEPSP-Antworten beider Gruppen nicht signifikant voneinander ($p > 0,05$).

(d) Keine signifikanten Änderungen im PPR bei ISI 50 ms vor und nach der LTP. Darstellung des PPR bei ISI 50 ms vor und nach der LTP der Kontrolle (schwarz; n= 8/ 5) und der bei einem PT des DA 45 min nach 1x100 Hz (grün; n= 11/ 7). In beiden Gruppen konnte kein signifikanter Unterschied im PPR vor und nach der LTP gezeigt werden ($p > 0,05$). In der Teilabbildung rechts sind exemplarisch repräsentative originale Feldpotentialspuren nach Paarpulsstimulation mit einem ISI von 50 ms vor (grau) und nach der LTP (Kontrolle: schwarz, DA: grün) dargestellt; oben: Kontrolle, unten: DA; Maßstabsbalken: 1 mV/ 10 ms.

3.1.3. Neuromodulatorische Wirkung von Noradrenalin auf die LTP

Es wurde untersucht, ob durch eine transiente, 10-minütige Inkubation des Neuromodulators Noradrenalin (NE, 20 μM) eine LTP-Steigerung erreicht werden kann. Dazu erfolgte die NE-Inkubation zeitabhängig zum LTP-induzierenden 1x100 Hz- Stimulus zu verschiedenen Zeitpunkten (engl. *priming time*, PT):

- 45 min bzw. 10 min nach Abschluss der NE-Inkubation **vor** dem LTP-induzierenden Stimulus (Vorzeichen: -), d.h. **proaktive** Wirkung des NE

- **zeitgleich mit** dem LTP-induzierenden Stimulus, d.h. **aktive** Wirkung sowie

- 10 min bzw. 45 min **nach** dem LTP-induzierenden Stimulus (Vorzeichen: +), d.h. **retroaktive** Wirkung des NE.

3.1.3.1. Die proaktive Applikation von Noradrenalin führt zeitabhängig zu einer Steigerung der LTP

Bei Abschluss der 10-minütigen Inkubation mit **NE 45 min vor** dem LTP-induzierenden 1x100 Hz-Stimulus (Abb. 18 a und b) konnte keine signifikante Veränderung in der e-LTP im Vergleich zur Kontrolle gezeigt werden (*Kontrolle*: n= 14/ 8, LTP $142,29 \pm 14,4 \%$; *PT des NE: 45 min vor 1x100 Hz*: n= 14/ 8, LTP $164,99 \pm 18,6 \%$; Mann-Whitney-U-Test U= 64, p= 0,7342).

Die Analyse der synaptischen Ermüdung der SC-CA1-Synapsen in Antwort auf den 1x100 Hz-Stimulus zeigte eine durch die transiente, 10-minütige Applikation von NE signifikant verminderte fEPSP-Antwort des zweiten Pulses im Vergleich zur Kontrolle (Mann-Whitney-U-Test U= 29, p= 0,043). In allen anderen untersuchten Pulsnummern unterschieden sich die fEPSP-Antworten beider Gruppen nicht signifikant (p> 0,05) (Abb. 18 c; für Messwerte und Statistik siehe Anlage).

In Abb. 18 d ist das PPR bei einem ISI von 50 ms vor und nach der LTP dargestellt. In beiden Gruppen konnte eine signifikante Änderung im PPR vor und nach der LTP gezeigt werden (vor LTP: 1,53 – nach LTP: *Kontrolle* (n= 14/ 8): $3,07 \pm 0,4$, Wilcoxon-Test W= 105, p= 0,0001; *PT des NE: 45 min vor 1x100 Hz* (n= 13/ 7): $3,09 \pm 0,6$, Wilcoxon-Test W= 65, p= 0,0215).

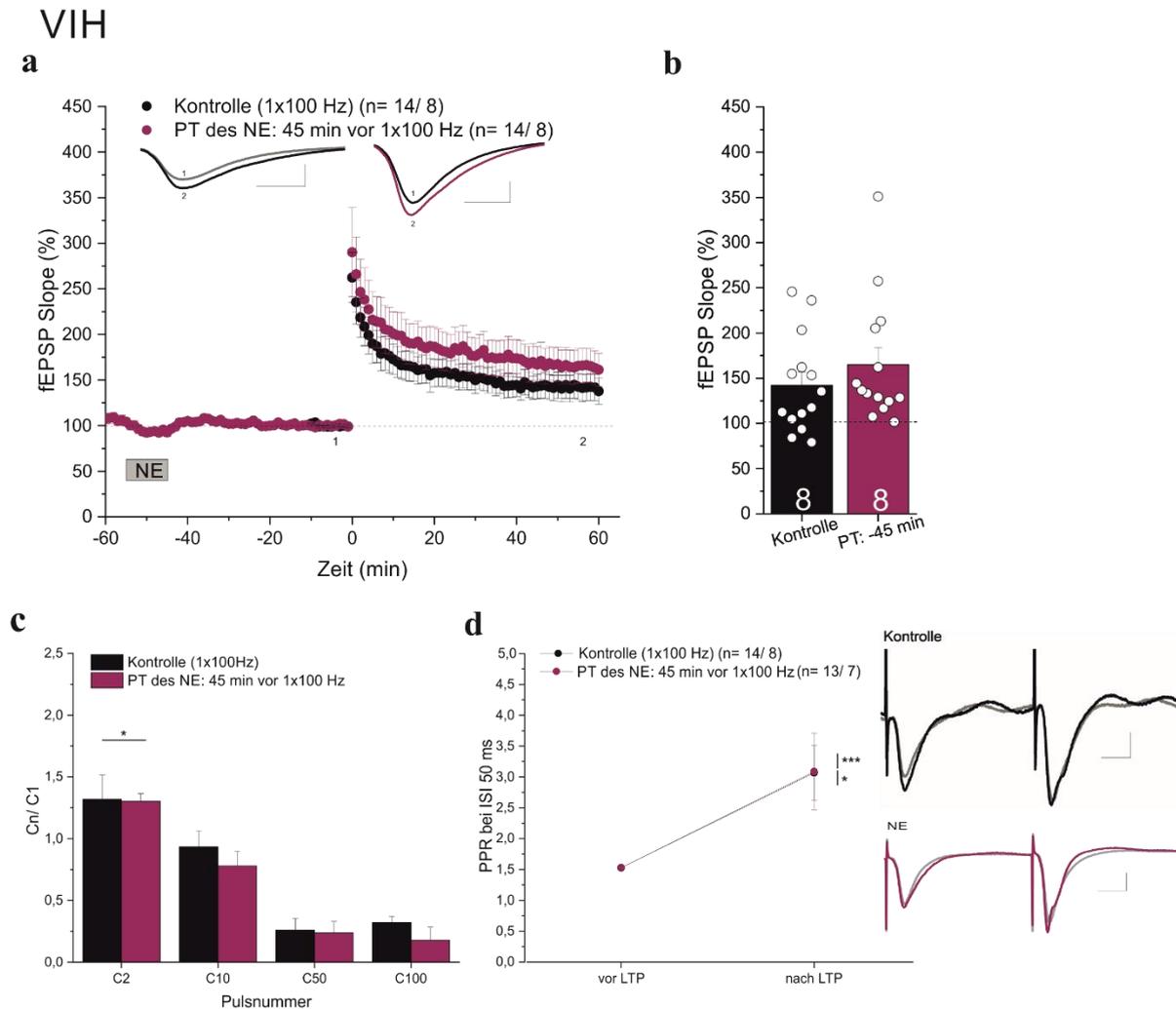


Abb. 18: Keine Veränderung in der LTP durch 10-minütige NE-Applikation 45 min vor LTP-Induktion mit 1x100 Hz-Stimulus im VIH.

(a) Zeitlicher Verlauf der LTP-Messung der Kontrolle (schwarz; n= 14/ 8) und der einem PT des NE 45 min vor 1x100 Hz (magenta; n= 14/ 8). Exemplarische Darstellung von repräsentativen originalen Feldpotentialspuren der letzten 10 min der Baseline-Messung (1) sowie die der letzten 10 min der gesamten Messung (2); **links:** Kontrolle, **rechts:** NE; Maßstabsbalken: 1 mV/ 5 ms.

(b) Balkenstreuendiagramm der erreichten Potenzierung während der letzten 10 min der Messung. Zwischen beiden Gruppen konnte kein signifikanter Unterschied in der LTP nachgewiesen werden ($p > 0,05$).

(c) Die transiente, 10-minütige Anwesenheit von NE zeigte im Vergleich zur Kontrolle eine teilweise veränderte synaptische Ermüdung der SC-CA1-Synapsen. Die Balkendiagramme stellen das mittlere Verhältnis (auf den ersten Puls normiert) der fEPSP-Antworten der verschiedenen Pulsnummern (2, 10, 50 und 100) dar. Es konnten beim zweiten Puls signifikante Unterschiede in den fEPSP-Antworten gezeigt werden ($p \leq 0,05$ (*)). In allen anderen Pulsnummern unterschieden sich die fEPSP-Antworten beider Gruppen nicht signifikant ($p > 0,05$).

(d) Signifikante Änderungen im PPR bei ISI 50 ms vor und nach der LTP. Darstellung des PPR bei ISI 50 ms vor und nach der LTP der Kontrolle (schwarz; n= 14/ 8) und der bei einem PT des NE 45 min vor 1x100 Hz (magenta; n= 13/ 7). In beiden Gruppen konnte ein signifikanter Unterschied im PPR vor und nach der LTP gezeigt werden ($p \leq 0,05$ (*), $p \leq 0,001$ (***)). In der Teilabbildung rechts sind exemplarisch repräsentative originale Feldpotentialspuren nach Paarpulsstimulation mit einem ISI von

50 ms vor (grau) und nach der LTP (Kontrolle: schwarz, NE: magenta) dargestellt; **oben:** Kontrolle, **unten:** NE; Maßstabsbalken: 1 mV/ 10 ms.

Wurde eine 10-minütige **NE**-Inkubation **10 min vor** dem LTP-induzierenden 1x100 Hz-Stimulus abgeschlossen (Abb. 19 a und b) konnte eine im Vergleich zur Kontrolle signifikante Erhöhung der e-LTP nach 60 min beobachtet werden (*Kontrolle:* n= 14/ 8, LTP $142,29 \pm 14,4$ %; *PT des NE: 10 min vor 1x100 Hz:* n= 10/ 7, LTP $219,97 \pm 30,9$ %; Mann-Whitney-U-Test U= 35, p= 0,0417).

Die Analyse der synaptischen Ermüdung der SC-CA1-Synapsen in Antwort auf den 1x100 Hz-Stimulus ergab in den ausgewählten Pulsnummern 2, 10, 50 und 100 keine signifikanten Unterschiede in den fEPSP-Antworten zwischen den beiden untersuchten Gruppen (p> 0,05) (Abb. 19 c; für Messwerte und Statistik siehe Anlage).

In Abb. 19 d ist das PPR bei einem ISI von 50 ms vor und nach der LTP dargestellt. In der Kontrolle wurde eine signifikante Änderung im PPR vor und nach der LTP ermittelt (vor LTP: 1,53 – nach LTP: *Kontrolle* (n= 14/ 8): $3,07 \pm 0,4$, Wilcoxon-Test W= 105, p= 0,0001; *PT des NE: 10 min vor 1x100 Hz* (n= 5/ 3): $1,56 \pm 0,4$, Wilcoxon-Test W= -7, p= 0,4375).

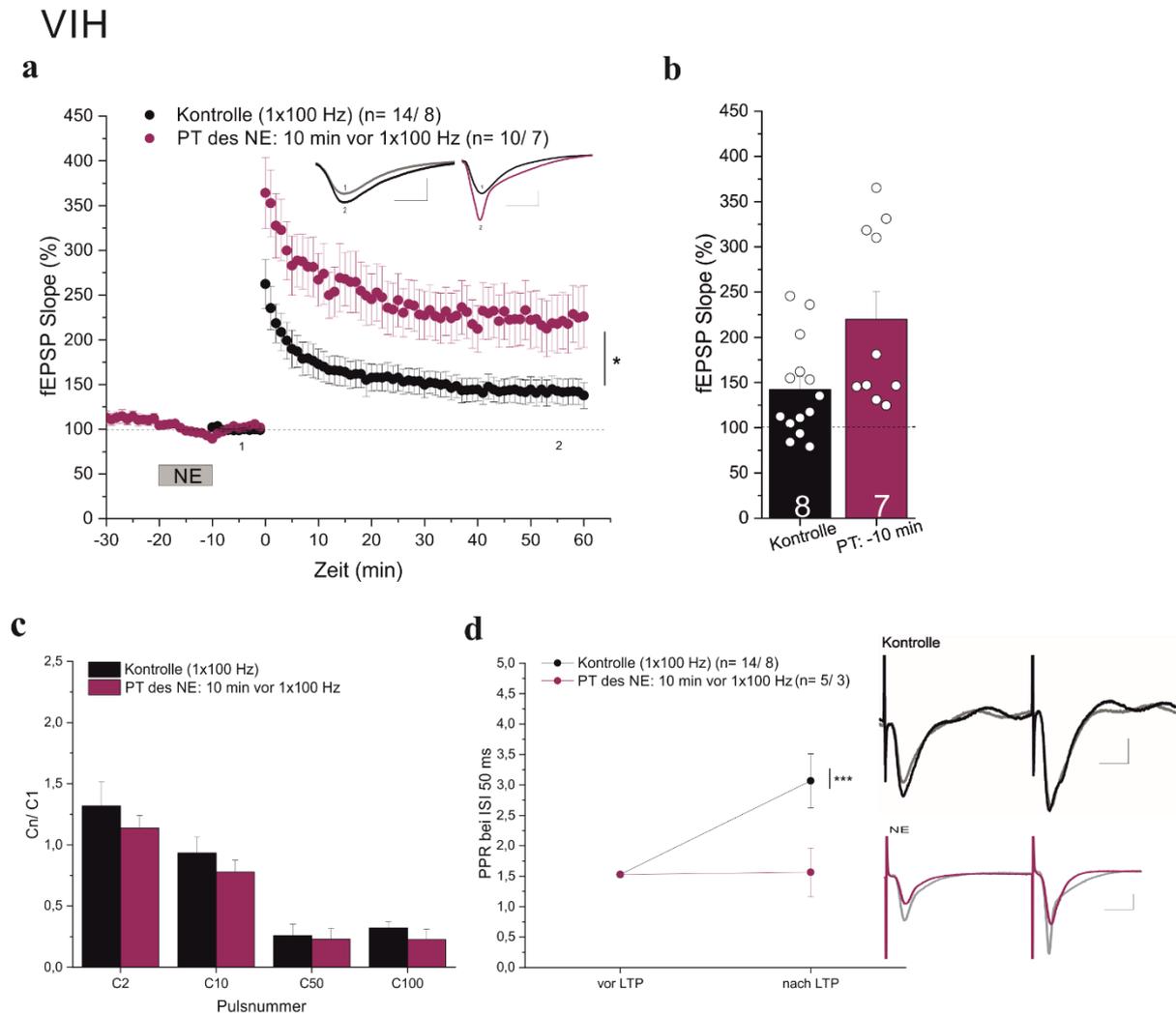


Abb. 19: LTP-verstärkender Effekt durch 10-minütige NE-Applikation 10 min vor der LTP-Induktion mit 1x100 Hz-Stimulus im VIH.

(a) Zeitlicher Verlauf der LTP-Messung der Kontrolle (schwarz; n= 14/ 8) und der einem PT des NE 10 min vor 1x100 Hz (magenta; n= 10/ 7). Exemplarische Darstellung von repräsentativen originalen Feldpotentialspuren der letzten 10 min der Baseline-Messung (1) sowie die der letzten 10 min der gesamten Messung (2); **links:** Kontrolle, **rechts:** NE; Maßstabsbalken: 1 mV/ 5 ms.

(b) Balkenstreudiagramm der erreichten Potenzierung während der letzten 10 min der Messung. Zwischen beiden Gruppen konnte ein signifikanter Unterschied in der LTP nachgewiesen werden ($p \leq 0,05$ (*)).

(c) Die transiente, 10-minütige Anwesenheit von NE zeigte im Vergleich zur Kontrolle keine veränderte synaptische Ermüdung der SC-CA1-Synapsen. Die Balkendiagramme stellen das mittlere Verhältnis (auf den ersten Puls normiert) der fEPSP-Antworten der verschiedenen Pulsnummern (2, 10, 50 und 100) dar. Es konnten in keinen der Pulsnummern signifikante Unterschiede in den fEPSP-Antworten gezeigt werden ($p > 0,05$).

(d) Teilweise signifikante Änderungen im PPR bei ISI 50 ms vor und nach der LTP. Darstellung des PPR bei ISI 50 ms vor und nach der LTP der Kontrolle (schwarz; n= 14/ 8) und der bei einem PT des NE 10 min vor 1x100 Hz (magenta; n= 5/ 3). Es konnte nur in der Kontrolle ein signifikanter Unterschied im PPR vor und nach der LTP gezeigt werden ($p \leq 0,001$ (***)). In der Teilabbildung rechts sind exemplarisch repräsentative originale Feldpotentialspuren nach Paarpulsstimulation mit einem ISI

von 50 ms vor (grau) und nach der LTP (Kontrolle: schwarz, NE: magenta) dargestellt; **oben**: Kontrolle, **unten**: NE; Maßstabsbalken: 1 mV/ 10 ms.

3.1.3.2. Keine LTP-Verstärkung durch Noradrenalinapplikation zeitgleich mit der LTP-Induktion

Bei einer **zeitgleich mit** dem LTP-induzierenden 1x100 Hz-Stimulus beginnenden Inkubation des **NE** (Abb. 20 a und b) wurde im Vergleich zur Kontrollgruppe keine signifikante Erhöhung der e-LTP beobachtet (*Kontrolle*: n= 14/ 8, LTP $142,29 \pm 14,4$ %; *PT des NE: mit 1x100 Hz*: n= 9/ 6, LTP $164,17 \pm 20,2$ %; Zweistichproben-t-Test $t_{(15,71)} = 0,8834$, p= 0,3903). Die Analyse der synaptischen Ermüdung der SC-CA1-Synapsen in Antwort auf den 1x100 Hz-Stimulus zeigte eine durch die transiente, 10-minütige Applikation von NE signifikant verminderte fEPSP-Antwort des zweiten Pulses im Vergleich zur Kontrolle (Mann-Whitney-U-Test U= 29, p= 0,0316). In allen anderen untersuchten Pulsnummern unterschieden sich die fEPSP-Antworten beider Gruppen nicht signifikant (p> 0,05) (Abb. 20 c; für Messwerte und Statistik siehe Anlage).

In Abb. 20 d ist das PPR bei einem ISI von 50 ms vor und nach der LTP dargestellt. Lediglich in der Kontrollgruppe konnte eine signifikante Änderung im PPR vor und nach der LTP gezeigt werden (vor LTP: 1,53 – nach LTP: *Kontrolle* (n= 14/ 8): $3,07 \pm 0,4$, Wilcoxon-Test W= 105, p= 0,0001; *PT des NE: mit 1x100 Hz* (n= 8/ 6): $2,49 \pm 0,3$, Wilcoxon-Test W= 22, p= 0,1484).

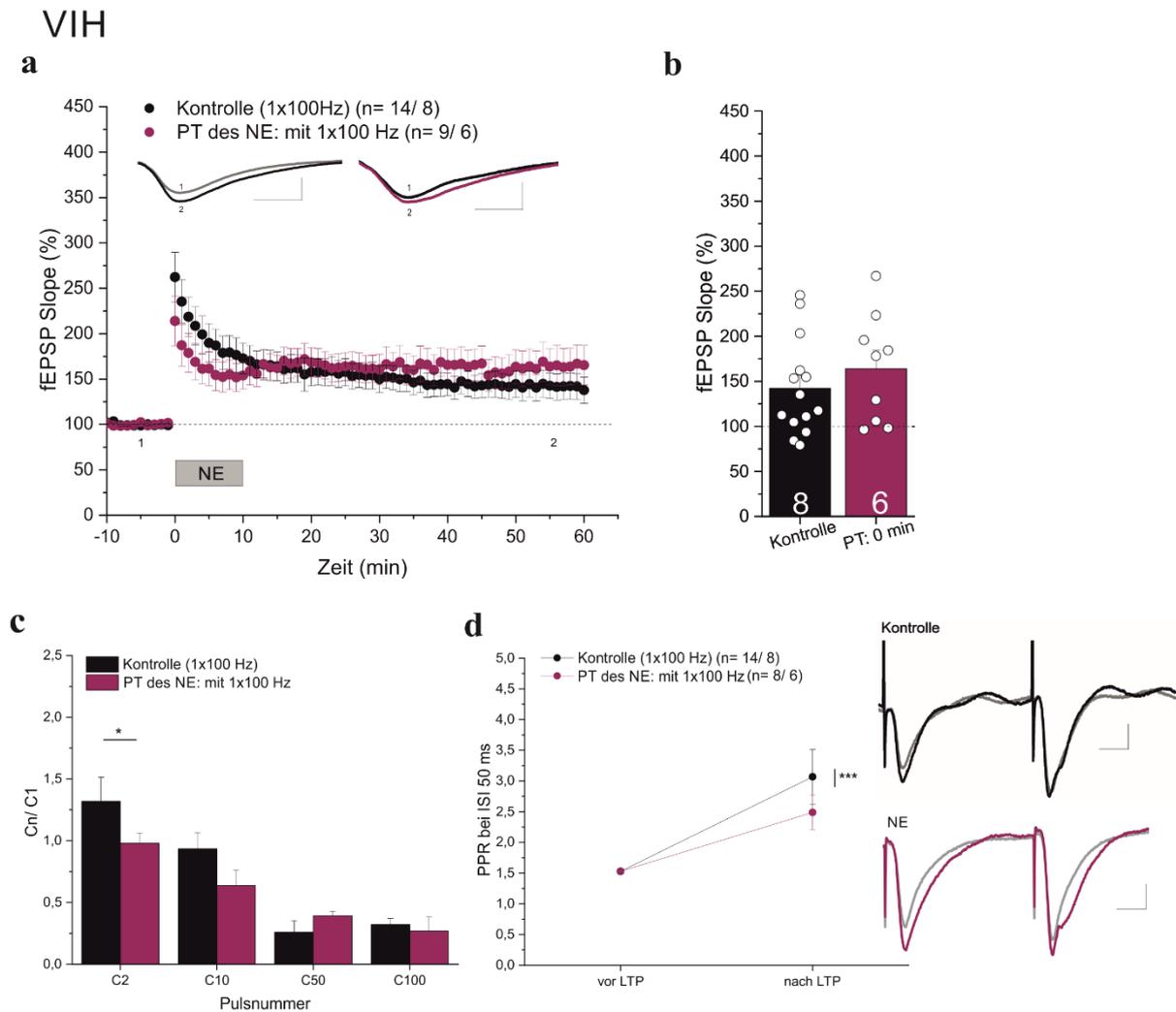


Abb. 20: Keine Veränderung in der LTP durch 10-minütige NE-Applikation zeitgleich mit LTP-induzierenden 1x100 Hz-Stimulus im VIH.

(a) Zeitlicher Verlauf der LTP-Messung der Kontrolle (schwarz; $n = 14/8$) und der einem PT des NE zeitgleich mit 1x100 Hz (magenta; $n = 9/6$). Exemplarische Darstellung von repräsentativen originalen Feldpotentialspuren der 10-minütigen Baseline-Messung (1) sowie die der letzten 10 min der gesamten Messung (2); **links**: Kontrolle, **rechts**: NE; Maßstabsbalken: 1 mV/ 5 ms.

(b) Balkenstreuendiagramm der erreichten Potenzierung während der letzten 10 min der Messung. Zwischen beiden Gruppen konnte kein signifikanter Unterschied in der LTP nachgewiesen werden ($p > 0,05$).

(c) Die transiente, 10-minütige Anwesenheit von NE zeigte im Vergleich zur Kontrolle eine teilweise veränderte synaptische Ermüdung der SC-CA1-Synapsen. Die Balkendiagramme stellen das mittlere Verhältnis (auf den ersten Puls normiert) der fEPSP-Antworten der verschiedenen Pulsnummern (2, 10, 50 und 100) dar. Es konnten beim zweiten Puls signifikante Unterschiede in den fEPSP-Antworten gezeigt werden ($p \leq 0,05$ (*)). In allen anderen Pulsnummern unterschieden sich die fEPSP-Antworten beider Gruppen nicht signifikant ($p > 0,05$).

(d) Signifikante Änderungen im PPR bei ISI 50 ms vor und nach der LTP. Darstellung des PPR bei ISI 50 ms vor und nach der LTP der Kontrolle (schwarz; $n = 14/8$) und der bei einem PT des NE zeitgleich mit 1x100 Hz (magenta; $n = 8/6$). In der Kontrollgruppe konnte ein signifikanter Unterschied im PPR vor und nach der LTP gezeigt werden ($p \leq 0,001$ (***)). In der Teilabbildung rechts sind exemplarisch repräsentative originale Feldpotentialspuren nach Paarpulsstimulation mit einem ISI von 50 ms vor

(grau) und nach der LTP (Kontrolle: schwarz, NE: magenta) dargestellt; **oben:** Kontrolle, **unten:** NE; Maßstabsbalken: 1 mV/ 10 ms.

3.1.3.3. Keine LTP-Verstärkung durch retroaktive Applikation von NE nach dem LTP-induzierenden Stimulus

Erfolgte die beginnende Inkubation der akuten Hirnschnitte mit **NE 10 min nach** dem LTP-induzierenden 1x100 Hz-Stimulus (Abb. 21 a und b), konnte keine signifikante Veränderung der e-LTP nach 120 min im Vergleich zur Kontrolle gezeigt werden (*Kontrolle:* n= 10/ 6, LTP $129,34 \pm 12,2$ %; *PT des NE: 10 min nach 1x100 Hz:* n= 14/ 8, LTP $161,41 \pm 22,9$ %; Mann-Whitney-U-Test U= 64, p= 0,8342).

Die Analyse der synaptischen Ermüdung der SC-CA1-Synapsen in Antwort auf den 1x100 Hz-Stimulus dieses Experiments ist in Abb. 21 c dargestellt und ergab in einen signifikanten Unterschied in Pulsnummer 50 (p= 0,0375), alle anderen ausgewählten Pulsnummern 2, 10 und 100 wiesen keine signifikanten Unterschiede in den fEPSP-Antworten beider untersuchter Gruppen auf (p> 0,05). In Abb. 21 d ist das PPR bei einem ISI von 50 ms vor und nach der LTP ersichtlich und ergab in den ausgewählten Pulsnummern 2, 10, 50 und 100 keine signifikanten Unterschiede in den fEPSP-Antworten beider untersuchter Gruppen (p> 0,05). In beiden Gruppen konnten keine signifikanten Änderungen im PPR vor und nach der LTP gezeigt werden (vor LTP: 1,53 – nach LTP: *Kontrolle* (n= 8/ 5): $2,76 \pm 0,4$, Wilcoxon-Test W= 18, p= 0,25; *PT des NE: 10 min nach 1x100 Hz* (n= 13/ 8): $2,16 \pm 0,3$, Wilcoxon-Test W= 33, p= 0,2734).

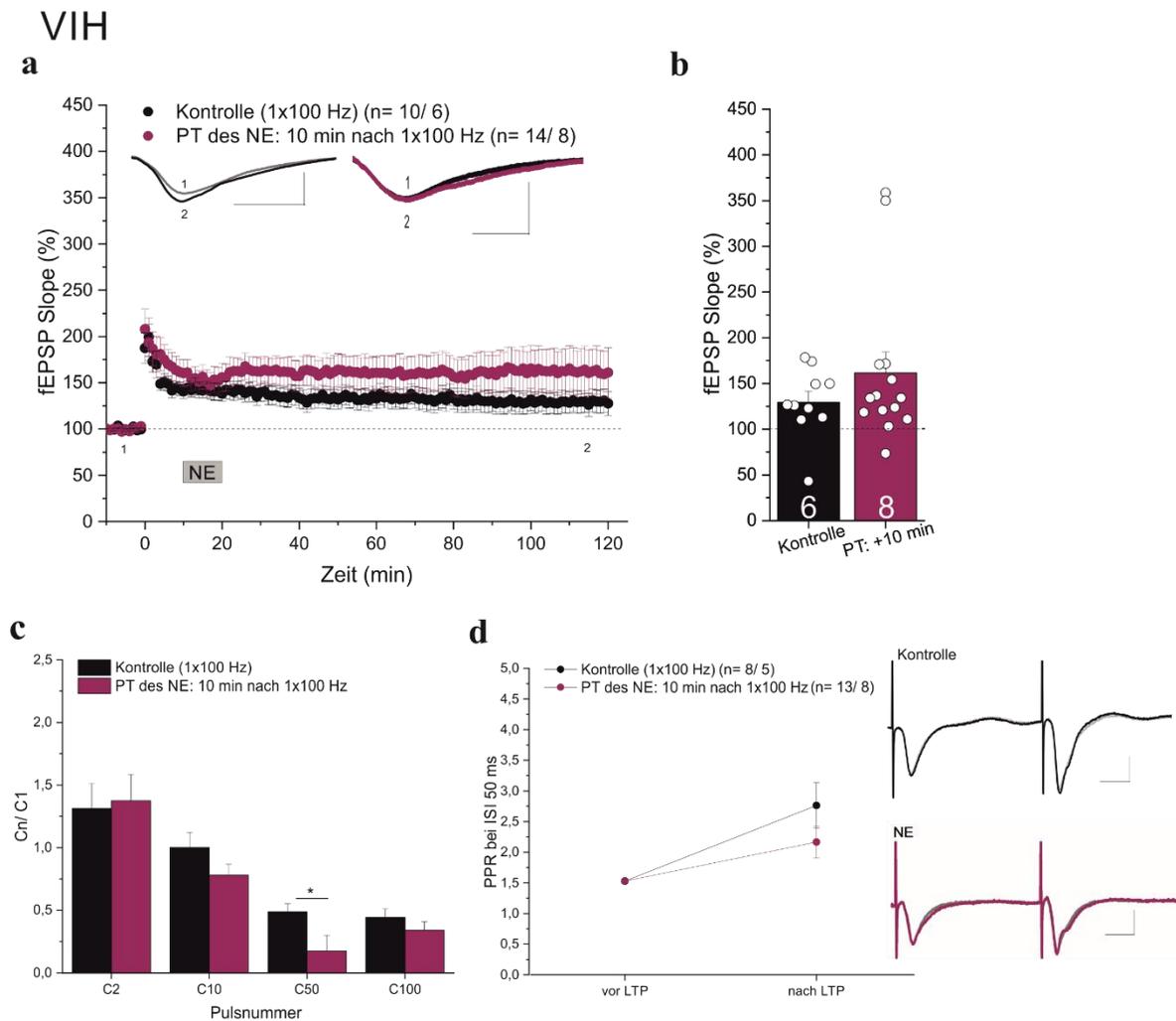


Abb. 21: Keine Veränderung in der LTP durch 10-minütige NE-Applikation 10 min nach LTP-Induktion mit 1x100 Hz-Stimulus im VIH.

(a) Zeitlicher Verlauf der LTP-Messung der Kontrolle (schwarz; $n = 10/6$) und der einem PT des NE 10 min nach 1x100 Hz (magenta; $n = 14/8$). Exemplarische Darstellung von repräsentativen originalen Feldpotentialspuren der 10-minütigen Baseline-Messung (1) sowie die der letzten 10 min der gesamten Messung (2); **links:** Kontrolle, **rechts:** NE; Maßstabsbalken: 1 mV/ 5 ms

(b) Balkenstreudiagramm der erreichten Potenzierung während der letzten 10 min der Messung. Zwischen beiden Gruppen konnte kein signifikanter Unterschied in der LTP nachgewiesen werden ($p > 0,05$).

(c) Darstellung der synaptischen Ermüdung der SC-CA1-Synapsen auf den LTP-induzierenden 1x100 Hz-Stimulus. Die Balkendiagramme zeigen das mittlere Verhältnis (auf den ersten Puls normiert) der fEPSP-Antworten der verschiedenen Pulsnummern (2, 10, 50 und 100). Es konnten beim 50.Puls signifikante Unterschiede in den fEPSP-Antworten gezeigt werden ($p < 0,05$), in allen untersuchten Pulsnummern unterschieden sich beider Gruppen nicht signifikant voneinander ($p > 0,05$).

(d) Keine signifikanten Änderungen im PPR bei ISI 50 ms vor und nach der LTP. Darstellung des PPR bei ISI 50 ms vor und nach der LTP der Kontrolle (schwarz; $n = 8/5$) und der bei einem PT des NE 10 min nach 1x100 Hz (magenta; $n = 13/8$). In keiner der beiden Gruppen konnte ein signifikanter Unterschied im PPR vor und nach der LTP gezeigt werden ($p > 0,05$). In der Teilabbildung rechts sind exemplarisch repräsentative originale Feldpotentialspuren nach Paarpulsstimulation mit einem ISI von 50 ms vor (grau) und nach der LTP (Kontrolle: schwarz, NE: magenta) dargestellt; **oben:** Kontrolle, **unten:** NE; Maßstabsbalken: 1 mV/ 10 ms.

Bei einer beginnenden **NE**-Inkubation **45 min nach** dem LTP-induzierenden 1x100 Hz-Stimulus (Abb. 22 a und b) konnte im Vergleich zur Kontrolle keine signifikante Erhöhung der e-LTP beobachtet werden (*Kontrolle*: n= 10/ 6, LTP $129,34 \pm 12,2$ %; *PT des NE: 45 min nach 1x100 Hz*: n= 8/ 4, LTP $162,82 \pm 29,3$ %; Zweistichproben-t-Test $t_{(9,4)} = 1,055$, p= 0,3176). Die Analyse der synaptischen Ermüdung der SC-CA1-Synapsen auf den 1x100 Hz-Stimulus dieses Experiments ist in Abb. 22 c ersichtlich und ergab in den ausgewählten Pulsnummern 2, 10, 50 und 100 keine signifikanten Unterschiede in den fEPSP-Antworten beider untersuchter Gruppen (p> 0,05). In Abb. 22 d ist das PPR bei einem ISI von 50 ms vor und nach der LTP dargestellt. In keiner der beiden Gruppen konnte eine signifikante Änderung im PPR vor und nach der LTP gezeigt werden (vor LTP: 1,53 – nach LTP: *Kontrolle* (n= 8/ 5): $2,76 \pm 0,4$, Wilcoxon-Test W= 18, p= 0,25; *PT des NE: 45 min nach 1x100 Hz* (n= 7/ 4): $2,69 \pm 0,5$, Wilcoxon-Test W= 28, p= 0,2402).

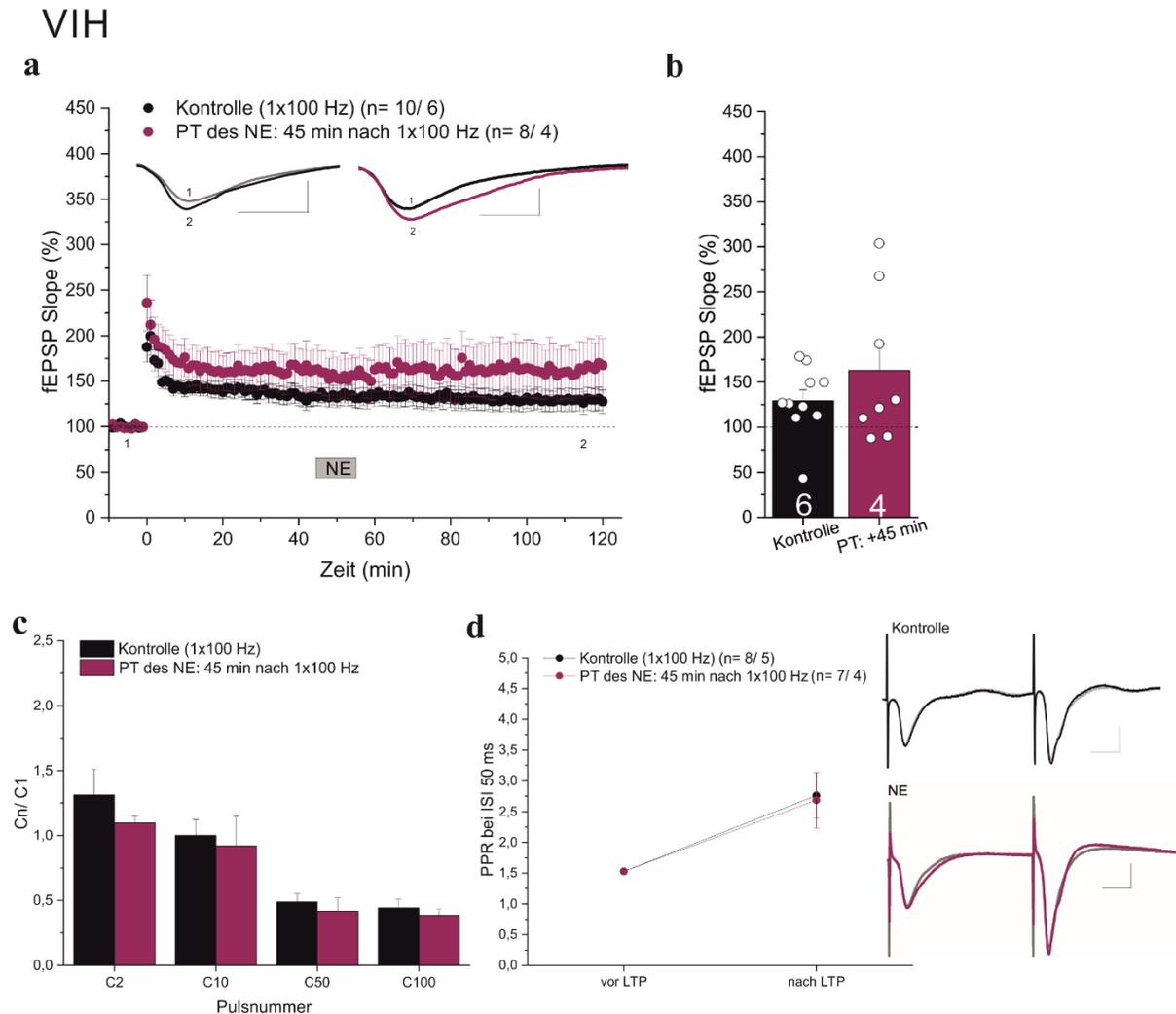


Abb. 22: Keine Veränderung in der LTP durch 10-minütige NE-Applikation 45 min nach LTP-Induktion mit 1x100 Hz-Stimulus im VIH.

(a) Zeitlicher Verlauf der LTP-Messung der Kontrolle (schwarz; n= 10/ 6) und der einem PT des NE 45 min nach 1x100 Hz (magenta; n= 8/ 4). Exemplarische Darstellung von repräsentativen originalen Feldpotentialspuren der 10-minütigen Baseline-Messung (1) sowie die der letzten 10 min der gesamten Messung (2); **links**: Kontrolle, **rechts**: NE; Maßstabsbalken: 1 mV/ 5 ms.

(b) Balkenstreuendiagramm der erreichten Potenzierung während der letzten 10 min der Messung. Zwischen beiden Gruppen konnte kein signifikanter Unterschied in der LTP nachgewiesen werden ($p > 0,05$).

(c) Darstellung der synaptischen Ermüdung der SC-CA1-Synapsen auf den LTP-induzierenden 1x100 Hz-Stimulus. Die Balkendiagramme zeigen das mittlere Verhältnis (auf den ersten Puls normiert) der fEPSP-Antworten der verschiedenen Pulsnummern (2, 10, 50 und 100). In allen untersuchten Pulsnummern unterschieden sich die fEPSP-Antworten beider Gruppen nicht signifikant voneinander ($p > 0,05$).

(d) Keine signifikanten Änderungen im PPR bei ISI 50 ms vor und nach der LTP. Darstellung des PPR bei ISI 50 ms vor und nach der LTP der Kontrolle (schwarz; n= 8/ 5) und der bei einem PT des NE 45 min nach 1x100 Hz (magenta; n= 7/ 4). In beiden Gruppen konnte ein signifikanter Unterschied im PPR vor und nach der LTP ermittelt werden ($p > 0,05$). In der Teilabbildung rechts sind exemplarisch repräsentative originale Feldpotentialspuren nach Paarpulsstimulation mit einem ISI von 50 ms vor

(grau) und nach der LTP (Kontrolle: schwarz, NE: magenta) dargestellt; **oben:** Kontrolle, **unten:** NE;
Maßstabsbalken: 1 mV/ 10 ms.

3.2. Ventraler Hippocampus (VH)

3.2.1. Die Anwendung eines 1x25 Hz-Tetanus als LTP-induzierender Stimulus führt im Vergleich zu einem 1x100 Hz-Tetanus im VH zu einer verminderten LTP an SC-CA1-Synapsen

Zunächst erfolgte im VH die Etablierung eines hochfrequenten LTP-Induktionsprotokolls, das zur Ausbildung einer schwachen, nicht saturierten e-LTP führt. Dazu wurde der im Kapitel 3.1.1. für den VIH ermittelte 1x100 Hz-Tetanus sowie ein 1x25 Hz- Stimulus (Frequenz: 25 Hz, Dauer: 1s, im Folgenden als 1x25 Hz bezeichnet) zur LTP-Induktion verwendet.

Beide angewandten LTP-Induktionsprotokolle riefen eine LTP hervor, die sich signifikant von der Baseline (100 %) unterschied (Abb. 23 a und b; *1x100 Hz*: $n= 11/ 6$; LTP $204,94 \pm 35,8 \%$, Einstichproben-t-Test $t_{(10)}= 2,933$, $p= 0,0150$; *1x25 Hz*: $n= 9/ 5$; LTP $125,0 \pm 9,0 \%$; Einstichproben-t-Test $t_{(8)}= 2,789$, $p= 0,0236$), wobei der 1x25 Hz-Tetanus im Vergleich zum 1x100 Hz-Stimulus zu einer signifikant verminderten e-LTP führte (Mann-Whitney-U-Test $U= 23$, $p= 0,0461$).

In Abb. 23 c ist das PPR bei einem ISI von 50 ms vor und nach der LTP dargestellt. In beiden Gruppen konnte eine signifikante Änderung im PPR vor und nach der LTP gezeigt werden (vor LTP: $1,33 \pm 0,2$ – nach LTP: *1x100 Hz* ($n= 10/ 6$): $1,93 \pm 0,2$, Wilcoxon-Test $W= 49$, $p= 0,0098$; *1x25 Hz* ($n= 9/ 5$): $2,2 \pm 0,2$, Wilcoxon-Test $W= 45$, $p= 0,0039$).

Die zu diesem Experiment gehörende Reiz-Reaktionskurve, PPR (ISIs: 20, 50, 100 und 200 ms) sowie die Analyse der synaptischen Ermüdung der SC-CA1-Synapsen in Antwort auf die beiden LTP-induzierenden Stimuli 1x100 Hz und 1x25 Hz sind in der Anlage, in Abb. A 5 zusammengefasst dargestellt.

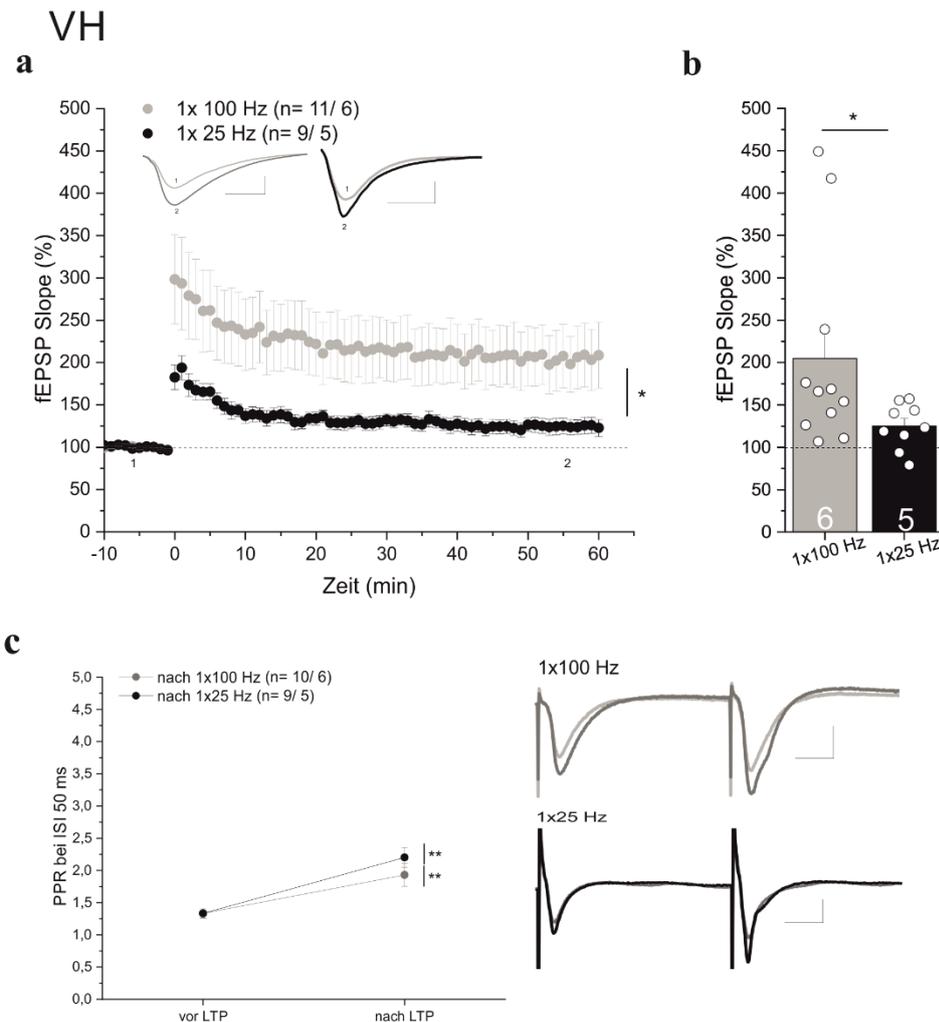


Abb. 23: Signifikant reduzierte LTP an SC-CA1-Synapsen im VH nach Stimulation mit 1x25 Hz im Vergleich zu einer Stimulation mit 1x100 Hz.

(a) Zeitlicher Verlauf der LTP-Messung unter Verwendung eines 1x100 Hz- (grau; n= 11/ 6) bzw. 1x25 Hz-Protokolls (schwarz; n= 9/ 5). Exemplarische Darstellung von repräsentativen originalen Feldpotentialspuren der 10-minütigen Baseline-Messung (1) sowie die der letzten 10 min der gesamten Messung (2); **links:** 1x100 Hz, **rechts:** 1x25 Hz; Maßstabsbalken: 1 mV/ 5 ms.

(b) Balkenstreuendiagramm der erreichten Potenzierung während der letzten 10 min der Messung. Zwischen beiden Gruppen konnte ein signifikanter Unterschied in der LTP nachgewiesen werden ($p \leq 0,05$ (*)).

(c) Signifikante Änderungen im PPR bei ISI 50 ms vor und nach der LTP. Darstellung des PPR bei ISI 50 ms vor und nach der LTP bei einer Stimulation mit 1x100 Hz (grau; n= 10/ 6) und bei einer Stimulation mit 1x25 Hz (schwarz; n= 9/ 5). In beiden Gruppen konnte ein signifikanter Unterschied im PPR vor und nach der LTP gezeigt werden ($p \leq 0,01$ (**)). In der Teilabbildung rechts sind exemplarisch repräsentative originale Feldpotentialspuren nach Paarpulsstimulation mit einem ISI von 50 ms vor (hellgrau) und nach der LTP (1x100 Hz: grau, 1x25 Hz: schwarz) dargestellt; **oben:** 1x100 Hz, **unten:** 1x25 Hz; Maßstabsbalken: 1 mV/ 10 ms.

3.2.2. Neuromodulatorische Wirkung von Dopamin auf die LTP im VH: Anwesenheit des DA zu verschiedenen Zeitpunkten: LTP wird im VH pro-, jedoch nicht retroaktiv verstärkt

Der im VIH gezeigte proaktive LTP-verstärkende Effekt einer DA-Applikation sollte mit diesen Experimenten nun im VH überprüft werden. Dazu erfolgte die 10-minütige DA-Applikation **45 min vor** (proaktiv) sowie **45 min nach** dem LTP-induzierenden 1x25 Hz-Stimulus (retroaktiv), um eine möglicherweise ausschließlich im VH auftretende retroaktive Wirkung des DA auf die e-LTP zu untersuchen.

Die durchgeführten Reiz-Reaktionskurven und PPR (ISIs: 20, 50, 100 und 200 ms) finden sich zusammengefasst in der Anlage Abb. A 6.

Bei Abschluss der 10-minütigen Inkubation des **DA 45 min vor** dem LTP-induzierenden 1x25 Hz-Stimulus konnte eine im Vergleich zur Kontrolle signifikante Erhöhung der e-LTP nach 60 min gezeigt werden (Abb. 24 a und b; *Kontrolle*: n= 10/ 8, LTP $111,0 \pm 7,3$ %; *PT des DA: 45 min vor 1x100 Hz*: n= 8/ 6, LTP $159,91 \pm 18,9$ %; Zweistichproben-t-Test $t_{(9,1)} = 2,419$, p= 0,0348).

Die Analyse der synaptischen Ermüdung der SC-CA1-Synapsen in Antwort auf den 1x25 Hz-Stimulus ergab in den ausgewählten Pulsnummern 2, 10 und 25 keine signifikanten Unterschiede in den fEPSP-Antworten beider untersuchten Gruppen (p> 0,05) (Abb. 24 c; für Messwerte und Statistik siehe Anlage).

In Abb. 24 d ist das PPR bei einem ISI von 50 ms vor und nach der LTP dargestellt. In der Kontrollgruppe wurde eine signifikante Änderung im PPR vor und nach der LTP gezeigt (vor LTP: 1,37 – nach LTP: *Kontrolle* (n= 8/ 6): $2,36 \pm 0,3$, Wilcoxon-Test W= 36, p= 0,0078; *PT des DA: 45 min vor 1x25 Hz* (n= 5/ 4): $1,43 \pm 0,2$, Wilcoxon-Test W= 5, p= 0,625).

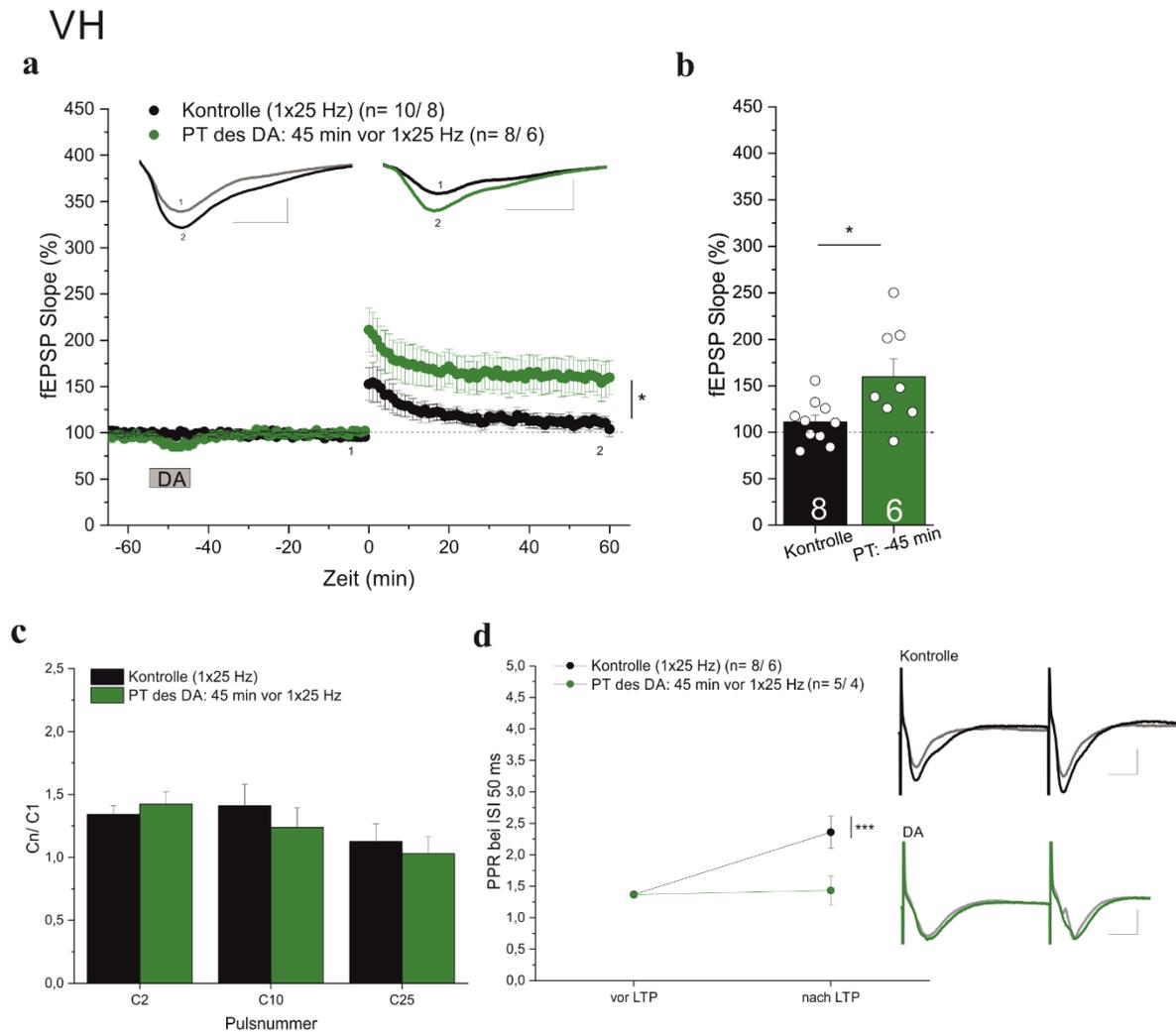


Abb. 24: LTP-verstärkender Effekt durch 10-minütige DA-Applikation 45 min vor LTP-Induktion mit 1x25 Hz-Stimulus im VH.

(a) Zeitlicher Verlauf der LTP-Messung der Kontrolle (schwarz; n= 10/ 8) und der einem PT des DA 45 min vor 1x25 Hz (grün; n= 8/ 6). Exemplarische Darstellung von repräsentativen originalen Feldpotentialspuren der letzten 10 min der Baseline-Messung (1) sowie die der letzten 10 min der gesamten Messung (2); **links:** Kontrolle, **rechts:** DA; Maßstabsbalken: 1 mV/ 5 ms.

(b) Balkenstreudiagramm der erreichten Potenzierung während der letzten 10 min der Messung. Zwischen beiden Gruppen konnte ein signifikanter Unterschied in der LTP nachgewiesen werden ($p \leq 0,05$ (*)).

(c) Die transiente, 10-minütige Anwesenheit von DA zeigte im Vergleich zur Kontrolle keine veränderte synaptische Ermüdung der SC-CA1-Synapsen. Die Balkendiagramme stellen das mittlere Verhältnis (auf den ersten Puls normiert) der fEPSP-Antworten der verschiedenen Pulsnummern (2, 10 und 25) dar. Es konnten in keinen der Pulsnummern signifikanten Unterschiede in den fEPSP-Antworten gezeigt werden ($p > 0,05$).

(d) Teilweise signifikante Änderungen im PPR bei ISI 50 ms vor und nach der LTP. Darstellung des PPR bei ISI 50 ms vor und nach der LTP der Kontrolle (schwarz; n= 8/ 6) und der bei einem PT des DA 45 min vor 1x25 Hz (grün; n= 5/ 4). Es konnte nur in der Kontrollgruppe ein signifikanter Unterschied im PPR vor und nach der LTP gezeigt werden ($p \leq 0,001$ (***)). In der Teilabbildung rechts sind exemplarisch repräsentative originale Feldpotentialspuren nach Paarpulsstimulation mit einem ISI von

50 ms vor (grau) und nach der LTP (Kontrolle: schwarz, DA: grün) dargestellt; **oben:** Kontrolle, **unten:** DA; Maßstabsbalken: 1 mV/ 10 ms.

Bei einer beginnenden 10-minütigen Inkubation der Hirnschnitte mit **DA 45 min nach** dem LTP-induzierenden 1x25 Hz-Stimulus konnte keine signifikante Erhöhung der e-LTP im Vergleich zur Kontrolle beobachtet werden (Abb. 25 a und b; *Kontrolle:* n= 9/ 8, LTP $136,91 \pm 15,8$ %; *PT des DA: 45 min nach 1x25 Hz:* n= 10/ 8, LTP $130,27 \pm 13,5$ %; Zweistichprobent-Test $t_{(16,27)} = 0,3194$, $p = 0,7535$).

Die Analyse der synaptischen Ermüdung der SC-CA1-Synapsen in Antwort auf den 1x25 Hz-Stimulus dieses Experiments ist in Abb. 25 c dargestellt und ergab in den ausgewählten Pulsnummern 2, 10, 50 und 100 keine signifikanten Unterschiede in den fEPSP-Antworten beider untersuchter Gruppen ($p > 0,05$). In Abb. 25 d ist das PPR bei einem ISI von 50 ms vor und nach der LTP ersichtlich. In beiden Gruppen konnte eine signifikante Änderung im PPR vor und nach der LTP gezeigt werden (vor LTP: 1,37 – nach LTP: *Kontrolle* (n= 9/ 8): $1,9 \pm 0,2$, Wilcoxon-Test $W = 39$, $p = 0,0195$; *PT des DA: 45 min nach 1x25 Hz* (n= 8/ 7): $2,19 \pm 0,5$, Wilcoxon-Test $W = 30$, $p = 0,0391$).

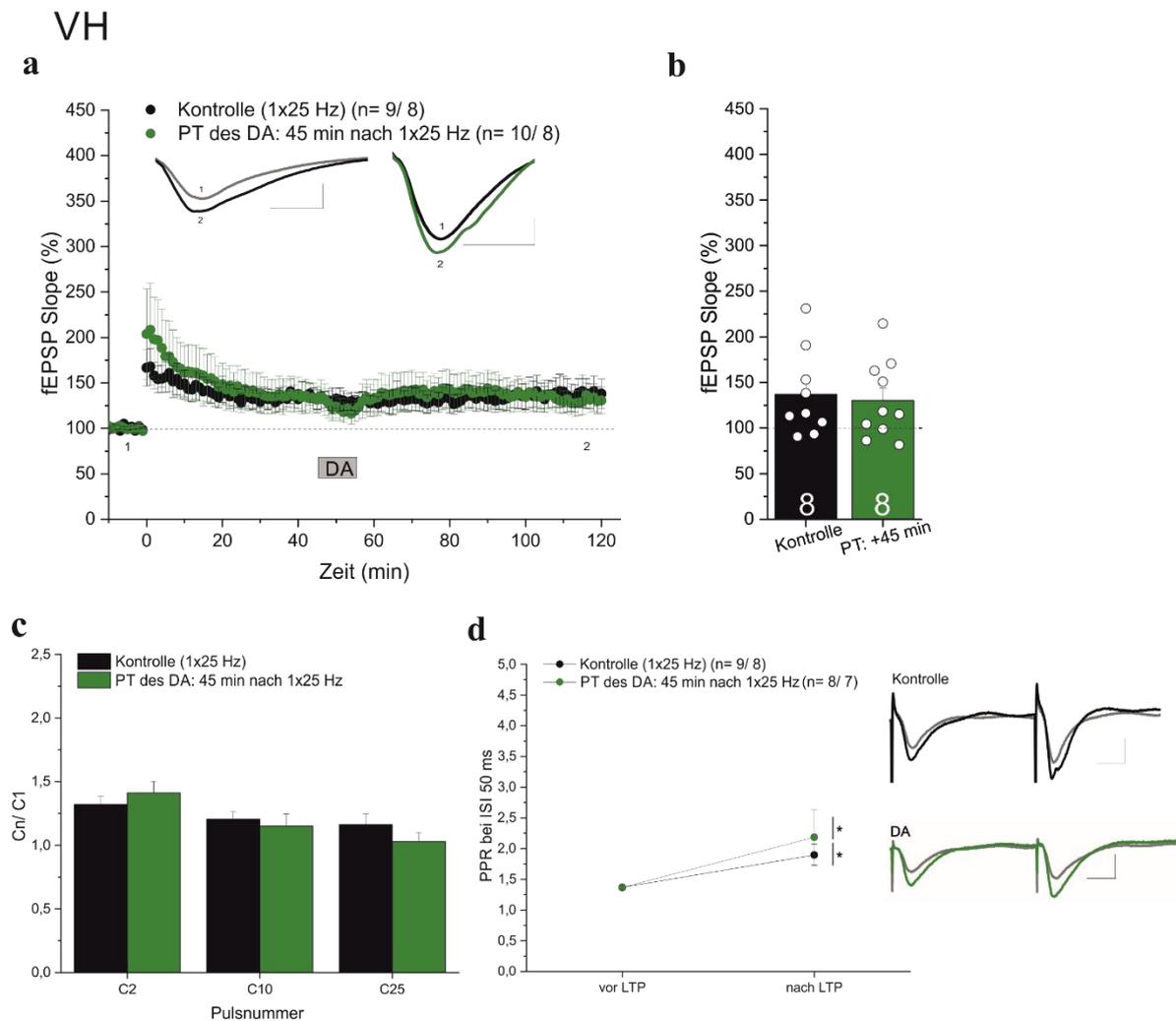


Abb. 25: Keine Veränderung in der LTP durch 10-minütige DA-Applikation 45 min nach LTP-Induktion mit 1x25 Hz-Stimulus im VH.

(a) Zeitlicher Verlauf der LTP-Messung der Kontrolle (schwarz; n= 9/ 8) und der einem PT des DA 45 min nach 1x25 Hz (grün; n= 10/ 8). Exemplarische Darstellung von repräsentativen originalen Feldpotentialspuren der 10-minütigen Baseline-Messung (1) sowie die der letzten 10 min der gesamten Messung (2); **links:** Kontrolle, **rechts:** DA; Maßstabsbalken: 1 mV/ 5 ms.

(b) Balkenstreuendiagramm der erreichten Potenzierung während der letzten 10 min der Messung. Zwischen beiden Gruppen konnte kein signifikanter Unterschied in der LTP nachgewiesen werden ($p > 0,05$).

(c) Darstellung der synaptischen Ermüdung der SC-CA1-Synapsen auf den LTP-induzierenden 1x25 Hz-Stimulus. Die Balkendiagramme zeigen das mittlere Verhältnis (auf den ersten Puls normiert) der fEPSP-Antworten der verschiedenen Pulsnummern (2, 10 und 25). In allen untersuchten Pulsnummern unterschieden sich die fEPSP-Antworten beider Gruppen nicht signifikant voneinander ($p > 0,05$).

(d) Signifikante Änderungen im PPR bei ISI 50 ms vor und nach der LTP. Darstellung des PPR bei ISI 50 ms vor und nach der LTP der Kontrolle (schwarz; n= 9/ 8) und der bei einem PT des DA 45 min nach 1x25 Hz (grün; n= 8/ 7). In beiden Gruppen konnte ein signifikanter Unterschied im PPR gezeigt werden ($p \leq 0,05$ (*)). In der Teilabbildung rechts sind exemplarisch repräsentative originale Feldpotentialspuren nach Paarpulsstimulation mit einem ISI von 50 ms vor (grau) und nach der LTP (Kontrolle: schwarz, DA: grün) dargestellt; **oben:** Kontrolle, **unten:** DA; Maßstabsbalken: 1 mV/ 10 ms.

3.2.3. Neuromodulatorische Wirkung von Noradrenalin auf die LTP im VH: Anwesenheit des NE zu verschiedenen Zeitpunkten: pro- oder retroaktive LTP-Verstärkung im VH

Auf Basis der LTP-steigernden Wirkung einer transienten NE-Applikation 10 min vor der LTP-Induktion im VIH erfolgte weiterführend die zeitabhängige Überprüfung der neuromodulatorischen Wirkung des NE im VH. Die 10-minütige, transiente NE-Inkubation erfolgte **45 min vor**, **10 min vor** (da im VIH signifikante Unterschiede zur Kontrolle gezeigt wurden) sowie **45 min nach** der LTP-Induktion mit 1x25 Hz-Stimulus.

Bei Abschluss der 10-minütigen Inkubation mit **NE 45 min vor** dem LTP-induzierenden 1x25 Hz-Stimulus konnte keine signifikante Veränderung der e-LTP nach 120 min im Vergleich zur Kontrolle gezeigt werden (Abb. 26 a und b, *Kontrolle*: n= 8/ 5, LTP $147,22 \pm 16,4$ %; *PT des NE: 45 min vor 1x25 Hz*: n= 8/ 6, LTP $138,47 \pm 13,5$ %; Zweistichproben-t-Test $t_{(13,49)}=0,4112$, $p= 0,6874$).

Die Analyse der synaptischen Ermüdung der SC-CA1-Synapsen in Antwort auf den 1x25 Hz-Stimulus zeigte eine durch die transiente, 10-minütige Applikation von NE signifikant erhöhte fEPSP-Antwort des zweiten Pulses im Vergleich zur Kontrolle (Mann-Whitney-U-Test $U= 9$, $p= 0,0148$). In allen anderen untersuchten Pulsnummern unterschieden sich die fEPSP-Antworten beider Gruppen nicht signifikant ($p > 0,05$) (Abb. 26 c; für Messwerte und Statistik siehe Anlage).

In Abb. 26 d ist das PPR bei einem ISI von 50 ms vor und nach der LTP dargestellt. In beiden untersuchten Gruppen wurde eine signifikante Änderung im PPR vor und nach der LTP gezeigt (vor LTP: 1,37 – nach LTP: *Kontrolle* (n= 7/ 5): $2,75 \pm 0,5$, Wilcoxon-Test $W= 28$, $p= 0,0156$; *PT des NE: 45 min vor 1x25 Hz* (n= 7/ 5): $2,33 \pm 0,3$, Wilcoxon-Test $W= 28$, $p= 0,0156$).

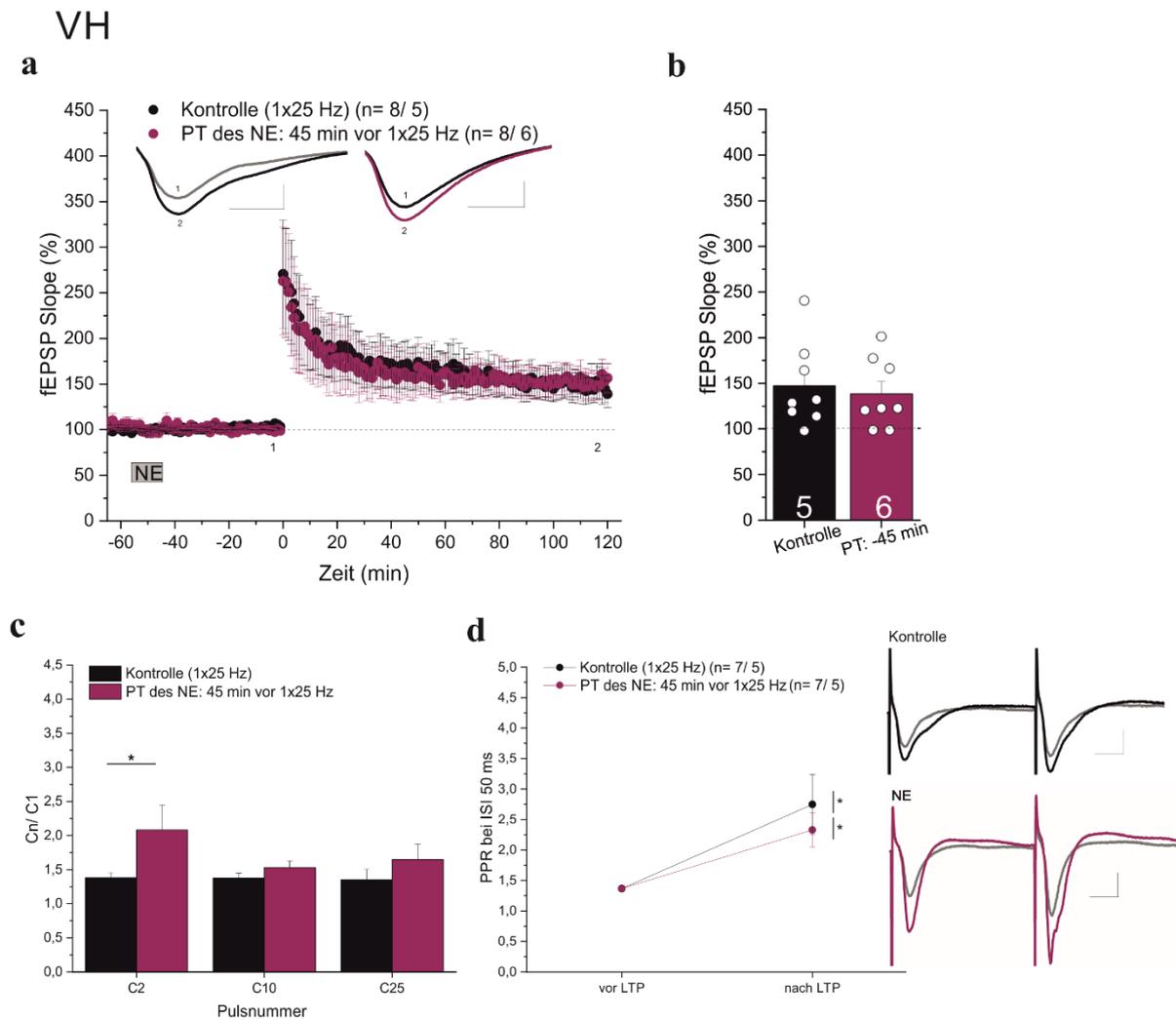


Abb. 26: Keine Veränderung in der LTP durch 10-minütige NE-Applikation 45 min vor LTP-Induktion mit 1x25 Hz-Stimulus im VH.

(a) Zeitlicher Verlauf der LTP-Messung der Kontrolle (schwarz; n= 8/ 5) und der einem PT des NE 45 min vor 1x25 Hz (magenta; n= 8/ 6). Exemplarische Darstellung von repräsentativen originalen Feldpotentialspuren der letzten 10 min der Baseline-Messung (1) sowie die der letzten 10 min der gesamten Messung (2); **links:** Kontrolle, **rechts:** NE; Maßstabsbalken: 1 mV/ 5 ms.

(b) Balkenstreudiagramm der erreichten Potenzierung während der letzten 10 min der Messung. Zwischen beiden Gruppen konnte kein signifikanter Unterschied in der LTP nachgewiesen werden ($p > 0,05$).

(c) Die transiente, 10-minütige Anwesenheit von NE zeigte im Vergleich zur Kontrolle eine teilweise veränderte synaptische Ermüdung der SC-CA1-Synapsen. Die Balkendiagramme stellen das mittlere Verhältnis (auf den ersten Puls normiert) der fEPSP-Antworten der verschiedenen Pulsnummern (2, 10 und 25) dar. Es konnten beim zweiten Puls signifikante Unterschiede in den fEPSP-Antworten gezeigt werden ($p \leq 0,05$ (*)). In allen anderen Pulsnummern unterschieden sich die fEPSP-Antworten beiden Gruppen nicht signifikant ($p > 0,05$).

(d) Signifikante Änderungen im PPR bei ISI 50 ms vor und nach der LTP. Darstellung des PPR bei ISI 50 ms vor und nach der LTP der Kontrolle (schwarz; n= 14/ 8) und der bei einem PT des NE 45 min vor 1x100 Hz (magenta; n= 7/ 5). In beiden Gruppen konnte ein signifikanter Unterschied im PPR vor und nach der LTP gezeigt werden ($p \leq 0,05$ (*)). In der Teilabbildung rechts sind exemplarisch repräsentative originale Feldpotentialspuren nach Paarpulsstimulation mit einem ISI von 50 ms vor

(grau) und nach der LTP (Kontrolle: schwarz, NE: magenta) dargestellt; **oben:** Kontrolle, **unten:** NE; Maßstabsbalken: 1 mV/ 10 ms.

Wurde eine 10-minütige **NE**-Inkubation **10 min vor** dem LTP-induzierenden 1x25 Hz-Stimulus abgeschlossen, konnte keine signifikante Erhöhung der e-LTP im Vergleich zur Kontrollgruppe gezeigt werden (Abb. 27 a und b; *Kontrolle*: n= 9/ 5, LTP $121,64 \pm 12,0$ %; *PT des NE: 10 min vor 1x25 Hz*: n= 7/ 6, LTP $120,81 \pm 7,4$ %; Zweistichproben-t-Test $t_{(12,82)} = 0,0591$, p= 0,9538).

Die Analyse der synaptischen Ermüdung der SC-CA1-Synapsen in Antwort auf den 1x25 Hz-Stimulus ergab in den ausgewählten Pulsnummern 2, 10 und 25 keine signifikanten Unterschiede in den fEPSP-Antworten der beiden untersuchten Gruppen (p> 0,05) (Abb. 27 c; für Messwerte und Statistik siehe Anlage).

In Abb. 27 d ist das PPR bei einem ISI von 50 ms vor und nach der LTP dargestellt. In der Gruppe des PT des NE 10 min vor 1x25 Hz konnte eine signifikante Änderung im PPR vor und nach der LTP gezeigt werden (vor LTP: 1,37 – nach LTP: *Kontrolle* (n= 7/ 6): $1,97 \pm 0,3$, Wilcoxon-Test W= 22, p= 0,0781; *PT des NE: 10 min vor 1x25 Hz* (n= 7/ 6): $2,23 \pm 0,2$, Wilcoxon-Test W= 28, p= 0,0156).

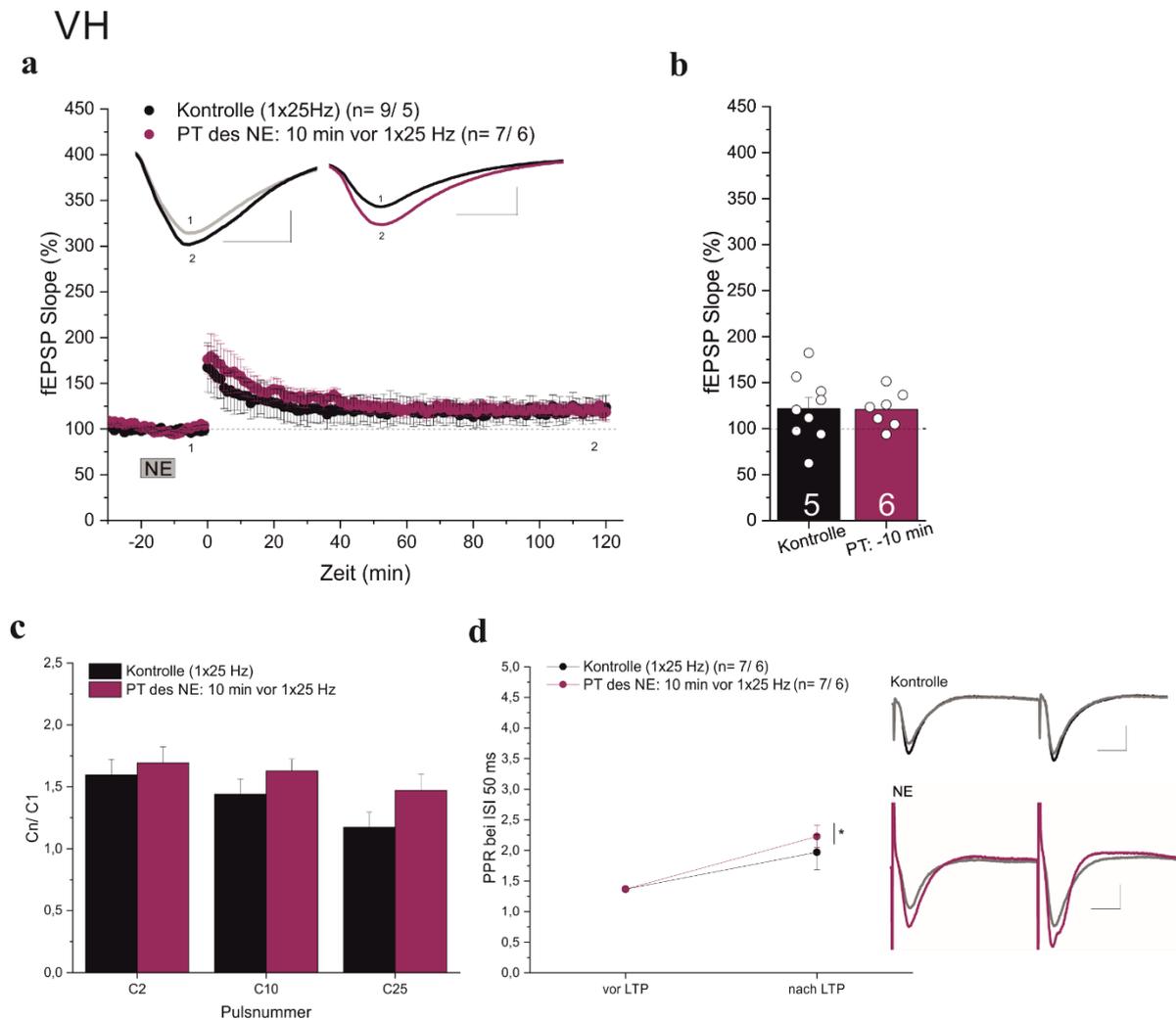


Abb. 27: Keine Veränderung in der LTP durch 10-minütige NE-Applikation 10 min vor LTP-Induktion mit 1x25 Hz-Stimulus im VH.

(a) Zeitlicher Verlauf der LTP-Messung der Kontrolle (schwarz; n= 9/ 5) und der einem PT des NE 10 min vor 1x25 Hz (magenta; n= 7/ 6). Exemplarische Darstellung von repräsentativen originalen Feldpotentialspuren der letzten 10 min der Baseline-Messung (1) sowie die der letzten 10 min der gesamten Messung (2); **links:** Kontrolle, **rechts:** NE; Maßstabsbalken: 1 mV/ 5 ms.

(b) Balkenstreudiagramm der erreichten Potenzierung während der letzten 10 min der Messung. Zwischen beiden Gruppen konnte kein signifikanter Unterschied in der LTP nachgewiesen werden ($p > 0,05$).

(c) Die transiente, 10-minütige Anwesenheit von NE zeigte im Vergleich zur Kontrolle keine veränderte synaptische Ermüdung der SC-CA1-Synapsen. Die Balkendiagramme stellen das mittlere Verhältnis (auf den ersten Puls normiert) der fEPSP-Antworten der verschiedenen Pulsnummern (2, 10 und 25) dar. Es konnten in keinen der Pulsnummern signifikante Unterschiede in den fEPSP-Antworten gezeigt werden ($p > 0,05$).

(d) Teilweise signifikante Änderungen im PPR bei ISI 50 ms vor und nach der LTP. Darstellung des PPR bei ISI 50 ms vor und nach der LTP der Kontrolle (schwarz; n= 7/ 6) und der bei einem PT des NE 10 min vor 1x25 Hz (magenta; n= 7/ 6). Es konnte nur in der Gruppe der PT des NE ein signifikanter Unterschied im PPR vor und nach der LTP gezeigt werden ($p \leq 0,05$ (*)). In der Teilabbildung rechts sind exemplarisch repräsentative originale Feldpotentialspuren nach Paarpulsstimulation mit einem ISI

von 50 ms vor (grau) und nach der LTP (Kontrolle: schwarz, NE: magenta) dargestellt; **oben:** Kontrolle, **unten:** NE; Maßstabsbalken: 1 mV/ 10 ms.

Bei einer beginnenden Inkubation der Hirnschnitte mit **NE 45 min nach** dem LTP-induzierenden 1x25 Hz-Stimulus konnte keine signifikante Erhöhung der e-LTP nach 120 min im Vergleich zur Kontrolle beobachtet werden (Abb. 28 a und b; *Kontrolle:* n= 9/ 8, LTP $136,91 \pm 15,8 \%$; *PT des NE: 45 min nach 1x25 Hz:* n= 6/ 6, LTP $135,02 \pm 15,4 \%$; Zweistichproben-t-Test $t_{(12,46)} = 0,0862$, $p = 0,9327$).

Die Analyse der synaptischen Ermüdung der SC-CA1-Synapsen in Antwort auf den 1x25 Hz-Stimulus dieses Experiments ist in Abb. 28 c dargestellt; in Abb. 28 d ist das PPR bei einem ISI von 50 ms vor und nach der LTP ersichtlich und ergab in den ausgewählten Pulsnummern 2, 10, 50 und 100 keine signifikanten Unterschiede in den fEPSP-Antworten beider untersuchter Gruppen ($p > 0,05$). In der Kontrollgruppe konnte eine signifikante Änderung im PPR vor und nach der LTP gezeigt werden (vor LTP: 1,37 – nach LTP: *Kontrolle* (n= 9/ 8): $1,9 \pm 0,2$, Wilcoxon-Test $W = 39$, $p = 0,0195$; *PT des NE: 45 min nach 1x25 Hz* (n= 6/ 6): $2,51 \pm 0,6$, Wilcoxon-Test $W = 17$, $p = 0,093$).

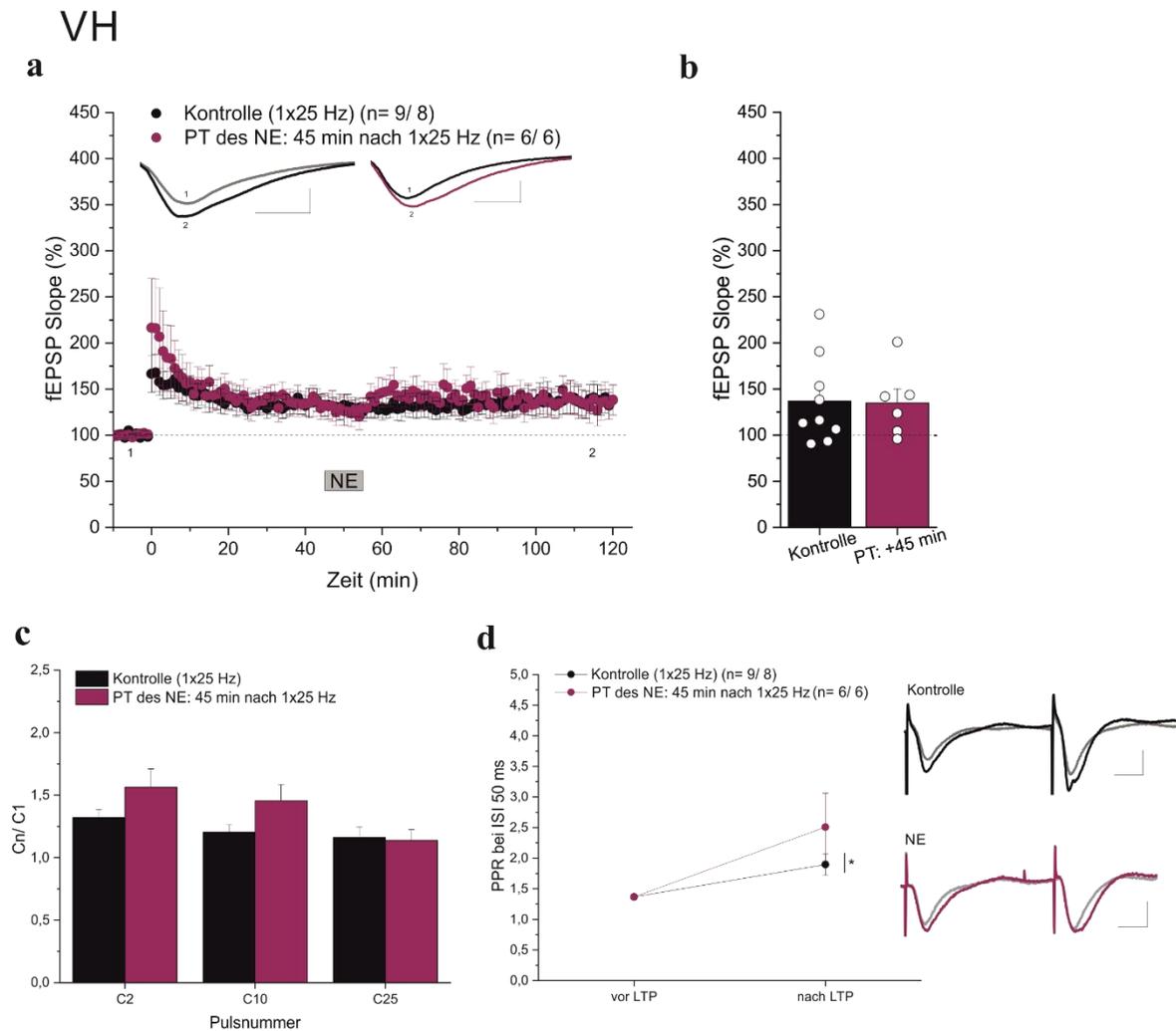


Abb. 28: Keine Veränderung in der LTP durch 10-minütige NE-Applikation 45 min nach LTP-Induktion mit 1x25 Hz-Stimulus im VH.

(a) Zeitlicher Verlauf der LTP-Messung der Kontrolle (schwarz; n= 9/ 8) und der einem PT des NE 45 min nach 1x25 Hz (magenta; n= 6/ 6). Exemplarische Darstellung von repräsentativen originalen Feldpotentialspuren der 10-minütigen Baseline-Messung (1) sowie die der letzten 10 min der gesamten Messung (2); **links:** Kontrolle, **rechts:** NE; Maßstabsbalken: 1 mV/ 5 ms.

(b) Balkenstreuendiagramm der erreichten Potenzierung während der letzten 10 min der Messung. Zwischen beiden Gruppen konnte kein signifikanter Unterschied in der LTP nachgewiesen werden ($p > 0,05$).

(c) Darstellung der synaptischen Ermüdung der SC-CA1-Synapsen auf den LTP-induzierenden 1x25 Hz-Stimulus. Die Balkendiagramme zeigen das mittlere Verhältnis (auf den ersten Puls normiert) der fEPSP-Antworten der verschiedenen Pulsnummern (2, 10 und 25). In allen untersuchten Pulsnummern unterschieden sich die fEPSP-Antworten beider Gruppen nicht signifikant voneinander ($p > 0,05$).

(d) Signifikante Änderungen im PPR bei ISI 50 ms vor und nach der LTP. Darstellung des PPR bei ISI 50 ms vor und nach der LTP der Kontrolle (schwarz; n= 9/ 8) und der bei einem PT des NE 45 min nach 1x25 Hz (magenta; n= 6/ 6). In beiden Gruppen konnte ein signifikanter Unterschied im PPR vor und nach der LTP gezeigt werden ($p \leq 0,05$ (*)). In der Teilabbildung rechts sind exemplarisch repräsentative originale Feldpotentialspuren nach Paarpulsstimulation mit einem ISI von 50 ms vor (grau) und nach

der LTP (Kontrolle: schwarz, NE: magenta) dargestellt; **oben:** Kontrolle, **unten:** NE; Maßstabsbalken: 1 mV/ 10 ms.

3.3. Dorsaler Hippocampus (DH)

3.3.1. Im DH bedingt der 1x25 Hz-Tetanus eine schwache, nicht saturierte e-LTP

Im DH erfolgte die ebenfalls notwendige Etablierung des für diesen Bereich des Hippocampus effizienten LTP-Induktionsprotokolls, welches zu einer schwachen, nicht saturierten e-LTP führt.

Im Vergleich zu einer Stimulation mit einem 3x100 Hz-Tetanus konnte gezeigt werden, dass der ebenfalls im VH schwache 1x25 Hz-Tetanus als LTP-induzierender Stimulus geeignet ist. Der angewandte 3x100 Hz-Stimulus rief im Gegensatz zum 1x25 Hz-Stimulus eine LTP hervor, die sich signifikant von der Baseline (100 %) unterschied (Abb. 29 a und b; *3x100 Hz*: $n = 7/4$; LTP $155,85 \pm 9,4 \%$, Einstichproben-t-Test $t_{(6)} = 5,957$, $p = 0,0010$; *1x25 Hz*: $n = 8/3$; LTP $115,99 \pm 7,4 \%$; Einstichproben-t-Test $t_{(7)} = 2,159$, $p = 0,0677$). Beide Stimuli unterschieden sich signifikant voneinander (Zweistichproben-t-Test $t_{(11,86)} = 3,332$, $p = 0,006$).

In Abb. 29 c ist das PPR bei einem ISI von 50 ms vor und nach der LTP dargestellt. In beiden Gruppen konnte eine signifikante Änderung im PPR vor und nach der LTP gezeigt werden (vor LTP: $1,82 \pm 0,1$ – nach LTP: *3x100 Hz* ($n = 7/4$): $4,28 \pm 0,7$, Wilcoxon-Test $W = 28$, $p = 0,0156$; *1x25 Hz* ($n = 8/3$): $3,65 \pm 0,4$, Wilcoxon-Test $W = 36$, $p = 0,0078$).

Die zu diesem Experiment gehörende Reiz-Reaktionskurve, PPR (ISIs: 20, 50, 100 und 200 ms) sowie die Analyse der synaptischen Ermüdung der SC-CA1-Synapsen auf die beiden LTP-induzierenden 3x100 Hz- und 1x25 Hz-Stimuli sind in der Anlage, in Abb. A 7 zusammengefasst dargestellt.

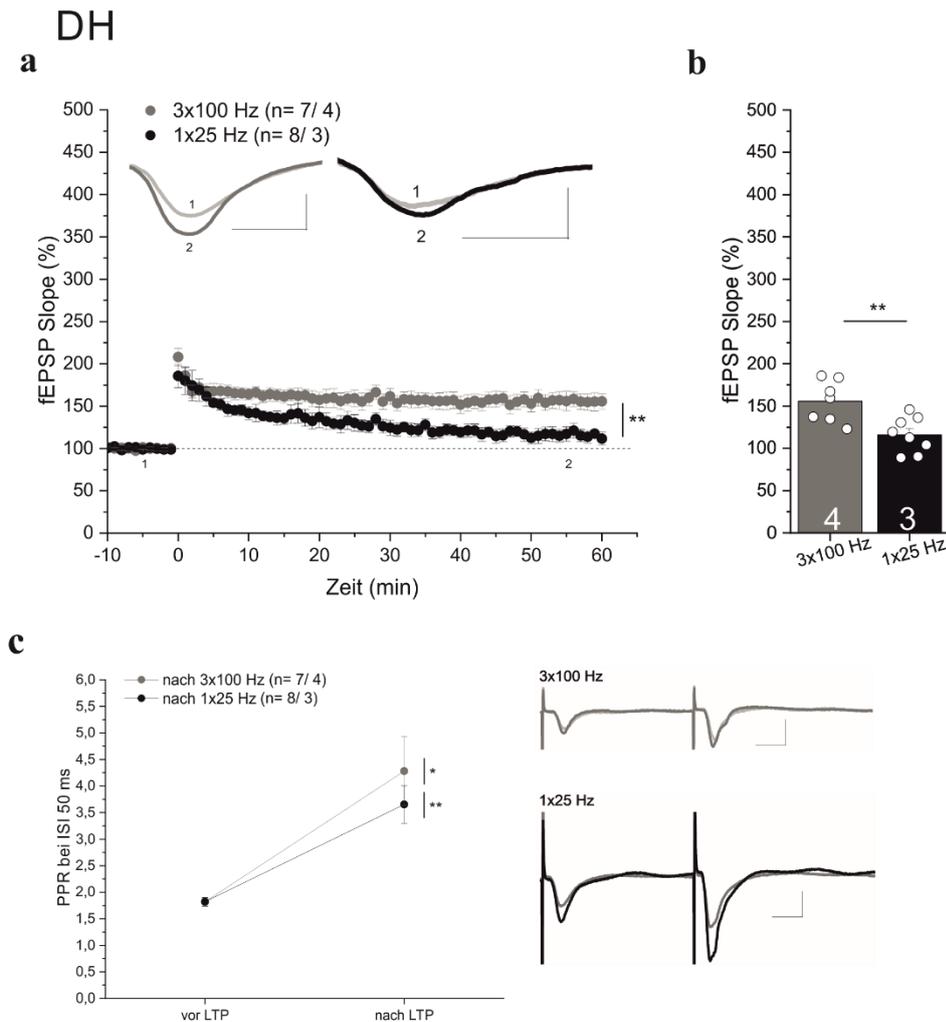


Abb. 29: Signifikant reduzierte LTP an SC-CA1-Synapsen im DH nach Stimulation mit 1x25 Hz im Vergleich zu einer Stimulation mit 3x100 Hz.

(a) Zeitlicher Verlauf der LTP-Messung unter Verwendung eines 3x100 Hz- (grau; n= 7/ 4) bzw. 1x25 Hz- (schwarz; n= 8/ 3) Protokolls. Exemplarische Darstellung von repräsentativen originalen Feldpotentialspuren der 10-minütigen Baseline-Messung (1) sowie die der letzten 10 min der gesamten Messung (2); **links:** 3x100 Hz, **rechts:** 1x25 Hz; Maßstabsbalken: 1 mV/ 5 ms.

(b) Balkenstreudiagramm der erreichten Potenzierung während der letzten 10 min der Messung. Zwischen beiden Gruppen konnte ein signifikanter Unterschied in der LTP nachgewiesen werden ($p \leq 0,01$ (**)).

(c) Signifikante Änderungen im PPR bei ISI 50 ms vor und nach der LTP. Darstellung des PPR bei ISI 50 ms vor und nach der LTP bei einer Stimulation mit 3x100 Hz (grau; n= 7/4) und bei einer Stimulation mit 1x25 Hz (schwarz; n= 8/ 3). In beiden Gruppen konnte ein signifikanter Unterschied im PPR vor und nach der LTP gezeigt werden ($p \leq 0,05$ (*), $p \leq 0,01$ (**)). In der Teilabbildung rechts sind exemplarisch repräsentative originale Feldpotentialspuren nach Paarpulsstimulation mit einem ISI von 50 ms vor (hellgrau) und nach der LTP (3x100 Hz: grau, 1x25 Hz: schwarz) dargestellt; **oben:** 3x100 Hz, **unten:** 1x25 Hz; Maßstabsbalken: 1 mV/ 10 ms.

3.3.2. Neuromodulatorische Wirkung von Dopamin auf die LTP im DH: Anwesenheit des DA zu verschiedenen Zeitpunkten: LTP wird im DH pro-, jedoch nicht retroaktiv verstärkt

Die proaktive LTP-verstärkende Wirkung einer DA-Applikation, die im VIH und VH gezeigt wurde, sollte im Rahmen dieser Experimente im DH überprüft werden. Dazu erfolgte die 10-minütige DA-Applikation **45 min vor** (proaktiv) sowie **45 min nach** dem LTP-induzierenden 1x25 Hz-Stimulus (retroaktiv), um eine möglicherweise ausschließlich im VH auftretende retroaktive Wirkung des DA auf die e-LTP zu untersuchen.

Die durchgeführten Reiz-Reaktionskurven und PPR (ISIs: 20, 50, 100 und 200 ms) finden sich zusammengefasst in der Anlage Abb. A 8.

Bei Abschluss der 10-minütigen Inkubation des **DA 45 min vor** dem LTP-induzierenden 1x25 Hz-Stimulus wurde eine im Vergleich zur Kontrolle signifikante Erhöhung der e-LTP gezeigt (Abb. 30 a und b; *Kontrolle*: n= 12/ 7, LTP $128,58 \pm 7,9$ %; *PT des DA: 45 min vor 1x25 Hz*: n= 13/ 9, LTP $191,96 \pm 29,0$ %; Mann-Whitney-U-Test U= 35, p= 0,0187).

Die Analyse der synaptischen Ermüdung der SC-CA1-Synapsen in Antwort auf den 1x25 Hz-Stimulus ergab in den ausgewählten Pulsnummern 2, 10 und 25 keine signifikanten Unterschiede in den fEPSP-Antworten beider untersuchten Gruppen ($p > 0,05$) (Abb. 30 c; für Messwerte und Statistik siehe Anlage).

In Abb. 30 d ist das PPR bei einem ISI von 50 ms vor und nach der LTP dargestellt. In beiden Gruppen konnte eine signifikante Änderung im PPR vor und nach der LTP ermittelt werden (vor LTP: 1,78 – nach LTP: *Kontrolle* (n= 12/ 7): $3,74 \pm 0,4$, Wilcoxon-Test W= 78, p= 0,0005; *PT des DA: 45 min vor 1x25 Hz* (n= 13/ 9): $4,09 \pm 0,6$, Wilcoxon-Test W= 91, p= 0,0002).

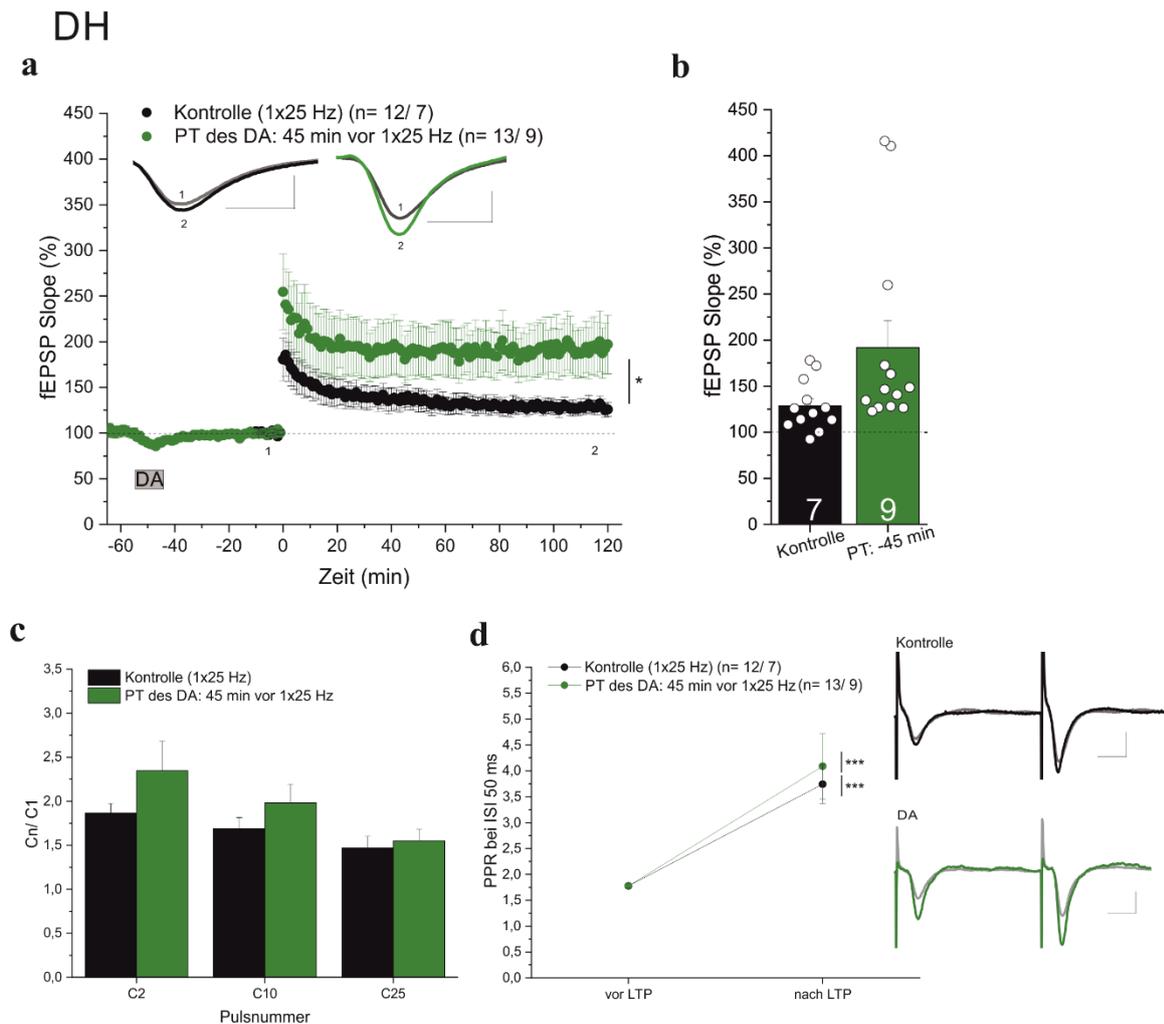


Abb. 30: LTP-verstärkender Effekt durch 10-minütige DA-Applikation 45 min vor LTP-Induktion mit 1x25 Hz-Stimulus im DH.

(a) Zeitlicher Verlauf der LTP-Messung der Kontrolle (schwarz; n= 12/ 7) und der einem PT des DA 45 min vor 1x25 Hz (grün; n= 13/ 9). Exemplarische Darstellung von repräsentativen originalen Feldpotentialspuren der letzten 10 min der Baseline-Messung (1) sowie die der letzten 10 min der gesamten Messung (2); **links:** Kontrolle, **rechts:** DA; Maßstabsbalken: 1 mV/ 5 ms.

(b) Balkenstreuendiagramm der erreichten Potenzierung während der letzten 10 min der Messung. Zwischen beiden Gruppen konnte ein signifikanter Unterschied in der LTP nachgewiesen werden ($p \leq 0,05$ (*)).

(c) Die transiente, 10-minütige Anwesenheit von DA zeigte im Vergleich zur Kontrolle keine veränderte synaptische Ermüdung der SC-CA1-Synapsen. Die Balkendiagramme stellen das mittlere Verhältnis (auf den ersten Puls normiert) der fEPSP-Antworten der verschiedenen Pulsnummern (2, 10 und 25) dar. Es konnten in keinen der Pulsnummern signifikanten Unterschiede in den fEPSP-Antworten gezeigt werden ($p > 0,05$).

(d) Signifikante Änderungen im PPR bei ISI 50 ms vor und nach der LTP. Darstellung des PPR bei ISI 50 ms vor und nach der LTP der Kontrolle (schwarz; n= 12/ 7) und der bei einem PT des DA 45 min vor 1x25 Hz (grün; n= 13/ 9). In beiden Gruppen konnte ein signifikanter Unterschied im PPR vor und nach der LTP gezeigt werden ($p \leq 0,001$ (***)). In der Teilabbildung rechts sind exemplarisch repräsentative originale Feldpotentialspuren nach Paarpulsstimulation mit einem ISI von 50 ms vor (grau) und nach der LTP (Kontrolle: schwarz, DA: grün) dargestellt; **oben:** Kontrolle, **unten:** DA; Maßstabsbalken: 1 mV/ 10 ms.

Bei einer beginnenden 10-minütigen Inkubation der Hirnschnitte mit **DA 45 min nach** dem LTP-induzierenden 1x25 Hz-Stimulus konnte keine signifikante Erhöhung der e-LTP im Vergleich zur Kontrolle beobachtet werden (Abb. 31 a und b; *Kontrolle*: n= 12/ 7, LTP $128,58 \pm 7,9 \%$; *PT des DA: 45 min nach 1x25 Hz*: n= 14/ 8, LTP $127,31 \pm 7,5 \%$; Zweistichproben-t-Test $t_{(23,54)} = 0,1161$, $p = 0,9086$).

Die Analyse der synaptischen Ermüdung der SC-CA1-Synapsen in Antwort auf den 1x25 Hz-Stimulus dieses Experiments ist in Abb. 31 c dargestellt und ergab in den ausgewählten Pulsnummern 2, 10, 50 und 100 keine signifikanten Unterschiede in den fEPSP-Antworten beider untersuchter Gruppen ($p > 0,05$). In Abb. 31 d ist das PPR bei einem ISI von 50 ms vor und nach der LTP ersichtlich. In beiden Gruppen konnte eine signifikante Änderung im PPR vor und nach der LTP gezeigt werden (vor LTP: 1,78 – nach LTP: *Kontrolle* (n= 12/ 7): $3,74 \pm 0,4$, Wilcoxon-Test $W = 78$, $p = 0,0005$; *PT des DA: 45 min nach 1x25 Hz* (n= 13/ 8): $3,39 \pm 0,4$, Wilcoxon-Test $W = 89$, $p = 0,0005$).

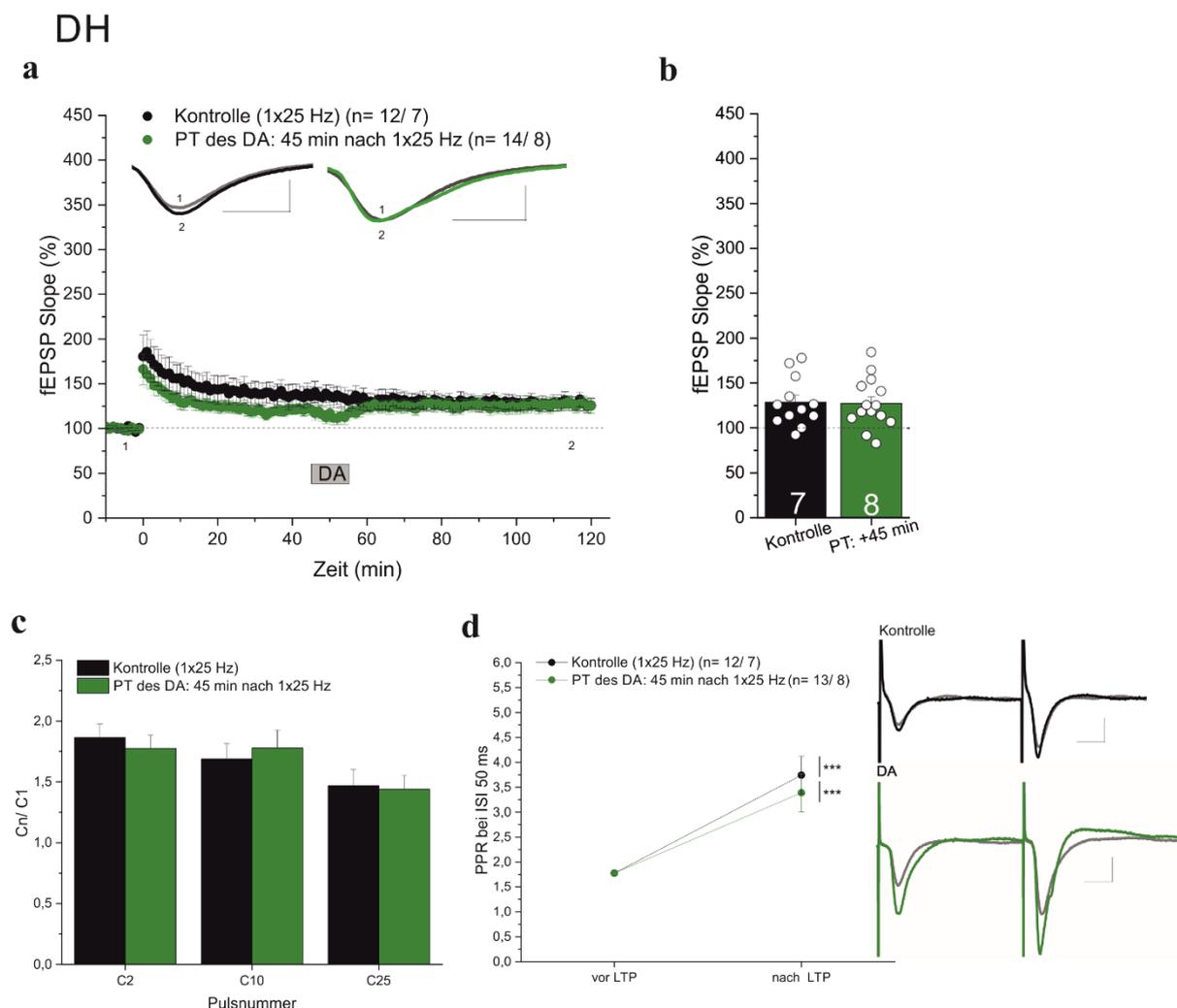


Abb. 31: Keine Veränderung in der LTP durch 10-minütige DA-Applikation 45 min nach LTP-Induktion mit 1x25 Hz-Stimulus im DH.

(a) Zeitlicher Verlauf der LTP-Messung der Kontrolle (schwarz; n= 12/ 7) und der einem PT des DA 45 min nach 1x25 Hz (grün; n= 14/ 8). Exemplarische Darstellung von repräsentativen originalen Feldpotentialspuren der 10-minütigen Baseline-Messung (1) sowie die der letzten 10 min der gesamten Messung (2); **links:** Kontrolle, **rechts:** DA; Maßstabsbalken: 1 mV/ 5 ms.

(b) Balkenstreudiagramm der erreichten Potenzierung während der letzten 10 min der Messung. Zwischen beiden Gruppen konnte kein signifikanter Unterschied in der LTP nachgewiesen werden ($p > 0,05$).

(c) Darstellung der synaptischen Ermüdung der SC-CA1-Synapsen auf den LTP-induzierenden 1x25 Hz-Stimulus. Die Balkendiagramme zeigen das mittlere Verhältnis (auf den ersten Puls normiert) der fEPSP-Antworten der verschiedenen Pulsnummern (2, 10 und 25). In allen untersuchten Pulsnummern unterschieden sich die fEPSP-Antworten beider Gruppen nicht signifikant voneinander ($p > 0,05$).

(d) Signifikante Änderungen im PPR bei ISI 50 ms vor und nach der LTP. Darstellung des PPR bei ISI 50 ms vor und nach der LTP der Kontrolle (schwarz; n= 12/ 7) und der bei einem PT des DA 45 min nach 1x25 Hz (grün; n= 13/ 8). In beiden Gruppen konnte ein signifikanter Unterschied im PPR vor und nach der LTP gezeigt werden ($p \leq 0,001$ (***)). In der Teilabbildung rechts sind exemplarisch repräsentative originale Feldpotentialspuren nach Paarpulsstimulation mit einem ISI von 50 ms vor (grau) und nach der LTP (Kontrolle: schwarz, DA: grün) dargestellt; **oben:** Kontrolle, **unten:** DA; Maßstabsbalken: 1 mV/ 10 ms.

3.3.3. Neuromodulatorische Wirkung von Noradrenalin auf die LTP im DH: Anwesenheit des NE zu verschiedenen Zeitpunkten: keine pro- oder retroaktive LTP-Verstärkung

Die im VIH gezeigte e-LTP-verstärkende Wirkung der transienten Applikation von NE 10 min vor der LTP-Induktion wurde weiterführend im DH überprüft. Dazu wurde zur Vergleichbarkeit der Datenreihen entlang der hippocampalen longitudinalen Achse die NE-Inkubation **45 min vor**, **10 min vor** sowie **45 min nach** der LTP-Induktion mit dem 1x25 Hz-Stimulus vorgenommen.

Bei Abschluss der 10-minütigen **NE**-Inkubation **45 min vor** dem LTP-induzierenden 1x25 Hz-Stimulus wurde keine signifikante Veränderung der e-LTP nach 120 min im Vergleich zur Kontrollgruppe gezeigt (Abb. 32 a und b; *Kontrolle:* n= 12/ 7, LTP $128,58 \pm 7,9$ %; *PT des NE: 45 min vor 1x25 Hz:* n= 9/ 6, LTP $150,21 \pm 16,1$ %; Zweistichproben-t-Test $t_{(11,83)} = 1,05$, $p = 0,2516$).

Die Analyse der synaptischen Ermüdung der SC-CA1-Synapsen auf den 1x25 Hz-Stimulus ergab in den ausgewählten Pulsnummern 2, 10 und 25 keine signifikanten Unterschiede in den fEPSP-Antworten beider untersuchter Gruppen ($p > 0,05$) (Abb. 32 c; für Messwerte und Statistik siehe Anlage).

In Abb. 32 d ist das PPR bei einem ISI von 50 ms vor und nach der LTP dargestellt. Es konnte

in der Kontrollgruppe eine signifikante Änderung im PPR vor und nach der LTP gezeigt werden (vor LTP: 1,78 – nach LTP: *Kontrolle* (n= 12/ 7): $3,74 \pm 0,4$, Wilcoxon-Test $W=78$, $p= 0,0005$; *PT des NE: 45 min vor 1x25 Hz* (n= 8/ 5): $3,03 \pm 0,4$, Wilcoxon-Test $W= 28$, $p= 0,0547$).

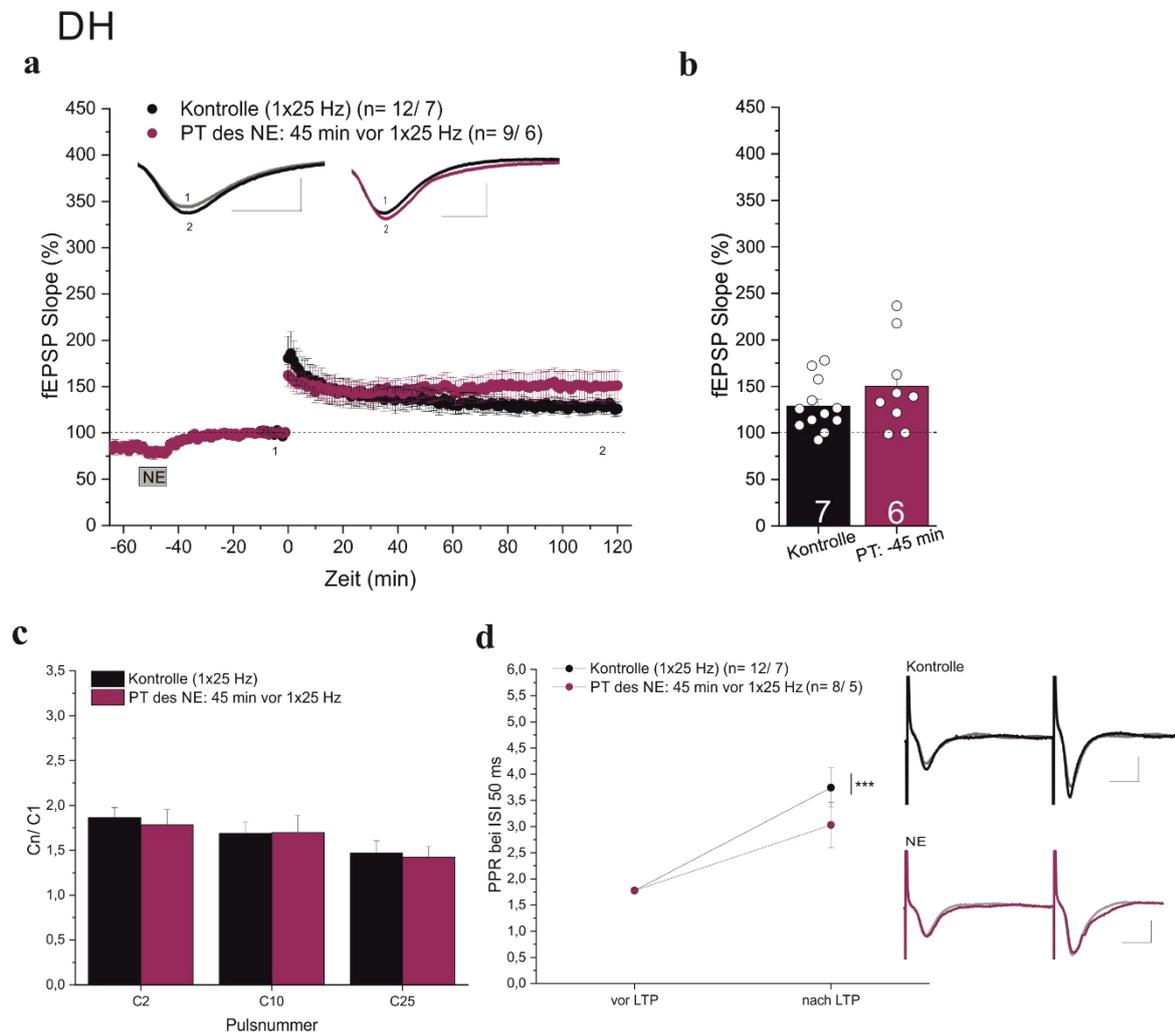


Abb. 32: Keine Veränderung in der LTP durch 10-minütige NE-Applikation 45 min vor LTP-Induktion mit 1x25 Hz-Stimulus im DH.

(a) Zeitlicher Verlauf der LTP-Messung der Kontrolle (schwarz; n= 12/ 7) und der einem PT des NE 45 min vor 1x25 Hz (magenta; n= 9/ 6). Exemplarische Darstellung von repräsentativen originalen Feldpotentialspuren der letzten 10 min der Baseline-Messung (1) sowie die der letzten 10 min der gesamten Messung (2); **links:** Kontrolle, **rechts:** NE; Maßstabsbalken: 1 mV/ 5 ms.

(b) Balkenstreudiagramm der erreichten Potenzierung während der letzten 10 min der Messung. Zwischen beiden Gruppen konnte kein signifikanter Unterschied in der LTP nachgewiesen werden ($p > 0,05$).

(c) Die transiente, 10-minütige Anwesenheit von NE zeigte im Vergleich zur Kontrolle keine veränderte synaptische Ermüdung der SC-CA1-Synapsen. Die Balkendiagramme stellen das mittlere Verhältnis (auf den ersten Puls normiert) der fEPSP-Antworten der verschiedenen Pulsnummern (2, 10 und 25) dar. Es konnten in keinen der Pulsnummern signifikanten Unterschiede in den fEPSP-Antworten gezeigt werden ($p > 0,05$).

(d) Signifikante Änderungen im PPR bei ISI 50 ms vor und nach der LTP. Darstellung des PPR bei ISI 50 ms vor und nach der LTP der Kontrolle (schwarz; n= 12/ 7) und der bei einem PT des NE 45 min

vor 1x25 Hz (magenta; n= 8/ 5). In der Kontrollgruppe konnte ein signifikanter Unterschied im PPR vor und nach der LTP gezeigt werden ($p \leq 0,001$ (***)). In der Teilabbildung rechts sind exemplarisch repräsentative originale Feldpotentialspuren nach Paarpulsstimulation mit einem ISI von 50 ms vor (grau) und nach der LTP (Kontrolle: schwarz, NE: magenta) dargestellt; **oben:** Kontrolle, **unten:** NE; Maßstabsbalken: 1 mV/ 10 ms.

Wurde eine 10-minütige Inkubation von **NE 10 min vor** dem LTP-induzierenden 1x25 Hz-Stimulus abgeschlossen, konnte keine signifikante Erhöhung der e-LTP im Vergleich zur Kontrollgruppe beobachtet werden (Abb. 33 a und b; *Kontrolle:* n= 8/ 6, LTP $156,38 \pm 15,9$ %; *PT des NE: 10 min vor 1x25 Hz:* n= 10/ 7, LTP $169,15 \pm 11,4$ %; Zweistichproben-t-Test $t_{(13,32)} = 1,216$, $p = 0,2452$).

Die Analyse der synaptischen Ermüdung der SC-CA1-Synapsen auf den 1x25 Hz-Stimulus ergab in den ausgewählten Pulsnummern 2, 10 und 25 keine signifikanten Unterschiede in den fEPSP-Antworten der beiden untersuchten Gruppen ($p > 0,05$) (Abb. 33 c; für Messwerte und Statistik siehe Anlage).

In Abb. 33 d ist das PPR bei einem ISI von 50 ms vor und nach der LTP dargestellt. In beiden Gruppen konnte eine signifikante Änderung im PPR vor und nach der LTP gezeigt werden (vor LTP: 1,78 – nach LTP: *Kontrolle* (n= 7/ 5): $3,31 \pm 0,3$, Wilcoxon-Test $W = 26$, $p = 0,0313$; *PT des NE: 10 min vor 1x25 Hz* (n= 8/ 5): $3,15 \pm 0,4$, Wilcoxon-Test $W = 30$, $p = 0,0391$).

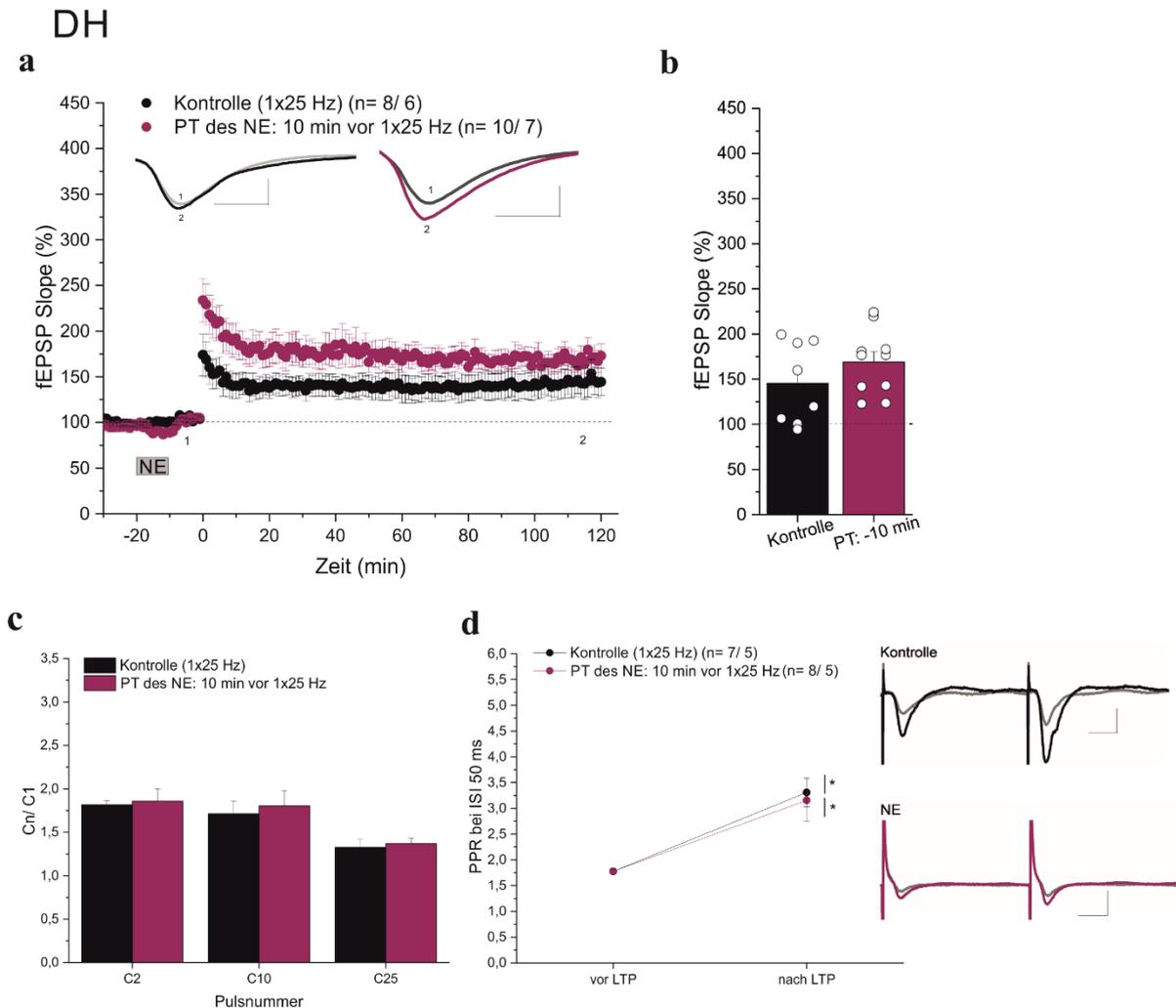


Abb. 33: Keine Veränderung in der LTP durch 10-minütige NE-Applikation 10 min vor LTP-Induktion mit 1x25 Hz-Stimulus im DH.

(a) Zeitlicher Verlauf der LTP-Messung der Kontrolle (schwarz; n= 8/ 6) und der einem PT des NE 10 min vor 1x25 Hz (magenta; n= 10/ 7). Exemplarische Darstellung von repräsentativen originalen Feldpotentialspuren der letzten 10 min der Baseline-Messung (1) sowie die der letzten 10 min der gesamten Messung (2); **links:** Kontrolle, **rechts:** NE; Maßstabsbalken: 1 mV/ 5 ms.

(b) Balkenstreudiagramm der erreichten Potenzierung während der letzten 10 min der Messung. Zwischen beiden Gruppen konnte kein signifikanter Unterschied in der LTP nachgewiesen werden ($p > 0,05$).

(c) Die transiente, 10-minütige Anwesenheit von NE zeigte im Vergleich zur Kontrolle keine veränderte synaptische Ermüdung der SC-CA1-Synapsen. Die Balkendiagramme stellen das mittlere Verhältnis (auf den ersten Puls normiert) der fEPSP-Antworten der verschiedenen Pulsnummern (2, 10 und 25) dar. Es konnten in keinen der Pulsnummern signifikanten Unterschiede in den fEPSP-Antworten gezeigt werden ($p > 0,05$).

(d) Signifikante Änderungen im PPR bei ISI 50ms vor und nach der LTP. Darstellung des PPR bei ISI 50 ms vor und nach der LTP der Kontrolle (schwarz; n= 7/ 5) und der bei einem PT des NE 10 min vor 1x25 Hz (magenta; n= 8/ 5). In beiden Gruppen konnte ein signifikanter Unterschied im PPR vor und nach der LTP gezeigt werden ($p \leq 0,05$ (*)). In der Teilabbildung rechts sind exemplarisch repräsentative originale Feldpotentialspuren nach Paarpulsstimulation mit einem ISI von 50 ms vor (grau) und nach

der LTP (Kontrolle: schwarz, NE: magenta) dargestellt; **oben:** Kontrolle, **unten:** NE; Maßstabsbalken: 1 mV/ 10 ms.

Bei einer beginnenden **NE**-Inkubation **45 min nach** dem LTP-induzierenden 1x25 Hz-Stimulus wurde keine signifikante Veränderung der e-LTP nach 120 min im Vergleich zur Kontrolle gezeigt (Abb. 34 a und b; *Kontrolle*: n= 12/ 7, LTP $128,58 \pm 7,9 \%$; *PT des NE: 45 min nach 1x25 Hz*: n= 12/ 7, LTP $133,03 \pm 11,2 \%$; Zweistichproben-t-Test $t_{(19,81)} = 0,3249$, $p = 0,7487$). Die Analyse der synaptischen Ermüdung der SC-CA1-Synapsen auf den 1x25 Hz-Stimulus dieses Experiments ist in Abb. 34 c dargestellt und ergab in den ausgewählten Pulsnummern 2, 10, 50 und 100 keine signifikanten Unterschiede in den fEPSP-Antworten beider untersuchter Gruppen ($p > 0,05$). In Abb. 34 d ist das PPR bei einem ISI von 50 ms vor und nach der LTP ersichtlich. In beiden Gruppen konnte eine signifikante Änderung im PPR vor und nach der LTP gezeigt werden (vor LTP: 1,78 – nach LTP: *Kontrolle* (n= 12/ 7): $3,74 \pm 0,4$, Wilcoxon-Test $W = 78$, $p = 0,0005$; *PT des NE: 45 min nach 1x25 Hz* (n= 11/ 7): $2,86 \pm 0,2$, Wilcoxon-Test $W = 58$, $p = 0,0068$).

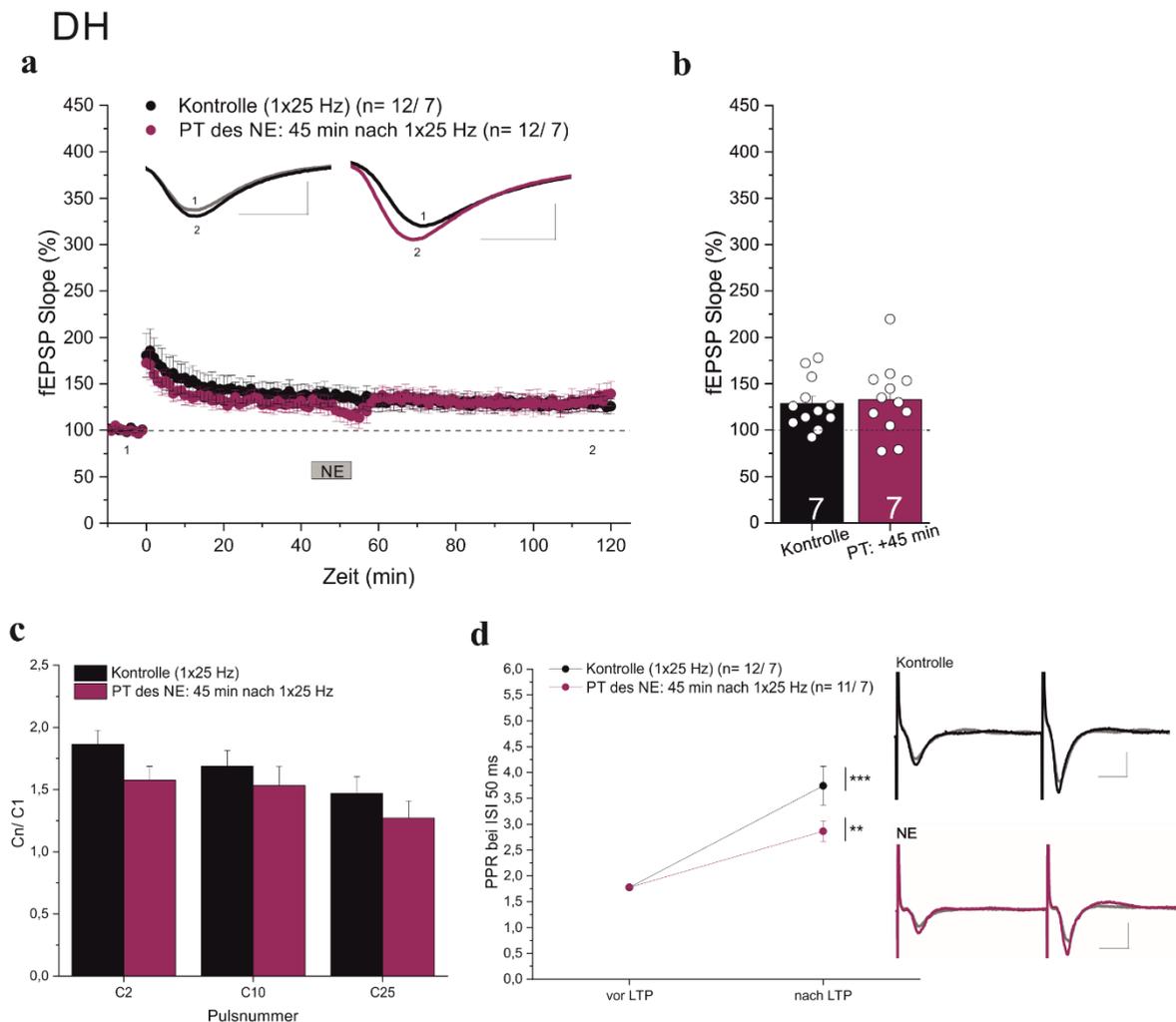


Abb. 34: Keine Veränderung in der LTP durch 10-minütige NE-Applikation 45 min nach LTP-Induktion mit 1x25 Hz-Stimulus im DH.

(a) Zeitlicher Verlauf der LTP-Messung der Kontrolle (schwarz; n= 12/ 7) und der einem PT des NE 45 min nach 1x25 Hz (magenta; n= 12/ 7). Exemplarische Darstellung von repräsentativen originalen Feldpotentialspuren der 10-minütigen Baseline-Messung (1) sowie die der letzten 10 min der gesamten Messung (2); **links:** Kontrolle, **rechts:** NE; Maßstabsbalken: 1 mV/ 5 ms.

(b) Balkenstreuendiagramm der erreichten Potenzierung während der letzten 10 min der Messung. Zwischen beiden Gruppen konnte kein signifikanter Unterschied in der LTP nachgewiesen werden ($p > 0,05$).

(c) Darstellung der synaptischen Ermüdung der SC-CA1-Synapsen auf den LTP-induzierenden Stimulus 1x25 Hz. Die Balkendiagramme zeigen das mittlere Verhältnis (auf den ersten Puls normiert) der fEPSP-Antworten der verschiedenen Pulsnummern (2, 10 und 25). In allen untersuchten Pulsnummern unterschieden sich die fEPSP-Antworten beider Gruppen nicht signifikant voneinander ($p > 0,05$).

(d) Signifikante Änderungen im PPR bei ISI 50 ms vor und nach der LTP. Darstellung des PPR bei ISI 50 ms vor und nach der LTP der Kontrolle (schwarz; n= 12/ 7) und der bei einem PT des NE 45 min nach 1x25 Hz (magenta; n= 11/ 7). In beiden Gruppen konnte ein signifikanter Unterschied in der PPR vor und nach der LTP gezeigt werden ($p \leq 0,01$ (**), $p \leq 0,001$ (***)). In der Teilabbildung rechts sind exemplarisch repräsentative originale Feldpotentialspuren nach Paarpulsstimulation mit einem ISI von

50 ms vor (grau) und nach der LTP (Kontrolle: schwarz, NE: magenta) dargestellt; **oben:** Kontrolle, **unten:** NE; Maßstabsbalken: 1 mV/ 10 ms.

3.3.4. Tabellarische Zusammenfassung der bisherigen Hauptergebnisse des DA- und NE-Primings entlang der longitudinalen Achse

Region	LTP-induzierender Stimulus	PT: -45 min		PT: -10 min		PT: 0 min		PT: +10 min		PT: +45 min	
		Proaktive Applikation des NM		Aktive Applikation des NM		Retroaktive Applikation des NM		Retroaktive Applikation des NM		Retroaktive Applikation des NM	
		DA	NE	DA	NE	DA	NE	DA	NE	DA	NE
VIH	1x100 Hz	191,12 ±	164,99 ±	143,03 ±	219,97 ±	166,79 ±	164,17 ±	134,57 ±	161,41 ±	157,95 ±	162,82 ±
		19,4 % (*)	18,6 %	19,0 %	30,9 % (*)	13,0 %	20,2 %	22,9 %	22,9 %	18,8 %	29,3 %
VH	1x25 Hz	159,91 ±	138,47 ±	120,81 ±				130,27 ±	135,02 ±		
		18,9 % (*)	13,5 %	7,4 %				13,5 %	15,4 %		
DH	1x25 Hz	191,96 ±	150,21 ±	169,15 ±				127,31 ±	133,03 ±		
		29,0 % (*)	16,1 %	11,4 %				7,5 %	11,2 %		

Tabelle 1: Zusammenfassung der bisherigen e-LTP Hauptergebnisse des DA- und NE-Primings in den verschiedenen Regionen des Hippocampus. Die Zahlenwerte (Mittelwert ± SEM) geben die erreichte Potenzierung (in %) der letzten 10 min der Messung und ggf. signifikante Unterschiede (*, $p \leq 0,05$) zur jeweiligen Kontrollmessung (ohne Anwesenheit des Neuromodulators) an. Aufgrund der im VIH im Vergleich zur Kontrollmessung statistisch signifikanten Effekte des DA- und NE-Primings auf die e-LTP (DA effektiv bei PT -45 min, NE bei PT -10 min) wurden sowohl im VH als auch im DH zu den o.g. effektiven Zeitpunkten diese Priming-Experimente mit DA bzw. NE durchgeführt (geschwungene Pfeile). Zur Detektion möglicher intrahippocampaler Unterschiede erfolgte die Applikation von DA und NE ebenfalls pro- und retroaktiv, d.h. 45 min vor bzw. 45 min nach der LTP-Induktion (Podespfeile). DA- Dopamin, DH- dorsaler Hippocampus, NE- Noradrenalin, NM- Neuromodulator, PT- Anwesenheit der Neurotransmitter zu unterschiedlichen Zeitpunkten bezogen auf den LTP-induzierenden Stimulus (Vorzeichen -: proaktive Applikation, d.h. vor der LTP-Induktion, Vorzeichen +: retroaktive Applikation, d.h. nach der LTP-Induktion), VH- ventraler Hippocampus, VIH- ventral-intermediärer Hippocampus.

3.3.5. Kombinierte neuromodulatorische Wirkung beider Neurotransmitter Dopamin und Noradrenalin auf die LTP im DH: 45 min vor und 45 min nach der LTP-Induktion

Im Rahmen dieser Experimente wurde untersucht, inwieweit eine 10-minütige Inkubation der Hirnschnitte mit den Neurotransmittern Dopamin bzw. Noradrenalin 45 min **vor und nach** dem LTP-induzierenden 1x25 Hz-Stimulus die e-LTP beeinflusst oder möglicherweise sogar verstärkt.

Weiterhin erfolgte ein experimentbezogener BDNF-ELISA: nach Abschluss der Experimente wurde der BDNF-Gehalt der Hippocampi bestimmt, an denen die elektrophysiologischen Messungen durchgeführt wurden (_Stimulation) und mit denen der lediglich in der Messkammer befindlichen Hippocampi, d.h. ohne jegliche Stimulation (_passiv) verglichen.

3.3.5.1. Die proaktive Applikation von Dopamin verstärkt die e-LTP mit additiver retroaktiver Applikation von Dopamin bzw. Noradrenalin im DH nicht

Es wurde untersucht, ob die bereits gezeigte alleinige proaktive LTP-steigernde Wirkung einer 10-minütigen **DA**-Applikation **45 min vor** dem LTP-Stimulus durch eine **zusätzliche** retroaktive Applikation von **DA bzw. NE 45 min nach** dem LTP-induzierenden Stimulus zu einer (weiteren) Verstärkung der e-LTP führt.

Bei einer kombinierten 10-minütigen Inkubation der Hirnschnitte mit **DA 45 min vor und 45 min nach** dem LTP-induzierenden 1x25 Hz-Stimulus konnte keine signifikante Veränderung der e-LTP im Vergleich zur Kontrolle gezeigt werden (Abb. 35 a und b; *Kontrolle*: n= 9/ 6, LTP $138,53 \pm 8,3$ %; *kombinierte Applikation von DA-DA bei einem PT 45 min vor und nach 1x25 Hz*: n= 7/ 5, LTP $145,71 \pm 12,2$ %; Zweistichproben-t-Test $t_{(11,11)} = 0,486$, p= 0,6364). In Abb. 35 c ist das PPR bei einem ISI von 50 ms vor und nach der LTP dargestellt. In beiden Gruppen konnte eine signifikante Änderung im PPR vor und nach der LTP gezeigt werden (vor LTP: 1,78 – nach LTP: *Kontrolle* (n= 9/ 6): $3,73 \pm 0,9$, Wilcoxon-Test W= 43, p= 0,0078; *kombinierte Applikation von DA-DA bei einem PT 45 min vor und nach 1x25 Hz* (n= 6/ 5): $3,76 \pm 0,6$, Wilcoxon-Test W= 21, p= 0,0313).

Im Rahmen des durchgeführten BDNF-ELISA wurden zwischen der Kontroll- (K; N= 9) und DA-DA-Gruppe (N= 8) unter den Bedingungen der passiven, d.h. unstimulierten Anwesenheit in der Kammer (_passiv) und der stimulierten akuten Schnitten (_Stimulation) keine

signifikanten Unterschiede in den BDNF-Gehalten gezeigt (Abb. 35 d; BDNF-Gehalt (in pg/mg Gesamtprotein): *K_passiv* (n/ x= 9/ 22): $1018,98 \pm 103,4$; *K_Stimulation* (n= 11): $890,3 \pm 76,4$; *DA-DA_passiv* (n/ x= 11/ 21): $1028,2 \pm 119,4$; *DA-DA_Stimulation* (n= 10): $1049,71 \pm 97,3$; einfaktorielle Anova $F_{(3,37)} = 0,5402$, $p = 0,6578$).

Zusätzlich wurde der BDNF-Gehalt mit der Potenzierung der letzten 10 min der LTP-Messungen für beide Gruppen korreliert. In der Kontrollgruppe zeigte sich ein mittlerer linearer Zusammenhang (Abb. 35 e; n= 9/ 6; $r = 0,477$, $p = 0,1939$), wohingegen die DA-DA-Gruppe keinen linearen Zusammenhang zwischen LTP-Werten und den dazugehörigen BDNF-Gehalten aufwies (Abb. 35 f; n= 7/ 5; $r = 0,056$, $p = 0,9168$).

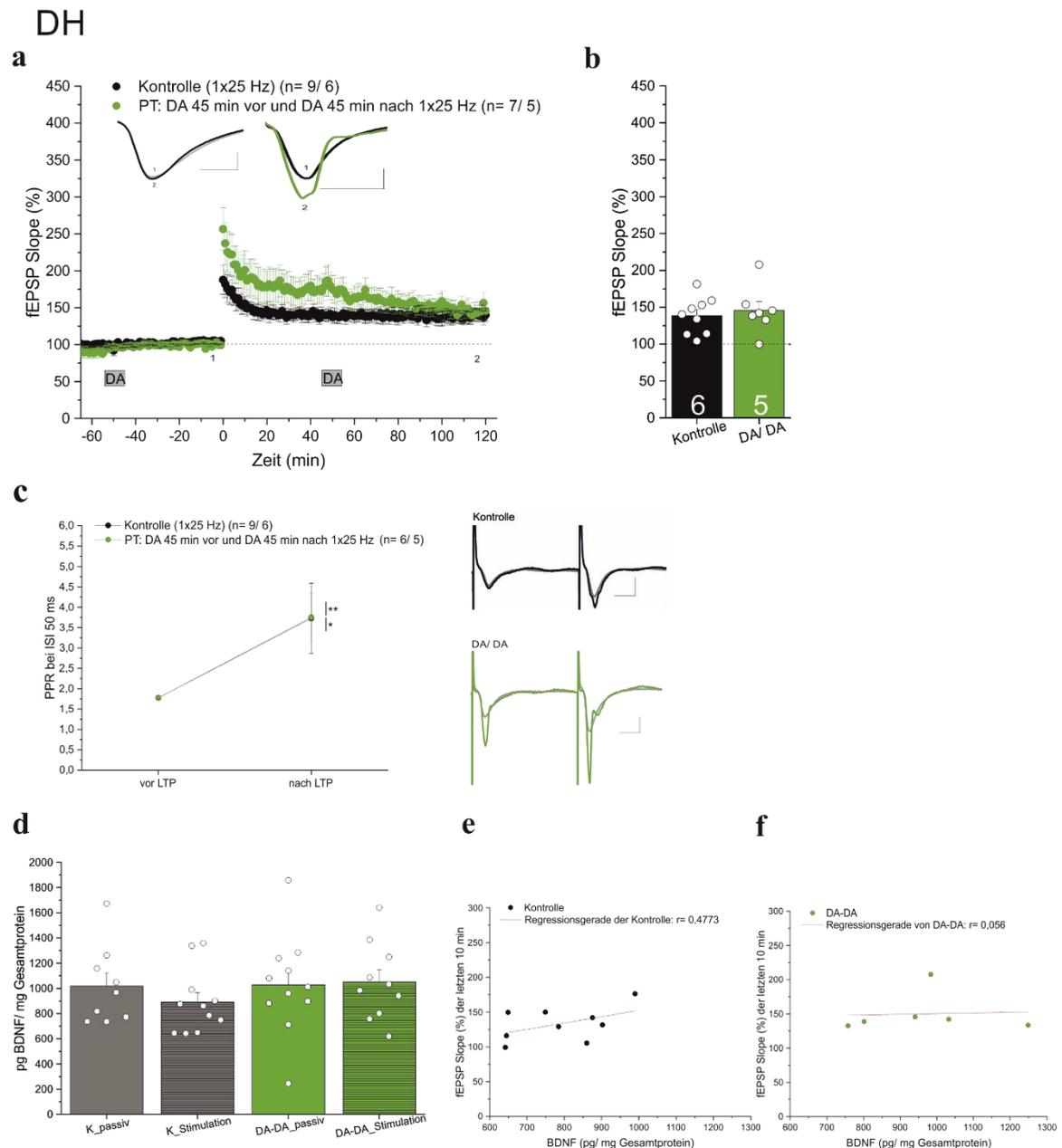


Abb. 35: Kein LTP-verstärkender Effekt durch die kombinierte Applikation des DA 45 min vor und nach der LTP-Induktion mit 1x25 Hz-Stimulus im DH.

(a) Zeitlicher Verlauf der LTP-Messung der Kontrolle (schwarz; n= 9/ 6) und der einer kombinierten Applikation von DA-DA bei einem PT 45 min vor und nach 1x25 Hz (hellgrün; n= 13/ 9). Exemplarische Darstellung von repräsentativen originalen Feldpotentialspuren der letzten 10 min der Baseline-Messung (1) sowie die der letzten 10 min der gesamten Messung (2); **links:** Kontrolle, **rechts:** DA-DA; Maßstabsbalken: 1 mV/ 5 ms.

(b) Balkenstreudiagramm der erreichten Potenzierung während der letzten 10 min der Messung. Zwischen beiden Gruppen zeigt sich kein signifikanter Unterschied in der LTP ($p > 0,05$).

(c) Darstellung des PPR bei ISI 50 ms vor und nach der LTP der Kontrolle (schwarz; n= 9/ 6) und der einer kombinierten Applikation von DA-DA bei einem PT 45 min vor und nach 1x25 Hz (hellgrün; n= 6/ 5). In beiden Gruppen konnte ein signifikanter Unterschied im PPR vor und nach der LTP gezeigt werden ($p \leq 0,05$ (*), $p \leq 0,01$ (**)). In der Teilabbildung rechts sind exemplarisch repräsentative originale Feldpotentialspuren nach Paarpulsstimulation mit einem ISI von 50 ms vor (grau) und nach

der LTP (Kontrolle: schwarz, DA-DA: hellgrün) dargestellt; **oben:** Kontrolle, **unten:** DA-DA; Maßstabsbalken: 1 mV/ 10 ms.

(d) Darstellung der BDNF-Gehalte der Kontrolle (K; grau; N= 9) und der einer kombinierten Wirkung bei einem PT des DA 45 min vor und nach 1x25 Hz (DA-DA; hellgrün; N= 8) unter den Bedingungen der passiven, unstimulierten Anwesenheit in der Kammer (_passiv) sowie der stimulierten Hirnschnitte (_Stimulation, schraffiert).

Es konnten keine signifikanten Unterschiede in den BDNF-Gehalten gezeigt werden ($p > 0,05$). **(e)** Korrelation des BDNF-Gehaltes mit der Potenzierung der letzten 10 min der LTP-Messung mit Regressionsgerade der Kontrolle (schwarz) bzw.

(f) der einer kombinierten Applikation von DA-DA bei einem PT 45 min vor und nach 1x25 Hz (hellgrün). Die Differenz in der Anzahl von Datenpunkten derselben Gruppe zwischen (d) und (e) bzw. (f) liegt an den Einschlusskriterien für LTP-Messungen und BDNF-ELISA-Messungen sowie den Ergebnissen des Outlier-Tests (siehe dazu Erläuterungen im Material- und Methodenteil).

Bei einer kombinierten 10-minütigen Inkubation der Hirnschnitte mit **DA 45 min vor und NE 45 min nach** dem LTP-induzierenden 1x25 Hz-Stimulus wurde keine signifikante Veränderung der e-LTP im Vergleich zur Kontrollgruppe gezeigt (Abb. 36 a und b; *Kontrolle:* n= 9/ 6, LTP $138,53 \pm 8,3$ %; *kombinierte Applikation von DA-NE bei einem PT des DA 45 min vor und NE 45 min nach 1x25 Hz:* n= 11/ 7, LTP $186,90 \pm 26,6$ %; Mann-Whitney-U-Test $U = 35$, $p = 0,2887$).

In Abb. 36 c ist das PPR bei einem ISI von 50 ms vor und nach der LTP dargestellt. In der Kontrollgruppe wurde eine signifikante Änderung im PPR vor und nach der LTP gezeigt (vor LTP: 1,78 – nach LTP: *Kontrolle* (n= 9/ 6): $3,73 \pm 0,9$, Wilcoxon-Test $W = 43$, $p = 0,0078$; *kombinierte Applikation von DA-NE bei einem PT des DA 45 min vor und NE 45 min nach 1x25 Hz* (n= 9/ 7): $3,53 \pm 0,8$, Wilcoxon-Test $W = 33$, $p = 0,0547$).

Im Rahmen des durchgeführten BDNF-ELISA konnten in den Hippocampi zwischen der Kontroll- (K; N= 9) und der DA-NE-Gruppe (N= 7) unter den Bedingungen der passiven, d.h. unstimulierten Anwesenheit in der Kammer (_passiv) und der stimulierten akuten Schnitten (_Stimulation) mithilfe der Varianzanalyse keine signifikanten Unterschiede in den BDNF-Gehalten gezeigt werden (Abb. 36 d; BDNF-Gehalt (in pg/ mg Gesamtprotein): *K_passiv* (n/ x= 9/ 22): $1018,98 \pm 103,4$; *K_Stimulation* (n= 11): $890,3 \pm 76,4$; *DA-NE_passiv* (n/ x= 9/ 25): $744,47 \pm 36,7$; *DA-NE_Stimulation* (n= 11): $701,79 \pm 62,4$; einfaktorielle Anova $F_{(3,36)} = 3,764$, $p = 0,019$). Der zusätzlich durchgeführte *Post-hoc* Tukey-Test ergab keinen Unterschied. Zusätzlich wurde der BDNF-Gehalt mit der Potenzierung der letzten 10 min der LTP-Messungen für beide Gruppen korreliert. In der Kontrollgruppe zeigte sich ein mittlerer linearer

Zusammenhang (Abb. 36 e; $n=9/6$; $r=0,477$, $p=0,1939$), wohingegen die DA-NE-Gruppe nur einen schwachen Zusammenhang zwischen LTP-Werten und den dazugehörigen BDNF-Gehalten aufwies (Abb. 36 f; $n=11/7$; $r=-0,167$, $p=0,6235$).

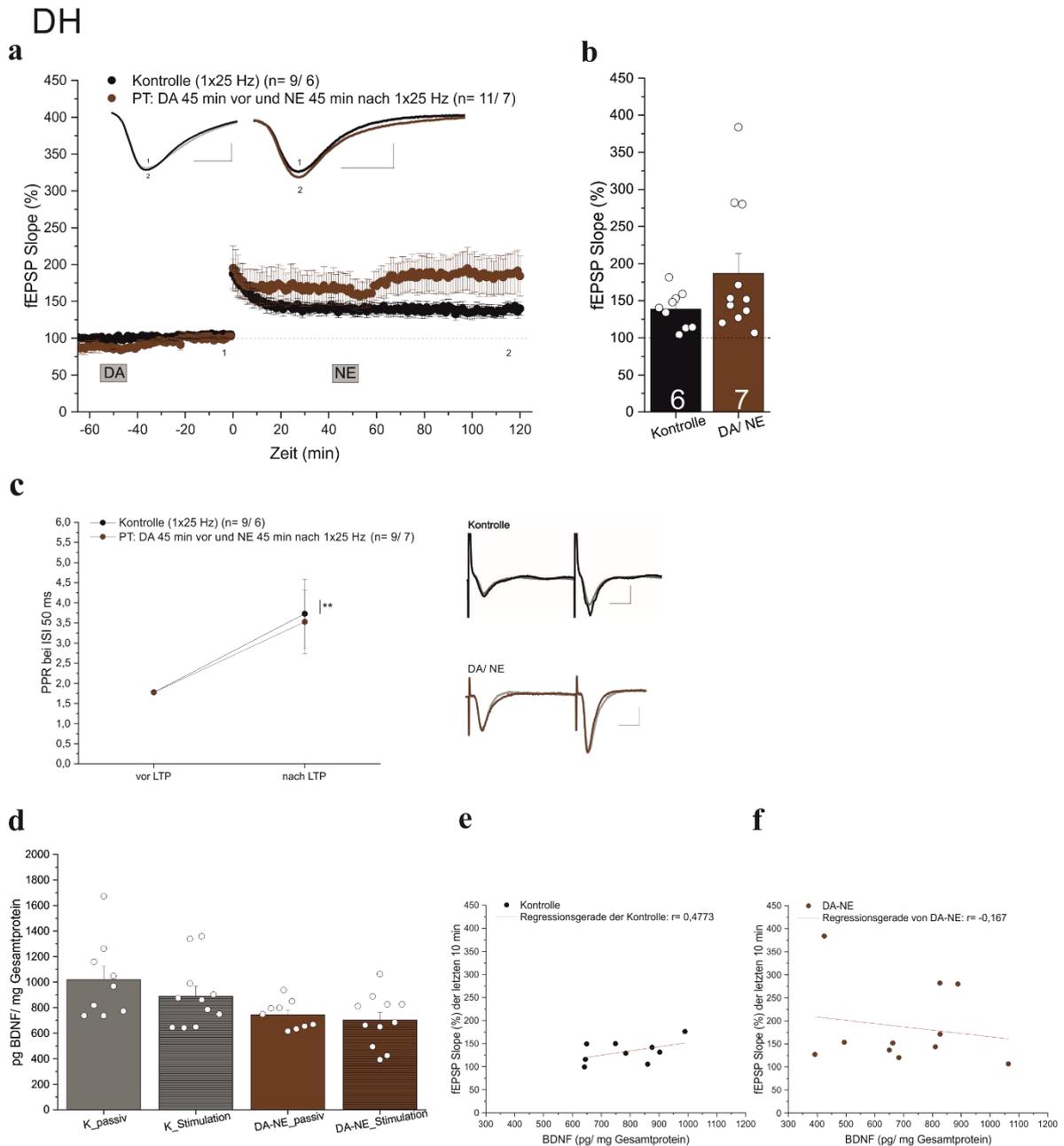


Abb. 36: Kein LTP-verstärkender Effekt durch die kombinierte Applikation des DA 45 min vor und NE 45 min nach LTP-Induktion mit 1x25 Hz-Stimulus im DH.

(a) Zeitlicher Verlauf der LTP-Messung der Kontrolle (schwarz; $n=9/6$) und der einer kombinierten Applikation von DA-NE bei einem PT des DA 45 min vor und NE 45 min nach 1x25 Hz (dunkelbraun; $n=11/7$). Exemplarische Darstellung von repräsentativen originalen Feldpotentialspuren der letzten 10 min der Baseline-Messung (1) sowie die der letzten 10 min der gesamten Messung (2); **links:** Kontrolle, **rechts:** DA-NE; Maßstabsbalken: 1 mV/ 5 ms.

(b) Balkenstreuendiagramm der erreichten Potenzierung während der letzten 10 min der Messung. Zwischen beiden Gruppen konnte kein signifikanter Unterschied in der LTP nachgewiesen werden ($p>$

0,05).

(c) Darstellung des PPR bei ISI 50 ms vor und nach der LTP der Kontrolle (schwarz; n= 9/ 6) und der einer kombinierten Applikation von DA-NE bei einem PT des DA 45 min vor und NE 45 min nach 1x25 Hz (dunkelbraun; n= 9/ 7). In der Kontrollgruppe konnte ein signifikanter Unterschied im PPR vor und nach der LTP gezeigt werden ($p \leq 0,01$ (**)). In der Teilabbildung rechts sind exemplarisch repräsentative originale Feldpotentialspuren nach Paarpulsstimulation mit einem ISI von 50 ms vor (grau) und nach der LTP (Kontrolle: schwarz, DA-NE: dunkelbraun) dargestellt; **oben:** Kontrolle, **unten:** DA-NE; Maßstabsbalken: 1 mV/ 10 ms.

(d) Darstellung der BDNF-Gehalte der Kontrolle (K; grau; N= 9) und der einer kombinierten Wirkung bei einem PT des DA 45 min vor und NE 45 min nach 1x25 Hz (DA-NE; dunkelbraun; N= 7) unter den Bedingungen der passiven, unstimulierten Anwesenheit in der Kammer ($_passiv$) sowie der stimulierten Hirnschnitte ($_Stimulation$, schraffiert).

Es konnten keine signifikanten Unterschiede in den BDNF-Gehalten gezeigt werden ($p > 0,05$).

(e) Korrelation des BDNF-Gehaltes mit der Potenzierung der letzten 10 min der LTP-Messung mit Regressionsgerade der Kontrolle (schwarz) bzw.

(f) der einer kombinierten Applikation von DA-NE bei einem PT des DA 45 min vor und NE 45 min nach 1x25 Hz (dunkelbraun). Die Differenz in der Anzahl von Datenpunkten derselben Gruppe zwischen (d) und (e) bzw. (f) liegt an den Einschlusskriterien für LTP-Messungen und BDNF-ELISA-Messungen sowie den Ergebnissen des Outlier-Tests (siehe dazu Erläuterungen im Material- und Methodenteil).

3.3.5.2. Die proaktive Applikation von Noradrenalin mit zusätzlich retroaktiver Applikation der Neurotransmitter Noradrenalin bzw. Dopamin zeigt keinen LTP-verstärkenden Effekt im DH

Es wurde untersucht, ob die bereits gezeigte alleinige proaktive LTP-steigernde Wirkung einer 10-minütigen **DA**-Applikation **45 min vor** dem LTP-Stimulus durch eine **zusätzliche** retroaktive Applikation von **DA bzw. NE 45 min nach** dem LTP-induzierenden Stimulus zu einer (weiteren) Verstärkung der e-LTP führt.

Bei einer kombinierten 10-minütigen Inkubation der Hirnschnitte mit **NE 45 min vor und 45 min nach** dem LTP-induzierenden 1x25 Hz-Stimulus konnte keine signifikante Veränderung der e-LTP im Vergleich zur Kontrollgruppe beobachtet werden (Abb. 37 a und b; *Kontrolle:* n= 9/ 6, LTP $138,53 \pm 8,3$ %; *kombinierte Applikation von NE-NE bei einem PT 45 min vor und nach 1x25 Hz:* n= 9/ 6, LTP $120,93 \pm 8,3$ %; Zweistichproben-t-Test $t_{(16)} = 1,499$, $p = 0,1533$). In Abb. 37 c ist das PPR bei einem ISI von 50 ms vor und nach der LTP dargestellt. In beiden Gruppen wurde eine signifikante Änderung im PPR vor und nach der LTP gezeigt (vor LTP: 1,78 – nach LTP: *Kontrolle* (n= 9/ 6): $3,73 \pm 0,9$, Wilcoxon-Test $W = 43$, $p = 0,0078$; *kombinierte*

Applikation von NE-NE bei einem PT 45 min vor und nach 1x25 Hz (n= 9/ 6): $3,01 \pm 0,2$, Wilcoxon-Test $W= 45$, $p= 0,0039$).

Im Rahmen des durchgeführten BDNF-ELISA zeigten sich in den Hippocampi zwischen der Kontroll- (K; N= 9) und der NE-NE-Gruppe (N= 9) unter den Bedingungen der passiven, d.h. unstimulierten Anwesenheit in der Kammer (*_passiv*) und der stimulierten akuten Schnitten (*_Stimulation*) keine signifikanten Unterschiede in den BDNF-Gehalten (Abb. 37 d; BDNF-Gehalt (in pg/ mg Gesamtprotein): *K_passiv* (n/ x= 9/ 22): $1018,98 \pm 103,4$; *K_Stimulation* (n=11): $890,3 \pm 76,4$; *NE-NE_passiv* (n/ x= 11/ 26): $884,73 \pm 50,9$; *NE-NE_Stimulation* (n= 12): $968,14 \pm 71,5$; einfaktorielle Anova $F_{(3,39)}= 0,6917$, $p= 0,5626$).

Zusätzlich wurde der BDNF-Gehalt mit der Potenzierung der letzten 10 min der LTP-Messungen für beide Gruppen korreliert. In der Kontrollgruppe konnte ein mittlerer linearer Zusammenhang gezeigt werden (Abb. 37 e; n= 9/ 6; $r= 0,477$, $p= 0,1939$), wohingegen die NE-NE-Gruppe nur einen schwachen Zusammenhang zwischen LTP-Werten und den dazugehörigen BDNF-Gehalten aufwies (Abb. 37 f; n= 9/ 6; $r= 0,218$, $p= 0,5732$).

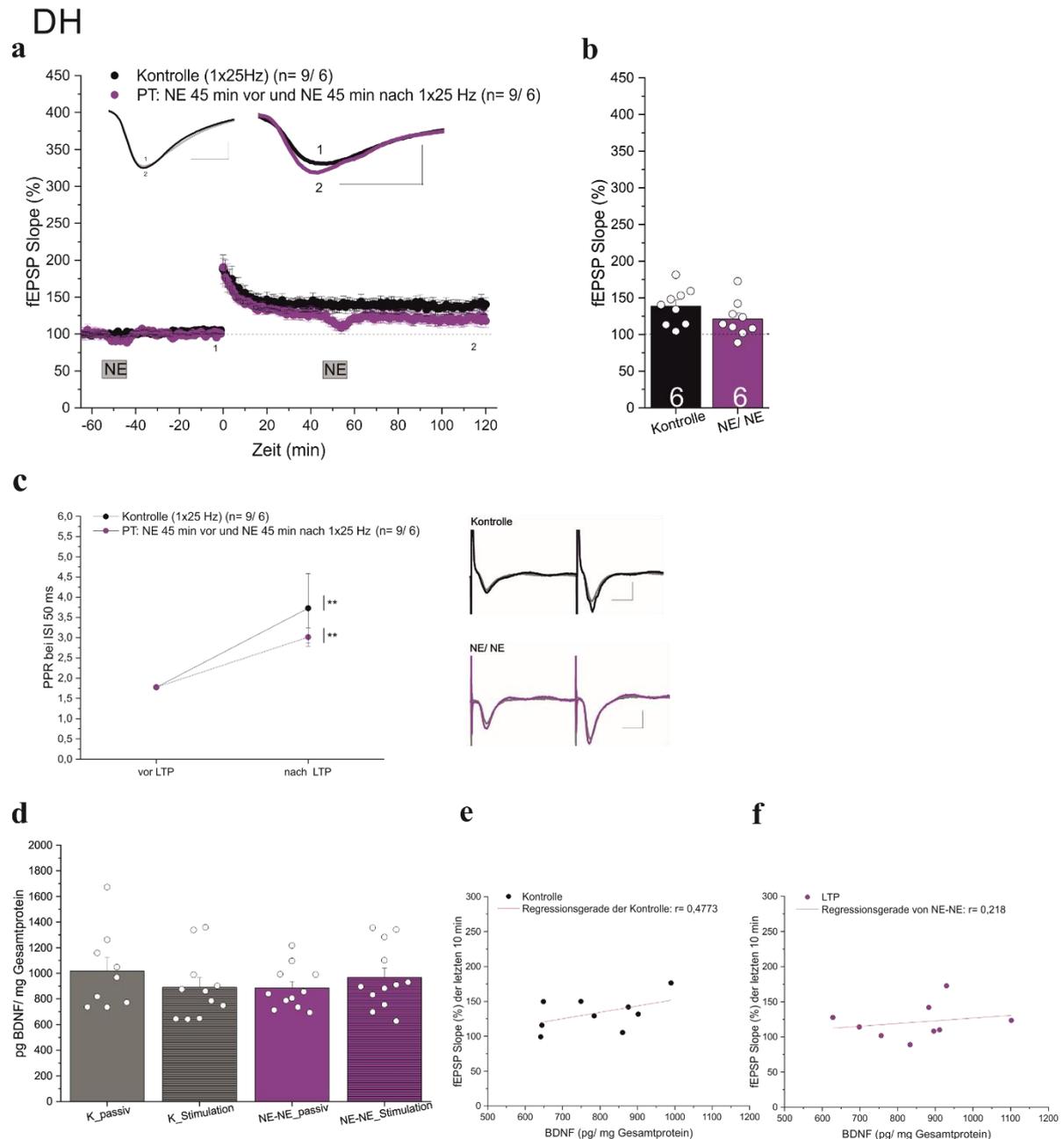


Abb. 37: Kein LTP-verstärkender Effekt durch die kombinierte Applikation des NE 45 min vor und nach 45 min nach LTP-Induktion mit 1x25 Hz-Stimulus im DH.

(a) Zeitlicher Verlauf der LTP-Messung der Kontrolle (schwarz; n= 9/ 6) und der einer kombinierten Applikation von NE-NE bei einem PT 45 min vor und nach 1x25 Hz (violett; n= 9/ 6). Exemplarische Darstellung von repräsentativen originalen Feldpotentialspuren der letzten 10 min der Baseline-Messung (1) sowie die der letzten 10 min der gesamten Messung (2); **links:** Kontrolle, **rechts:** NE-NE; Maßstabsbalken: 1 mV/ 5 ms

(b) Balkenstreuendiagramm der erreichten Potenzierung während der letzten 10 min der Messung. Zwischen beiden Gruppen konnte kein signifikanter Unterschied in der LTP nachgewiesen werden ($p > 0,05$).

(c) Darstellung des PPR bei ISI 50 ms vor und nach der LTP der Kontrolle (schwarz; n= 9/ 6) und der einer kombinierten Applikation von NE-NE bei einem PT 45 min vor und nach 1x25 Hz (violett; n= 9/ 6). In beiden Gruppen konnte ein signifikanter Unterschied im PPR vor und nach der LTP gezeigt werden ($p \leq 0,01$ (**)). In der Teilabbildung rechts sind exemplarisch repräsentative originale

Feldpotentialspuren nach Paarpulsstimulation mit einem ISI von 50 ms vor (grau) und nach der LTP (Kontrolle: schwarz, NE-NE: violett) dargestellt; **oben:** Kontrolle, **unten:** NE-NE; Maßstabsbalken: 1 mV/ 10 ms.

(d) Darstellung der BDNF-Gehalte der Kontrolle (K; grau; N= 9) und der einer kombinierten Wirkung bei einem PT des NE 45 min vor und nach 1x25 Hz (NE-NE; violett; N= 9) unter den Bedingungen der passiven, unstimulierten Anwesenheit in der Kammer (_passiv) sowie der stimulierten Hirnschnitte (_Stimulation, schraffiert).

Es wurden keine signifikanten Unterschiede in den BDNF-Gehalten gezeigt ($p > 0,05$).

(e) Korrelation des BDNF-Gehaltes mit der Potenzierung der letzten 10 min der LTP-Messung mit Regressionsgerade der Kontrolle (schwarz) bzw.

(f) der einer kombinierten Applikation von NE-NE bei einem PT 45 min vor und nach 1x25 Hz (violett). Die Differenz in der Anzahl von Datenpunkten derselben Gruppe zwischen (d) und (e) bzw. (f) liegt an den Einschlusskriterien für LTP-Messungen und BDNF-ELISA-Messungen sowie den Ergebnissen des Outlier-Tests (siehe dazu Erläuterungen im Material- und Methodenteil).

Bei einer kombinierten 10-minütigen Inkubation mit **NE 45 min vor und DA 45 min nach** dem LTP-induzierenden 1x25 Hz-Stimulus wurde keine signifikante Veränderung der e-LTP im Vergleich zur Kontrolle gezeigt (Abb. 38 a und b; *Kontrolle:* n= 9/ 6, LTP $138,53 \pm 8,3$ %; *kombinierte Applikation von DA-NE bei einem PT des NE 45 min vor und DA 45 min nach 1x25 Hz:* n= 8/ 5, LTP $135,56 \pm 10,3$ %; Zweistichproben-t-Test $t_{(13,97)} = 0,2243$, $p = 0,8258$).

In Abb. 38 c ist das PPR bei einem ISI von 50 ms vor und nach der LTP dargestellt. In beiden Gruppen konnte eine signifikante Änderung im PPR vor und nach der LTP gezeigt werden (vor LTP: 1,78 – nach LTP: *Kontrolle* (n= 9/ 6): $3,73 \pm 0,9$, Wilcoxon-Test $W = 43$, $p = 0,0078$; *kombinierte Applikation von NE-DA bei einem PT des NE 45 min vor und DA 45 min nach 1x25 Hz* (n= 7/ 6): $3,54 \pm 0,3$, Wilcoxon-Test $W = 26$, $p = 0,0313$).

Im Rahmen des durchgeführten BDNF-ELISA wurden in den Hippocampi zwischen der Kontroll- (K; N= 9) und der NE-DA-Gruppe (N= 8) unter den Bedingungen der passiven, d.h. unstimulierten Anwesenheit in der Kammer (_passiv) und der stimulierten akuten Schnitten (_Stimulation) keine signifikanten Unterschiede in den BDNF-Gehalten gezeigt (Abb. 38 d; BDNF-Gehalt (in pg/ mg Gesamtprotein): *K_passiv* (n/ x= 9/ 22): $1018,98 \pm 103,4$; *K_Stimulation* (n= 12): $890,3 \pm 76,4$; *NE-DA_passiv* (n/ x= 8/ 23): $1024,87 \pm 72,8$; *NE-DA_Stimulation* (n= 12): $970,79 \pm 102,1$; $p > 0,05$; einfaktorielle Anova $F_{(3,36)} = 0,4498$, $p = 0,719$).

Zusätzlich wurde der BDNF-Gehalt mit der Potenzierung der letzten 10 min der LTP-Messungen für beide Gruppen korreliert. In der Kontrollgruppe konnte ein mittlerer linearer Zusammenhang gezeigt werden (Abb. 38 e; n= 9/ 6; $r = 0,477$, $p = 0,1939$), wohingegen die NE-

DA-Gruppe nur einen schwachen Zusammenhang zwischen LTP-Werten und den dazugehörigen BDNF-Gehalten aufwies (Abb. 38 f; $n = 8/5$; $r = 0,165$, $p = 0,6719$).

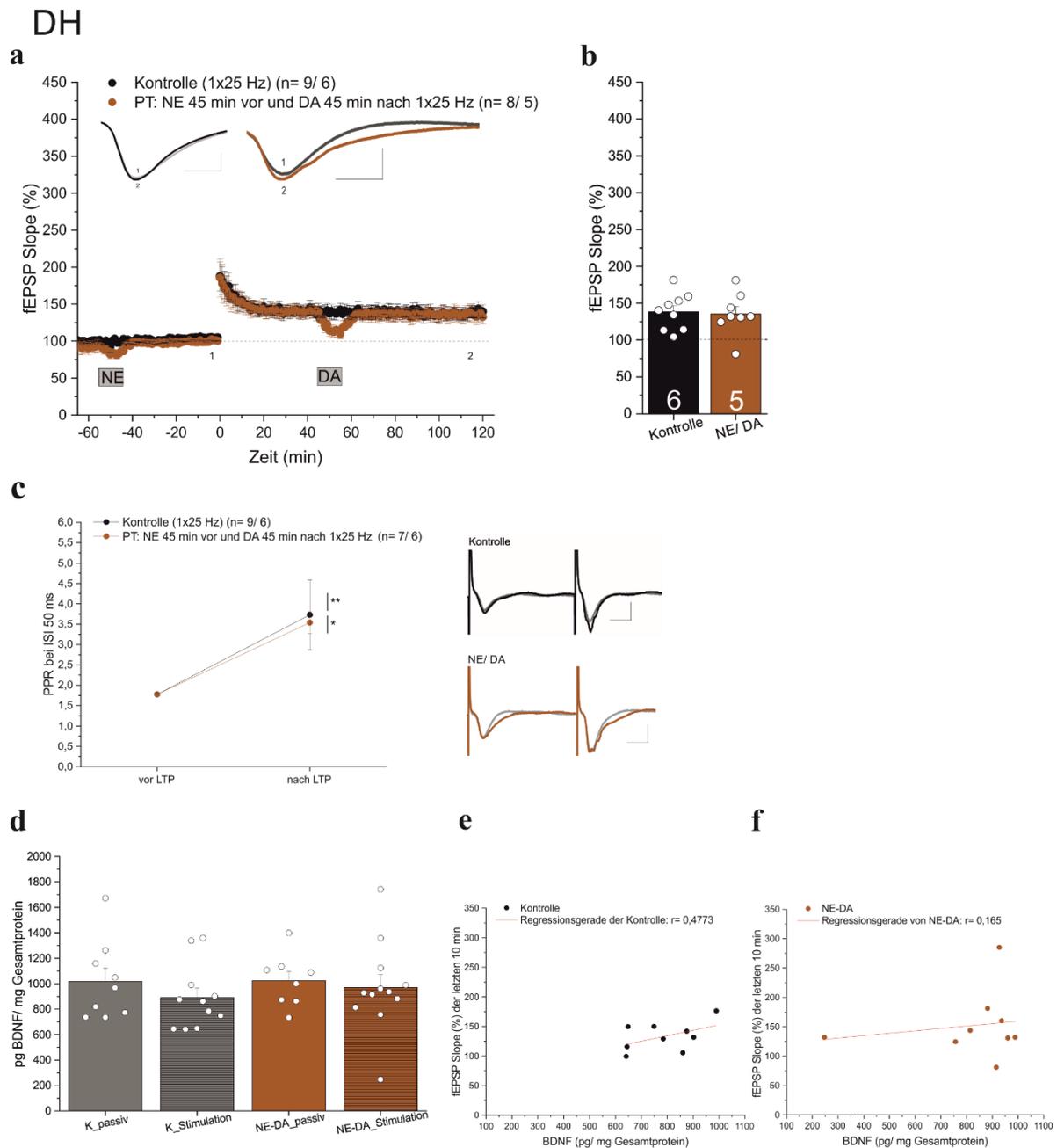


Abb. 38: Kein LTP-verstärkender Effekt durch kombinierte Applikation des NE 45 min vor und DA 45 min nach LTP-Induktion mit 1x25 Hz-Stimulus im DH.

(a) Zeitlicher Verlauf der LTP-Messung der Kontrolle (schwarz; $n = 9/6$) und der einer kombinierten Applikation von NE-DA bei einem PT des NE 45 min vor und DA 45 min nach 1x25 Hz (hellbraun; $n = 8/5$). Exemplarische Darstellung von repräsentativen originalen Feldpotentialspuren der letzten 10 min der Baseline-Messung (1) sowie die der letzten 10 min der gesamten Messung (2); **links:** Kontrolle, **rechts:** NE-DA; Maßstabsbalken: 1 mV/ 5 ms.

(b) Balkenstreudiagramm der erreichten Potenzierung während der letzten 10 min der Messung. Zwischen beiden Gruppen konnte kein signifikanter Unterschied in der LTP nachgewiesen werden ($p > 0,05$).

(c) Darstellung des PPR bei ISI 50 ms vor und nach der LTP der Kontrolle (schwarz; n= 9/ 6) und der einer kombinierten Applikation von NE-DA bei einem PT des NE 45 min vor und DA 45 min nach 1x25 Hz (hellbraun; n= 7/ 6). In beiden Gruppen konnte ein signifikanter Unterschied im PPR vor und nach der LTP gezeigt werden ($p \leq 0,05$ (*), $p \leq 0,01$ (**)). In der Teilabbildung rechts sind exemplarisch repräsentative originale Feldpotentialspuren nach Paarpulsstimulation mit einem ISI von 50 ms vor (grau) und nach der LTP (Kontrolle: schwarz, NE-DA: hellbraun) dargestellt; **oben:** Kontrolle, **unten:** NE-DA; Maßstabsbalken: 1 mV/ 10 ms.

(d) Darstellung der BDNF-Gehalte der Kontrolle (K; grau; N= 9) und der einer kombinierten Wirkung bei einem PT des NE 45 min vor und DA 45 min nach 1x25 Hz (NE-DA; hellbraun; N= 8) unter den Bedingungen der passiven, unstimulierten Anwesenheit in der Kammer (_passiv) sowie der stimulierten Hirnschnitte (_Stimulation, schraffiert).

Es wurden keine signifikanten Unterschiede in den BDNF-Gehalten ermittelt ($p > 0,05$).

(e) Korrelation des BDNF-Gehaltes mit der Potenzierung der letzten 10 min der LTP-Messung mit Regressionsgerade der Kontrolle (schwarz) bzw.

(f) der einer kombinierten Applikation von NE-DA bei einem PT des NE 45 min vor und DA 45 min nach 1x25 Hz (hellbraun). Die Differenz in der Anzahl von Datenpunkten derselben Gruppe zwischen (d) und (e) bzw. (f) liegt an den Einschlusskriterien für LTP-Messungen und BDNF-ELISA-Messungen sowie den Ergebnissen des Outlier-Tests (siehe dazu Erläuterungen im Material- und Methodenteil).

3.3.5.3. Die pro- und retroaktive kombinierte Applikation einer Mixtur aus Dopamin und Noradrenalin bewirkt keine LTP-Verstärkung im DH

Bei einer kombinierten Inkubation mit einer **Mixtur (Mix) aus DA (20 μ M) und NE (20 μ M) 45 min vor und 45 min nach** dem LTP-induzierenden 1x25 Hz-Stimulus konnte keine Veränderung der e-LTP im Vergleich zur Kontrolle beobachtet werden (Abb. 39 a und b; *Kontrolle:* n= 9/ 6, LTP $138,53 \pm 8,3$ %; *kombinierte Applikation des Mix bei einem PT 45 min vor und nach 1x25 Hz:* n= 8/ 5, LTP $143,47 \pm 13,7$ %; Zweistichproben-t-Test $t_{(11,73)} = 0,3072$, $p = 0,7641$).

Die Analyse der synaptischen Ermüdung der SC-CA1-Synapsen auf den 1x25 Hz-Stimulus ergab in den ausgewählten Pulsnummern 2, 10 und 25 keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden untersuchten Gruppen ($p > 0,05$) (Abb. 39 c; für Messwerte und Statistik siehe Anlage).

In Abb. 39 d ist das PPR bei einem ISI von 50 ms vor und nach der LTP dargestellt. In beiden Gruppen konnte eine signifikante Änderung im PPR vor und nach der LTP gezeigt werden (vor LTP: 1,78 – nach LTP: *Kontrolle* (n= 9/ 6): $3,73 \pm 0,9$, Wilcoxon-Test $W = 43$, $p = 0,0078$; *kombinierte Applikation des Mix bei einem PT 45 min vor und nach 1x25 Hz* (n= 6/ 5): $3,62 \pm 0,4$, Wilcoxon-Test $W = 21$, $p = 0,0313$).

Im Rahmen des durchgeführten BDNF-ELISA konnten in den Hippocampi zwischen der Kontroll- (K; N= 9)- und der Mix-Mix-Gruppe (N= 5) unter den Bedingungen der passiven, d.h. unstimulierten Anwesenheit in der Kammer (*_passiv*) und der stimulierten akuten Schnitten (*_Stimulation*) keine signifikanten Unterschiede in den BDNF-Gehalten gezeigt werden (Abb. 39 e; BDNF-Gehalt (in pg/ mg Gesamtprotein): *K_passiv* (n/ x= 9/ 22): $1018,98 \pm 103,4$; *K_Stimulation* (n=12): $890,3 \pm 76,4$; *Mix-Mix_passiv* (n/ x= 7/ 13): $856,43 \pm 57$; *Mix-Mix_Stimulation* (n=7): $930,08 \pm 43,2$; $p > 0,05$; einfaktorielle Anova $F_{(3,30)} = 0,7739$, $p = 0,5177$).

Zusätzlich wurde der BDNF-Gehalt mit der Potenzierung der letzten 10 min der LTP-Messungen für beide Gruppen korreliert. In der Kontrollgruppe zeigte sich ein mittlerer linearer Zusammenhang (Abb. 39 f; n= 9/ 6; $r = 0,477$, $p = 0,1939$), wohingegen die Mix-Mix-Gruppe nur einen schwachen Zusammenhang zwischen LTP-Werten und den dazugehörigen BDNF-Gehalten aufwies (Abb. 39 g; n= 8/ 5; $r = -0,207$, $p = 0,6558$).

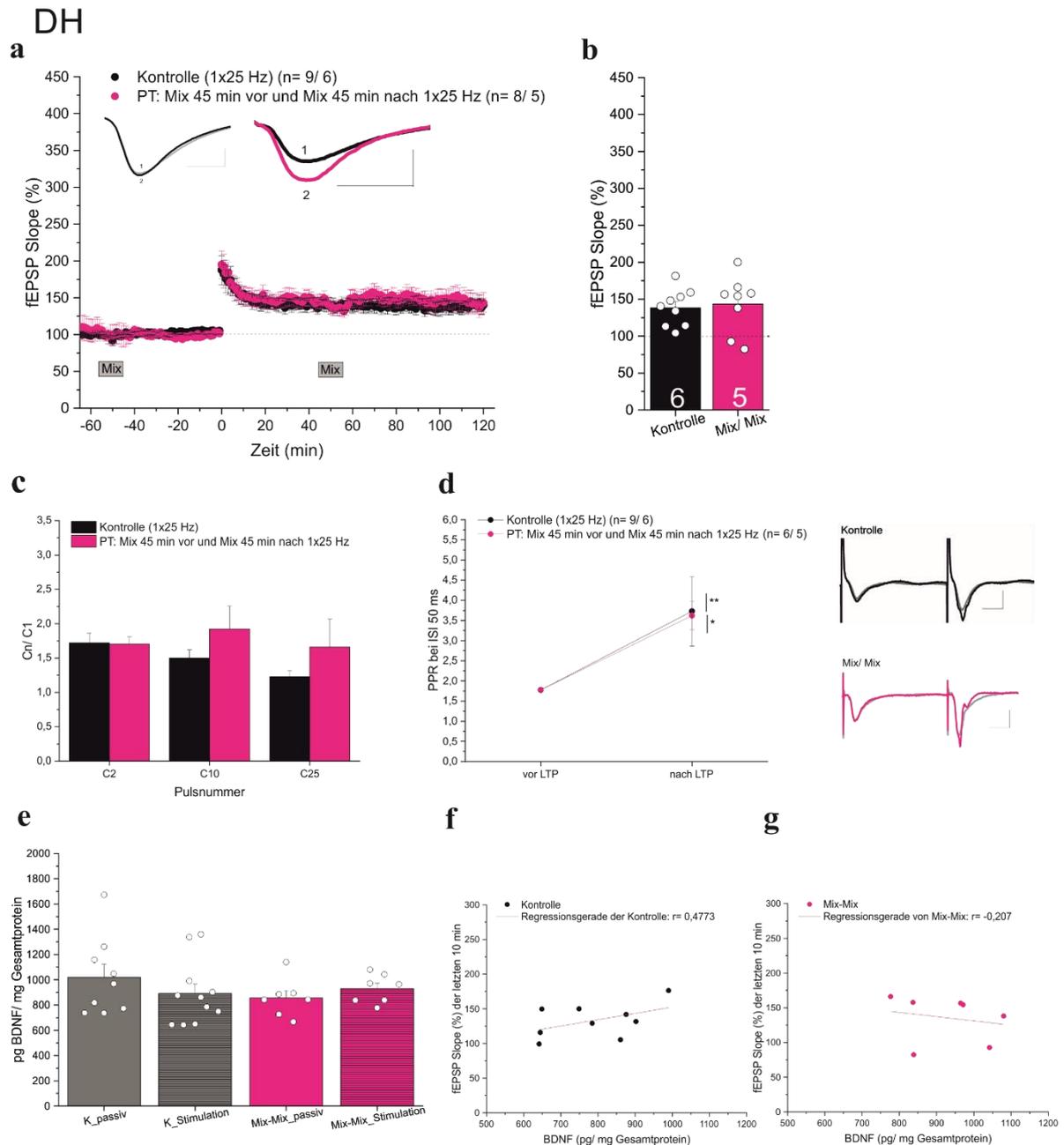


Abb. 39: Kein LTP-verstärkender Effekt durch kombinierte Wirkung der Mixtur aus DA und NE (Mix) 45 min vor und nach LTP-Induktion mit 1x25 Hz-Stimulus im DH.

(a) Zeitlicher Verlauf der LTP-Messung der Kontrolle (schwarz; n= 9/ 6) und der einer kombinierten Applikation des Mix bei einem PT 45 min vor und nach 1x25 Hz (pink; n= 8/ 5). Exemplarische Darstellung von repräsentativen originalen Feldpotentialspuren der letzten 10 min der Baseline-Messung (1) sowie die der letzten 10 min der gesamten Messung (2); **links:** Kontrolle, **rechts:** Mix; Maßstabsbalken: 1 mV/ 5 ms.

(b) Balkenstreuendiagramm der erreichten Potenzierung während der letzten 10 min der Messung. Zwischen beiden Gruppen konnte kein signifikanter Unterschied in der LTP nachgewiesen werden ($p > 0,05$).

(c) Die transiente, 10-minütige Anwesenheit des Mixes zeigte im Vergleich zur Kontrolle keine veränderte synaptische Ermüdung der SC-CA1-Synapsen. Die Balkendiagramme stellen das mittlere Verhältnis (auf den ersten Puls normiert) der fEPSP-Antworten der verschiedenen Pulsnummern (2, 10 und 25) dar. Es konnten in keinen der Pulsnummern signifikanten Unterschiede gezeigt werden ($p >$

0,05).

(d) Signifikante Änderungen im PPR bei ISI 50 ms vor und nach der LTP. Darstellung des PPR bei ISI 50 ms vor und nach der LTP der Kontrolle (schwarz; n= 9/ 6) und der einer kombinierten Applikation des Mixes bei einem PT 45 min vor und nach 1x25 Hz (pink; n= 6/ 5). In beiden Gruppen konnte ein signifikanter Unterschied im PPR vor und nach der LTP gezeigt werden ($p \leq 0,05$ (*), $p \leq 0,01$ (**)). In der Teilabbildung rechts sind exemplarisch repräsentative originale Feldpotentialspuren nach Paarpulsstimulation mit einem ISI von 50 ms vor (grau) und nach der LTP (Kontrolle: schwarz, Mix: pink) dargestellt; **oben:** Kontrolle, **unten:** Mix; Maßstabsbalken: 1 mV/ 10 ms.

(e) Darstellung der BDNF-Gehalte der Kontrolle (K; grau; N= 9) und der einer kombinierten Wirkung bei einem PT des Mixes 45 min vor und nach 1x25 Hz (Mix-Mix; pink; N= 5) unter den Bedingungen der passiven, unstimulierten Anwesenheit in der Kammer (_passiv) sowie der stimulierten Hirnschnitte (_Stimulation, schraffiert).

Es wurden keine signifikanten Unterschiede in den BDNF-Gehalten gezeigt ($p > 0,05$).

(f) Korrelation des BDNF-Gehaltes mit der Potenzierung der letzten 10 min der LTP-Messung mit Regressionsgerade der Kontrolle (schwarz) bzw.

(g) der einer kombinierten Applikation von Mix-Mix bei einem PT 45 min vor und nach 1x25 Hz (pink). Die Differenz in der Anzahl von Datenpunkten derselben Gruppe zwischen (e) und (f) bzw. (g) liegt an den Einschlusskriterien für LTP-Messungen und BDNF-ELISA-Messungen sowie den Ergebnissen des Outlier-Tests (siehe dazu Erläuterungen im Material- und Methodenteil).

3.3.6. Kombinierte neuromodulatorische Wirkung beider Neurotransmitter Dopamin und Noradrenalin auf die LTP im DH: zu verschiedenen Zeitpunkten

3.3.6.1. Die pro- (10 min vor) und retroaktive (10 min nach der LTP- Induktion) Aktivierung des noradrenergen Systems wirkt im DH nicht e-LTP-verstärkend

Bei einer kombinierten Inkubation mit **NE 10 min vor und 10 min nach** dem LTP-induzierenden 1x25 Hz-Stimulus konnte keine signifikante Veränderung der e-LTP im Vergleich zur Kontrollgruppe gezeigt werden (Abb. 40 a und b; *Kontrolle:* n= 8/ 6, LTP $145,38 \pm 15,9$ %; *kombinierte Applikation von NE-NE bei einem PT 10 min vor und nach 1x25 Hz:* n= 8/ 4, LTP $146,20 \pm 13,7$ %; Zweistichproben-t-Test $t_{(13,7)} = 0,0391$, $p = 0,9694$).

In Abb. 40 c ist das PPR bei einem ISI von 50 ms vor und nach der LTP dargestellt. In der Kontrollgruppe wurde eine signifikante Änderung im PPR vor und nach der LTP gezeigt (vor LTP: 1,78 – nach LTP: *Kontrolle* (n= 7/ 6): $3,31 \pm 0,3$, Wilcoxon-Test $W = 26$, $p = 0,0313$; *kombinierte Applikation des NE-NE bei einem PT 10 min vor und nach 1x25 Hz* (n= 5/ 4): $3,3 \pm 0,4$, Wilcoxon-Test $W = 19$, $p = 0,0625$).

Im Rahmen des durchgeführten BDNF-ELISA wurden in den Hippocampi zwischen der Kontroll- (K; N= 5) und der NE-NE-Gruppe (N= 5) unter den Bedingungen der passiven, d.h. unstimulierten Anwesenheit in der Kammer (*_passiv*) und der stimulierten akuten Schnitten (*_Stimulation*) keine signifikanten Unterschiede in den BDNF-Gehalten beobachtet (Abb. 40 d; BDNF-Gehalt (in pg/ mg Gesamtprotein): *K_passiv* (n/ x= 7/ 16): $1242,26 \pm 58,8$; *K_Stimulation* (n=8): $1303,66 \pm 61,1$; *NE-NE_passiv* (n/ x= 8/ 15): $1205,79 \pm 73,6$; *NE-NE_Stimulation* (n= 7): $1181,15 \pm 25,3$; einfaktorielle Anova $F_{(3,26)} = 0,8257$, $p = 0,4917$). Zusätzlich wurde der BDNF-Gehalt mit der Potenzierung der letzten 10 min der LTP-Messungen für beide Gruppen korreliert. In der Kontrollgruppe zeigte sich kein linearer Zusammenhang (Abb. 40 e; n= 8/ 6; $r = 0,09$, $p = 0,866$), wohingegen die NE-NE-Gruppe einen schwachen Zusammenhang zwischen LTP-Werten und den dazugehörigen BDNF-Gehalten aufwies (Abb. 40 f; n= 8/ 4; $r = 0,393$, $p = 0,3349$).

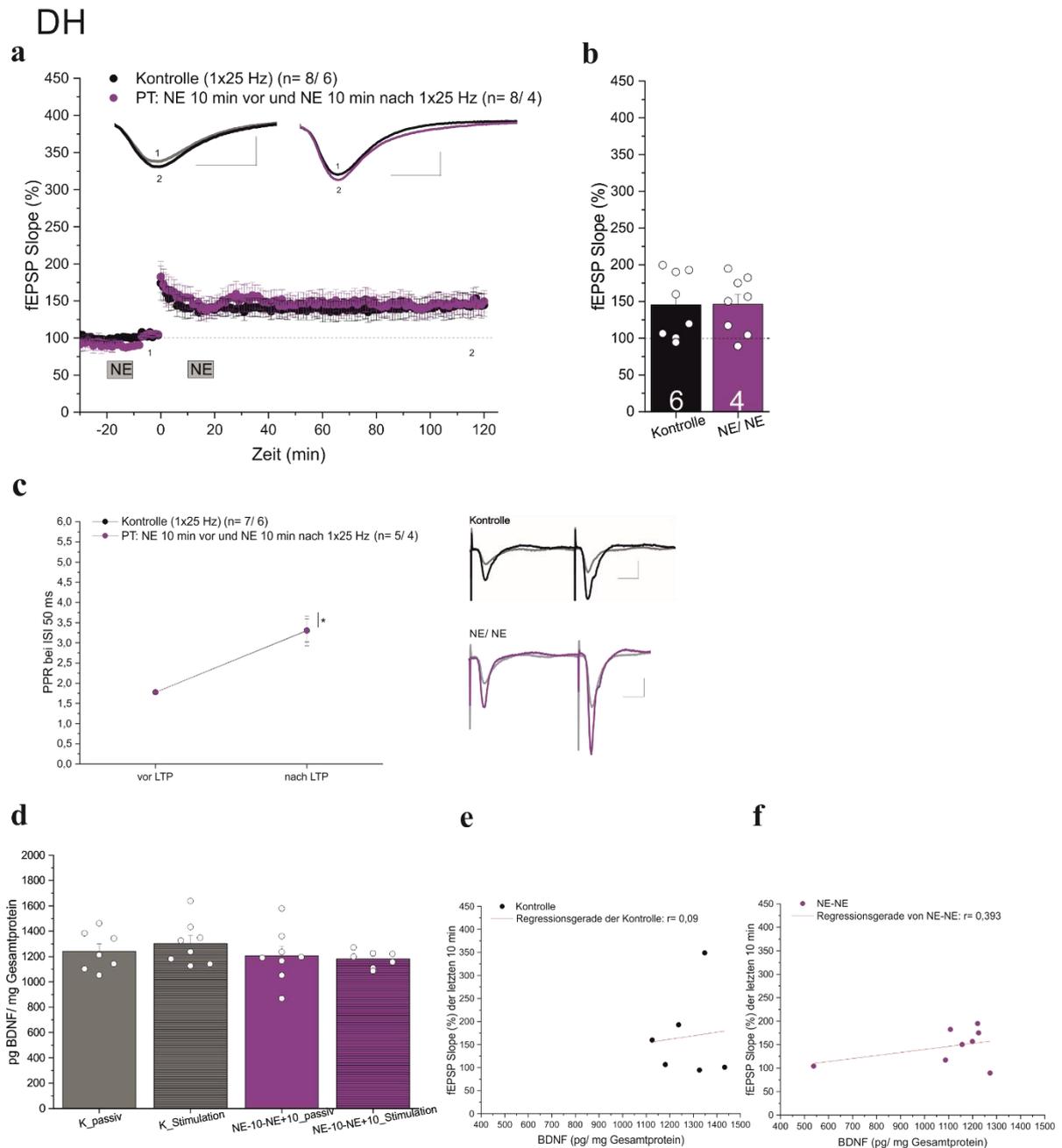


Abb. 40: Kein LTP-verstärkender Effekt durch kombinierte Wirkung des NE 10 min vor und 10 min nach nach LTP-Induktion mit 1x25 Hz-Stimulus im DH.

(a) Zeitlicher Verlauf der LTP-Messung der Kontrolle (schwarz; n= 8/ 6) und der einer kombinierten Applikation von NE-NE bei einem PT 10 min vor und nach 1x25 Hz (violett; n= 8/ 4). Exemplarische Darstellung von repräsentativen originalen Feldpotentialspuren der letzten 10 min der Baseline-Messung (1) sowie die der letzten 10 min der gesamten Messung (2); links: Kontrolle, rechts: NE-NE; Maßstabsbalken: 1 mV/ 5 ms.

(b) Balkenstreudiagramm der erreichten Potenzierung während der letzten 10 min der Messung. Zwischen beiden Gruppen konnte kein signifikanter Unterschied in der LTP gezeigt werden ($p > 0,05$). (c) Darstellung des PPR bei ISI 50 ms vor und nach der LTP der Kontrolle (schwarz; n= 7/ 6 und der einer kombinierten Applikation von NE-NE bei einem PT 10 min vor und nach 1x25 Hz (violett; n= 5/ 4). In der Kontrollgruppe konnte ein signifikanter Unterschied im PPR vor und nach der LTP gezeigt werden ($p \leq 0,05$ (*)). In der Teilabbildung rechts sind exemplarisch repräsentative originale

Feldpotentialspuren nach Paarpulsstimulation mit einem ISI von 50 ms vor (grau) und nach der LTP (Kontrolle: schwarz, NE: violett) dargestellt; **oben:** Kontrolle, **unten:** NE-NE; Maßstabsbalken: 1 mV/ 10 ms.

(d) Darstellung der BDNF-Gehalte der Kontrolle (K; grau; N= 5) und der einer kombinierten Wirkung bei einem PT des NE 10 min vor und nach 1x25 Hz (NE-NE; violett; N= 5) unter den Bedingungen der passiven, unstimulierten Anwesenheit in der Kammer (*_passiv*) sowie der stimulierten Hirnschnitte (*_Stimulation*, schraffiert).

Es wurden keine signifikanten Unterschiede in den BDNF-Gehalten gezeigt ($p > 0,05$).

(e) Korrelation des BDNF-Gehaltes mit der Potenzierung der letzten 10 min der LTP-Messung mit Regressionsgerade der Kontrolle (schwarz) bzw.

(f) der einer kombinierten Applikation von NE-NE bei einem PT des NE 10 min vor und nach 1x25 Hz (violett). Die Differenz in der Anzahl von Datenpunkten derselben Gruppe zwischen (d) und (e) bzw. (f) liegt an den Einschlusskriterien für LTP-Messungen und BDNF-ELISA-Messungen sowie den Ergebnissen des Outlier-Tests (siehe dazu Erläuterungen im Material- und Methodenteil).

3.3.6.2. Die proaktive Applikation von Dopamin 45 min vor und Noradrenalin 10 min vor der LTP-Induktion bewirkt keine Verstärkung der e-LTP im DH

Bei einer kombinierten Inkubation mit **DA 45 min** und **NE 10 min vor** dem LTP-induzierenden 1x25 Hz-Stimulus konnte keine signifikante Veränderung der e-LTP im Vergleich zur Kontrolle beobachtet werden (Abb. 41 a und b; *Kontrolle:* $n = 9/ 6$, LTP $138,53 \pm 8,3 \%$; *kombinierte Applikation von DA-NE bei einem PT des DA 45 min und NE 10 min vor 1x25 Hz:* $n = 6/ 5$, LTP $134,15 \pm 8,4 \%$; Zweistichproben-t-Test $t_{(12,24)} = 0,3693$, $p = 0,7182$).

Die Analyse der synaptischen Ermüdung der SC-CA1-Synapsen auf den 1x25 Hz-Stimulus ergab in den ausgewählten Pulsnummern 2, 10 und 25 keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden untersuchten Gruppen ($p > 0,05$) (Abb. 41 c; für Messwerte und Statistik siehe Anlage).

In Abb. 41 d ist das PPR bei einem ISI von 50 ms vor und nach der LTP dargestellt. Lediglich in der Kontrollgruppe konnte eine signifikante Änderung im PPR vor und nach der LTP ermittelt werden (vor LTP: 1,78 – nach LTP: *Kontrolle* ($n = 9/ 6$): $3,73 \pm 0,9$, Wilcoxon-Test $W = 43$, $p = 0,0078$; *kombinierte Applikation von DA-NE bei einem PT des DA 45 min und NE 10 min vor 1x25 Hz* ($n = 5/ 4$): $3,56 \pm 0,3$, Wilcoxon-Test $W = 15$, $p = 0,0625$).

Im Rahmen des durchgeführten BDNF-ELISA zeigten sich in den Hippocampi zwischen der Kontroll- (K; N= 9) und der DA-NE-Gruppe (N= 7) unter den Bedingungen der passiven, d.h. unstimulierten Anwesenheit in der Kammer (*_passiv*) und der stimulierten akuten Schnitten (*_Stimulation*) keine signifikanten Unterschiede in den BDNF-Gehalten (Abb. 41 e; BDNF-Gehalt (in pg/ mg Gesamtprotein): *K_passiv* ($n/ x = 9/ 22$): $1018,98 \pm 103,4$; *K_Stimulation* ($n =$

11): $890,3 \pm 76,4$; *DA-NE_passiv* (n/ x= 8/ 11): $989,83 \pm 85,8$; *DA-NE_Stimulation* (n= 6): $1242,73 \pm 179,8$; $p > 0,05$; einfaktorielle Anova) $F_{(3,30)} = 1,783$, $p = 0,1717$).

Zusätzlich wurde der BDNF-Gehalt mit der Potenzierung der letzten 10 min der LTP-Messungen für beide Gruppen korreliert. In beiden Gruppen konnte ein mittlerer linearer Zusammenhang gezeigt werden (*Kontrolle* (n= 9/ 6): $r = 0,477$, $p = 0,1939$; Abb. 41 f; *DA-NE* (n= 6/ 5): $r = -0,411$, $p = 0,5887$; Abb. 41 g).

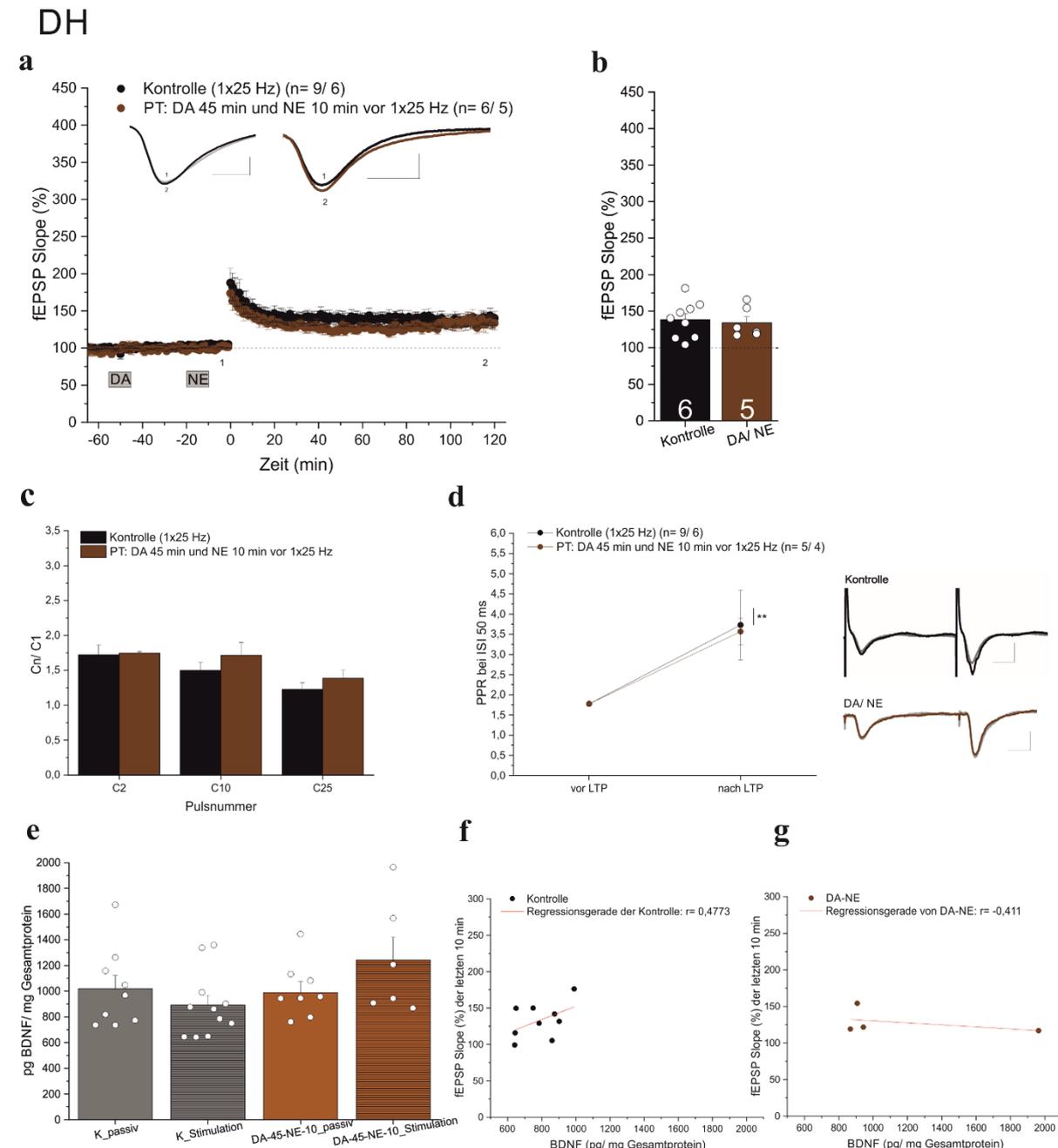


Abb. 41: Kein LTP-verstärkender Effekt durch kombinierte proaktive Applikation des DA 45 min und NE 10 min vor LTP-Induktion mit 1x25 Hz-Stimulus im DH.

(a) Zeitlicher Verlauf der LTP-Messung der Kontrolle (schwarz; n= 9/ 6) und der einer kombinierten Applikation von DA-NE bei einem PT des DA 45 min und NE 10 min vor 1x25 Hz (dunkelbraun; n=

6/ 5). Exemplarische Darstellung von repräsentativen originalen Feldpotentialspuren der letzten 10 min der Baseline-Messung (1) sowie die der letzten 10 min der gesamten Messung (2); **links:** Kontrolle, **rechts:** DA-NE; Maßstabsbalken: 1 mV/ 5 ms.

(b) Balkenstreudiagramm der erreichten Potenzierung während der letzten 10 min der Messung. Zwischen beiden Gruppen konnte kein signifikanter Unterschied in der LTP gezeigt werden ($p > 0,05$).

(c) Die transiente, 10-minütige Anwesenheit von DA und NE zeigte im Vergleich zur Kontrolle keine veränderte synaptische Ermüdung der SC-CA1-Synapsen. Die Balkendiagramme stellen das mittlere Verhältnis (auf den ersten Puls normiert) der fEPSP-Antworten der verschiedenen Pulsnummern (2, 10 und 25) dar. Es konnten in keinen der Pulsnummern signifikante Unterschiede in den fEPSP-Antworten gezeigt werden ($p > 0,05$).

(d) Signifikante Änderungen im PPR bei ISI 50 ms vor und nach der LTP. Darstellung des PPR bei ISI 50 ms vor und nach der LTP der Kontrolle (schwarz; $n = 9/ 6$) und der einer kombinierten Applikation von DA-NE bei einem PT des DA 45 min und NE 10 min vor 1x25 Hz (dunkelbraun; $n = 5/ 4$). In der Kontrollgruppe konnte ein signifikanter Unterschied im PPR vor und nach der LTP gezeigt werden ($p \leq 0,01$ (**)). In der Teilabbildung rechts sind exemplarisch repräsentative originale Feldpotentialspuren nach Paarpulsstimulation mit einem ISI von 50 ms vor (grau) und nach der LTP (Kontrolle: schwarz, DA-NE: dunkelbraun) dargestellt; **oben:** Kontrolle, **unten:** DA-NE; Maßstabsbalken: 1 mV/ 10 ms.

(e) Darstellung der BDNF-Gehalte der Kontrolle (K; grau; $N = 9$) und der einer kombinierten Wirkung bei einem PT des DA 45 min und NE 10 min vor 1x25 Hz (DA-NE; dunkelbraun; $N = 7$) unter den Bedingungen der passiven, unstimulierten Anwesenheit in der Kammer (_passiv) sowie der stimulierten Hirnschnitte (_Stimulation, schraffiert).

Es wurden keine signifikanten Unterschiede in den BDNF-Gehalten festgestellt ($p > 0,05$).

(f) Korrelation des BDNF-Gehaltes mit der Potenzierung der letzten 10 min der LTP-Messung mit Regressionsgerade der Kontrolle (schwarz) bzw.

(g) der einer kombinierten Applikation von DA-NE bei einem PT des DA 45 min und NE 10 min vor 1x25 Hz (dunkelbraun). Die Differenz in der Anzahl von Datenpunkten derselben Gruppe zwischen (e) und (f) bzw. (g) liegt an den Einschlusskriterien für LTP-Messungen und BDNF-ELISA-Messungen sowie den Ergebnissen des Outlier-Tests (siehe dazu Erläuterungen im Material- und Methodenteil).

3.3.7. Wirkung eines spezifischen D1- und eines spezifischen β -Agonisten auf die LTP im DH

3.3.7.1. Der D1-artige Rezeptoragonist Dihydropyridin wirkt verstärkend auf die SC-CA1-LTP

Weiterhin sollte der LTP-verstärkende Effekt des DA-rezeptorklassifiziert werden. Dies wurde mithilfe des vollen D1-artigen Agonisten **Dihydropyridin (DHP, 10 μ M)** durchgeführt. Anstelle der abgeschlossenen DA-Applikation erfolgte hier nun 45 min nach Abschluss der 10-minütigen DHP-Inkubation die LTP-Induktion mit 1x25 Hz-Stimulus.

Es konnte eine im Vergleich zur Kontrolle signifikante Erhöhung in der e-LTP beobachtet werden (Abb. 42 a und b; *Kontrolle*: $n=7/6$, LTP $121,60 \pm 4,7\%$; *PT des DHX 45 min vor 1x25 Hz*: $n=10/7$, LTP $150,22 \pm 11,2\%$; Mann-Whitney-U-Test $U=11$, $p=0,0185$). Die Analyse der synaptischen Ermüdung der SC-CA1-Synapsen auf den 1x25 Hz-Stimulus ergab in den ausgewählten Pulsnummern 2, 10 und 25 keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden untersuchten Gruppen ($p > 0,05$) (Abb. 42 c; für Messwerte und Statistik siehe Anlage). In Abb. 42 d ist das PPR bei einem ISI von 50 ms vor und nach der LTP dargestellt. In beiden Gruppen konnte eine signifikante Änderung im PPR vor und nach der LTP gezeigt werden (vor LTP: $1,82 \pm 0,1$ – nach LTP: *Kontrolle* ($n=6/5$): $3,14 \pm 0,2$, Wilcoxon-Test $W=21$, $p=0,0313$; *PT des DHX 45 min vor 1x25 Hz* ($n=9/6$): $4,84 \pm 1$, Wilcoxon-Test $W=45$, $p=0,0039$).

Im Rahmen des durchgeführten BDNF-ELISA zeigten sich in den Hippocampi zwischen der Kontroll- (K; $N=6$) und der DHX-45-Gruppe ($N=7$) unter den Bedingungen der passiven, d.h. unstimulierten Anwesenheit in der Kammer (*_passiv*) und der stimulierten akuten Schnitten (*_Stimulation*) keine signifikanten Unterschiede in den BDNF-Gehalten (Abb. 42 e; BDNF-Gehalt (in pg/ mg Gesamtprotein): *K_passiv* ($n/\bar{x}=7/13$): $897,98 \pm 56,7$; *K_Stimulation* ($n=7$): $894,92 \pm 39,8$; *DHX-45_passiv* ($n/\bar{x}=11/17$): $1051,16 \pm 39,5$; *DHX-45_Stimulation* ($n=10$): $983,35 \pm 83,5$; $p > 0,05$; einfaktorielle Anova $F_{(3,31)}=2,238$, $p=0,1035$).

Zusätzlich wurde der BDNF-Gehalt mit der Potenzierung der letzten 10 min der LTP-Messungen für beide Gruppen korreliert. In der Kontrollgruppe wurde kein linearer Zusammenhang gezeigt (Abb. 42 f; $n=7/6$; $r=0,08$, $p=0,8645$), wohingegen die DHX-45-Gruppe einen schwachen Zusammenhang zwischen LTP-Werten und den dazugehörigen BDNF-Gehalten aufwies (Abb. 42 g; $n=10/7$; $r=0,236$, $p=0,5738$).

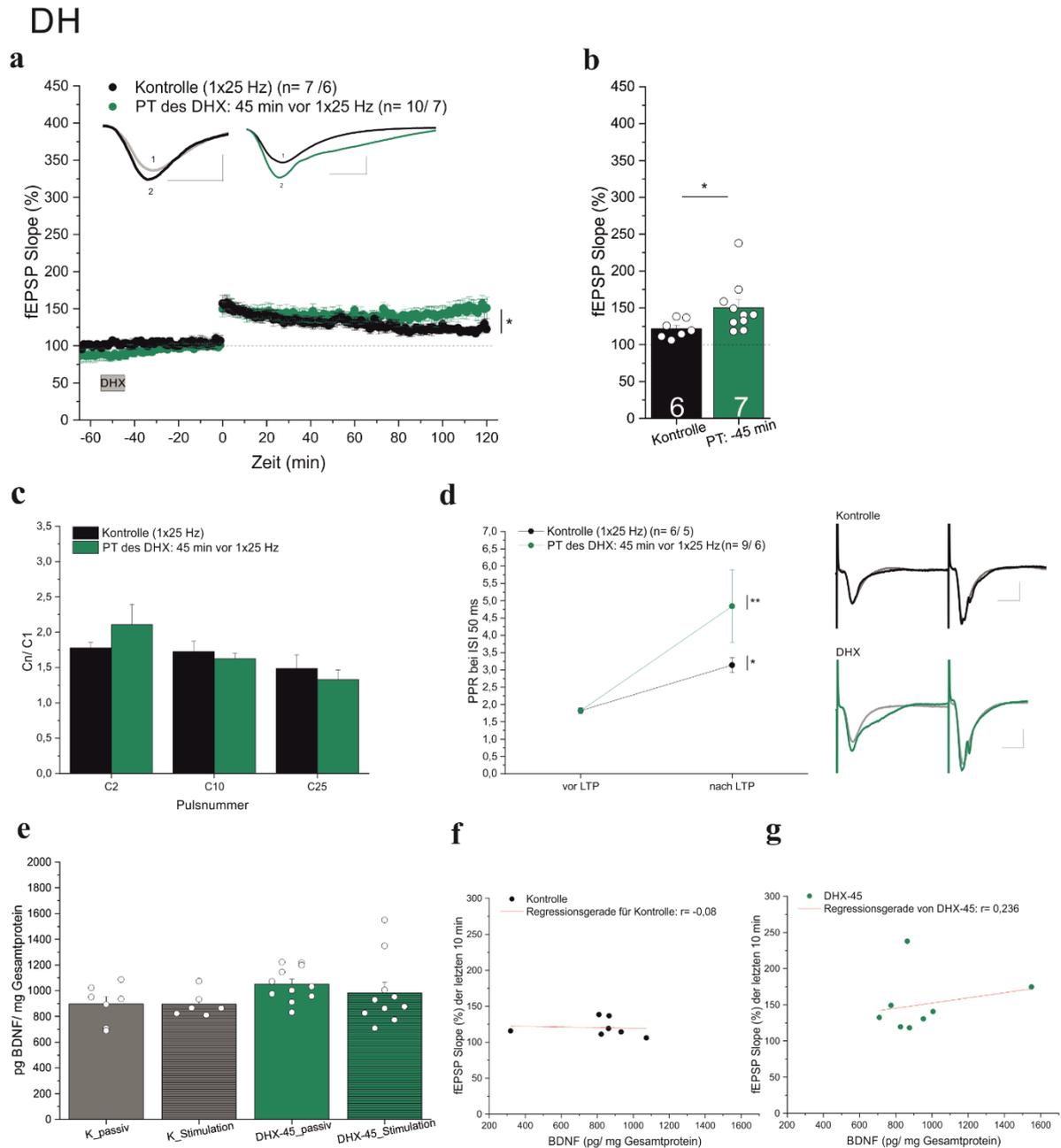


Abb. 42: LTP-verstärkender Effekt durch vollen D1-Agonisten DHX.

(a) Zeitlicher Verlauf der LTP-Messung der Kontrolle (schwarz; n= 7/ 6) und der bei einem PT des DHX 45 min vor 1x25 Hz (türkis; n= 10/ 7). Exemplarische Darstellung von repräsentativen originalen Feldpotentialspuren der letzten 10 min der Baseline-Messung (1) sowie die der letzten 10 min der gesamten Messung (2); **links:** Kontrolle, **rechts:** DHX; Maßstabsbalken: 1 mV/ 5 ms.

(b) Balkenstreuendiagramm der erreichten Potenzierung während der letzten 10 min der Messung. Zwischen beiden Gruppen konnte ein signifikanter Unterschied in der LTP gezeigt werden ($p \leq 0,05$ (*)).

(c) Die transiente, 10-minütige Anwesenheit von DHX zeigte im Vergleich zur Kontrolle keine veränderte synaptische Ermüdung der SC-CA1-Synapsen. Die Balkendiagramme stellen das mittlere Verhältnis (auf den ersten Puls normiert) der fEPSP-Antworten der verschiedenen Pulsnummern (2, 10 und 25) dar.

Es konnten in keinen der Pulsnummern signifikante Unterschiede gezeigt werden ($p > 0,05$).

(d) Signifikante Änderungen im PPR bei ISI 50ms vor und nach der LTP. Darstellung des PPR bei ISI 50 ms vor und nach der LTP der Kontrolle (schwarz; n= 6/ 5) und der bei einem PT des DHX 45 min

vor 1x25 Hz (türkis; n= 9/ 6). In beiden Gruppen konnte ein signifikanter Unterschied im PPR vor und nach der LTP gezeigt werden ($p \leq 0,05$ (*), $p \leq 0,01$ (**)). In der Teilabbildung rechts sind exemplarisch repräsentative originale Feldpotentialspuren nach Paarpulsstimulation mit einem ISI von 50 ms vor (grau) und nach der LTP (Kontrolle: schwarz, DHX: türkis) dargestellt; **oben:** Kontrolle, **unten:** DHX; Maßstabsbalken: 1 mV/ 10 ms.

(e) Darstellung der BDNF-Gehalte der Kontrolle (K; grau; N= 9) und der bei einem PT des DHX 45 min vor 1x25 Hz (DHX-45; türkis; N= 7) unter den Bedingungen der passiven, unstimulierten Anwesenheit in der Kammer (*_passiv*) sowie der stimulierten Hirnschnitte (*_Stimulation*, schraffiert). Es wurden keine signifikanten Unterschiede in den BDNF- Gehalten gezeigt ($p > 0,05$).

(f) Korrelation des BDNF-Gehaltes mit der Potenzierung der letzten 10 min der LTP-Messung mit Regressionsgerade der Kontrolle (schwarz) bzw.

(g) der bei einem PT des DHX 45 min vor 1x25 Hz (türkis). Die Differenz in der Anzahl von Datenpunkten derselben Gruppe zwischen (e) und (f) bzw. (g) liegt an den Einschlusskriterien für LTP-Messungen und BDNF-ELISA-Messungen sowie den Ergebnissen des Outlier-Tests (siehe dazu Erläuterungen im Material- und Methodenteil).

Zur Untersuchung des Einflusses des DHX auf die synaptische Übertragung ohne LTP-induzierenden Stimulus wurde 45 min nach Abschluss der 10-minütigen DHX-Inkubation zum Zeitpunkt 0 kein LTP-induzierender Stimulus ausgelöst.

Es konnte gezeigt werden, dass der volle D1-Agonist allein, d.h. ohne den LTP-induzierenden Stimulus (o.T.), die synaptische Übertragung nicht verändert (Abb. 43 a und b; *Kontrolle:* n= 7/ 6, LTP $121,60 \pm 4,7$ %; *PT des DHX 45 min vor Zeitpunkt 0 (kein 1x25 Hz-Stimulus (o.T.)):* n= 6/ 5, LTP $103,95 \pm 3,9$ %; Zweistichproben-t-Test $t_{(10,88)} = 2,884$, $p = 0,015$).

Im Rahmen des durchgeführten BDNF-ELISA konnten in den Hippocampi zwischen der Kontroll- (K; N= 6) und der DHX-45 (o.T.)-Gruppe (N= 6) unter den Bedingungen der passiven, d.h. unstimulierten Anwesenheit in der Kammer (*_passiv*) und der stimulierten akuten Schnitten (*_Stimulation*) mithilfe der Varianzanalyse signifikante Effekte aufgezeigt werden (Abb. 43 c; BDNF-Gehalt (in pg/ mg Gesamtprotein): *K_passiv* (n/ x= 7/ 13): $897,98 \pm 56,7$; *K_Stimulation* (n=7): $894,92 \pm 39,8$; *DHX-45 (o.T.)_passiv* (n/ x= 5/ 14): $1101,51 \pm 51,0$; *DHX-45 (o.T.)_Stimulation* (n= 5): $1132,92 \pm 32,8$; einfaktorielle Anova $F_{(3,20)} = 2,238$, $p = 0,0076$). Der zusätzlich durchgeführte *Post-hoc* Tukey-Test ergab einen signifikanten Unterschied zwischen *K_Stimulation* und *DHX-45 (o.T.)_Stimulation* ($p = 0,0163$). Die anderen Gruppen wiesen keine signifikanten Unterschiede auf ($p > 0,05$).

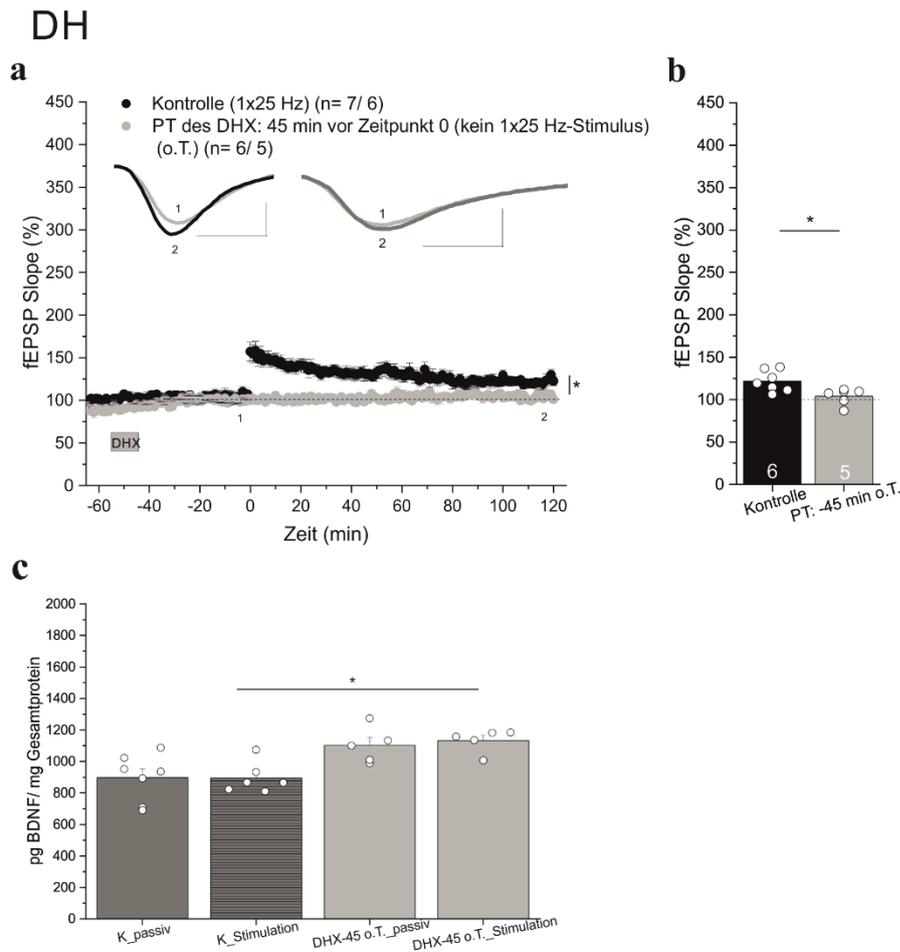


Abb. 43: Untersuchung des Einflusses des DHX auf die synaptische Übertragung ohne Auslösung des LTP-induzierenden Stimulus.

(a) Zeitlicher Verlauf der Kontroll-LTP-Messung (schwarz; n= 7/ 6) und der synaptischen Übertragung bei einem PT des DHX 45 min vor Zeitpunkt 0 (kein LTP-induzierender Stimulus, o.T.; hellgrau; n= 5/ 5). Exemplarische Darstellung von repräsentativen originalen Feldpotentialspuren der letzten 10 min der Baseline-Messung (1) sowie die der letzten 10 min der gesamten Messung (2); **links**: Kontrolle, **rechts**: DHX ohne 1x25 Hz (o.T.); Maßstabsbalken: 1 mV/ 5 ms.

(b) Balkenstreudiagramm der erreichten Potenzierung während der letzten 10 min der Messung. Zwischen beiden Gruppen konnte ein signifikanter Unterschied in der LTP gezeigt werden ($p \leq 0,05$ (*)).

(c) Signifikante Unterschiede in den BDNF-Gehalten der Kontrolle (K; grau; N= 6) und der bei einem PT des DHX 45 min vor Zeitpunkt 0 (ohne 1x25 Hz-Stimulus, DHX-45 (o.T.); hellgrau; N= 6) unter den Bedingungen der passiven, unstimulierten Anwesenheit in der Kammer (_passiv) sowie der stimulierten Hirnschnitte (_Stimulation, schraffiert).

Zwischen den Gruppen K_Stimulation und DHX-45(o.T.)_Stimulation konnten signifikante Unterschiede im BDNF-Gehalt gezeigt werden ($p \leq 0,05$ (*)), alle anderen Gruppen unterschieden sich nicht signifikant ($p > 0,05$).

3.3.7.2. Der β -Agonist Isoproterenol zeigt keine LTP-verstärkende Wirkung

Um die Wirkung des NE auf die e-LTP ebenfalls eines konkreten Rezeptortyps zu klassifizieren, wurde der β -Agonist **Isoproterenol (ISO, 1 μ M)** kombiniert mit der DA-Inkubation appliziert.

Bei Abschluss der 10-minütigen Inkubation der Hirnschnitte mit **DA 45 min vor und ISO 45 min nach** dem LTP-induzierenden 1x25 Hz-Stimulus konnte keine signifikante Veränderung der e-LTP im Vergleich zur Kontrollgruppe beobachtet werden (Abb. 44 a und b; *Kontrolle*: n= 9/ 6, LTP $138,53 \pm 8,3$ %; *kombinierte Applikation von DA-ISO bei einem PT des DA 45 min vor und ISO 45 min nach 1x25 Hz*: n= 11/ 6, LTP $224,67 \pm 53,3$; Mann-Whitney-U-Test U= 32, p= 0,1979).

In Abb. 44 c ist das PPR bei einem ISI von 50 ms vor und nach der LTP dargestellt. Lediglich in der Kontrollgruppe konnte eine signifikante Änderung im PPR vor und nach der LTP gezeigt werden (vor LTP: 1,78 – nach LTP: *Kontrolle* (n= 9/ 6): $3,73 \pm 0,9$, Wilcoxon-Test W= 43, p= 0,0078; *kombinierte Applikation von DA-ISO bei einem PT des DA 45 min vor und ISO 45 min nach 1x25 Hz* (n= 10/ 6): $3,18 \pm 0,5$, Wilcoxon-Test W= 33, p= 0,0547).

Im Rahmen des durchgeführten BDNF-ELISA zeigten sich in den Hippocampi zwischen der Kontroll- (K; N= 9) und der DA-ISO-Gruppe (N= 7) mithilfe der Varianzanalyse signifikante Unterschiede (Abb. 44 d; BDNF-Gehalt (in pg/ mg Gesamtprotein): *K_passiv* (n/ x= 9/ 22): $1018,98 \pm 103,4$; *K_Stimulation* (n= 11): $890,3 \pm 76,4$; *DA-ISO_passiv* (n/ x= 11/ 27): $1335,53 \pm 39,4$; *DA-ISO_Stimulation* (n= 6): $1246,79 \pm 94$; einfaktorielle Anova $F_{(3,39)} = 6,488$, p= 0,0011). Der zusätzlich durchgeführte *Post-hoc* Tukey-Test ergab einen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen *K_Stimulation* und *DA-ISO_Stimulation* (p= 0,0018). Die anderen Gruppen unterschieden sich nicht (p> 0,05).

Zusätzlich wurde der BDNF-Gehalt mit der Potenzierung der letzten 10 min der LTP-Messungen für beide Gruppen korreliert. In beiden Gruppen wurde ein mittlerer linearer Zusammenhang gezeigt (*Kontrolle* (n= 9/ 6): $r = 0,477$, p= 0,1939; Abb. 44 e; *DA-ISO* (n= 11/ 6): $r = -0,364$, p= 0,2706; Abb. 44 f).

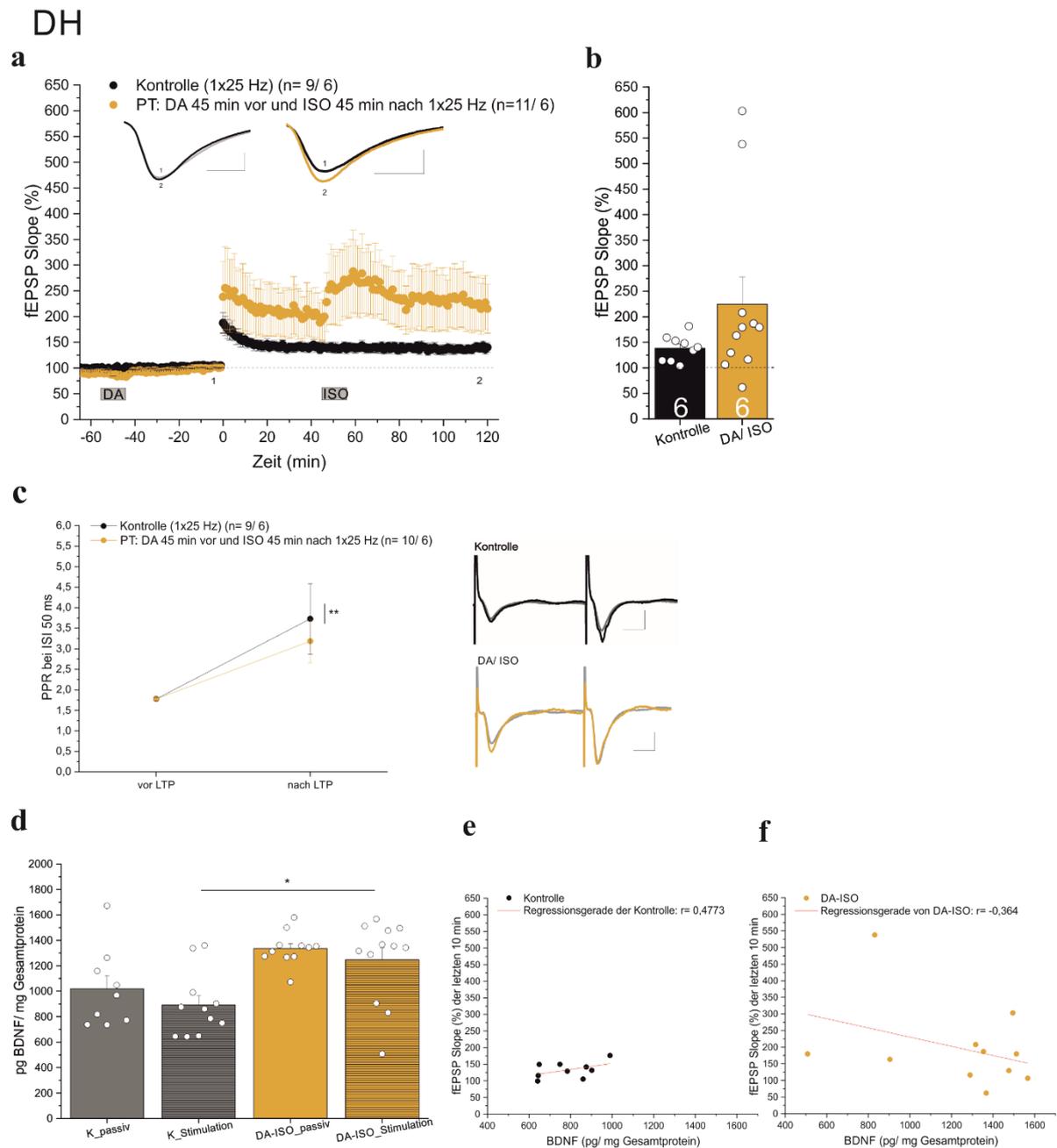


Abb. 44: Kein signifikant LTP-verstärkender Effekt durch den β -Agonisten Isoproterenol (ISO) im DH.

(a) Zeitlicher Verlauf der LTP-Messung der Kontrolle (schwarz; n= 9/ 6) und der einer kombinierten Applikation von DA-ISO bei einem PT des DA 45 min vor und ISO 45 min nach 1x25 Hz (goldorange; n= 11/ 6). Exemplarische Darstellung von repräsentativen originalen Feldpotentialspuren der letzten 10 min der Baseline-Messung (1) sowie die der letzten 10 min der gesamten Messung (2); **links:** Kontrolle, **rechts:** DA-ISO; Maßstabsbalken: 1 mV/ 5 ms.

(b) Balkenstreuendiagramm der erreichten Potenzierung während der letzten 10 min der Messung. Zwischen beiden Gruppen konnte kein signifikanter Unterschied in der LTP gezeigt werden ($p > 0,05$).

(c) Darstellung der PPR bei ISI 50 ms vor und nach der LTP der Kontrolle (schwarz; n= 9/ 6) und der einer kombinierten Applikation von DA-ISO bei einem PT des DA 45 min vor und ISO 45 min nach 1x25 Hz (goldorange; n= 10/ 6). In der Kontrollgruppe konnte ein signifikanter Unterschied im PPR vor und nach der LTP gezeigt werden ($p \leq 0,01$ (**)). In der Teilabbildung rechts sind exemplarisch

repräsentative originale Feldpotentialspuren nach Paarpulsstimulation mit einem ISI von 50 ms vor (grau) und nach der LTP (Kontrolle: schwarz, DA-ISO: goldorange) dargestellt; **oben:** Kontrolle, **unten:** DA-ISO; Maßstabsbalken: 1 mV/ 10 ms.

(d) Darstellung der BDNF-Gehalte der Kontrolle (K; grau; N= 9) und der einer kombinierten Wirkung bei einem PT des DA 45 min vor und ISO 45 min nach 1x25 Hz (DA-ISO; goldorange; N= 7) unter den Bedingungen der passiven, unstimulierten Anwesenheit in der Kammer (_passiv) sowie der stimulierten Hirnschnitte (_Stimulation, schraffiert).

Zwischen K_Stimulation und DA-ISO_Stimulation konnten signifikante Unterschiede im BDNF-Gehalt gezeigt werden ($p \leq 0,05$ (*)). Alle anderen Gruppen wiesen keine signifikanten Effekte auf ($p > 0,05$).

(e) Korrelation des BDNF-Gehaltes mit der Potenzierung der letzten 10 min der LTP-Messung mit Regressionsgerade der Kontrolle (schwarz) bzw.

(f) der einer kombinierten Applikation von DA-ISO bei einem PT des DA 45 min vor und ISO 45 min nach 1x25 Hz (goldorange). Die Differenz in der Anzahl von Datenpunkten derselben Gruppe zwischen (d) und (e) bzw. (f) liegt an den Einschlusskriterien für LTP-Messungen und BDNF-ELISA-Messungen sowie den Ergebnissen des Outlier-Tests (siehe dazu Erläuterungen im Material- und Methodenteil).

Bei der Zusammenfassung aller hier aufgeführten BDNF-ELISAs der durchgeführten neuromodulatorischen Experimente dieses Kapitels (_passiv und _Stimulation) wurden mithilfe der Varianzanalyse signifikante Effekte ermittelt (Abb. 45; einfaktorische Anova $F_{(17,152)} = 4,511$, $p < 0,0001$). Der zusätzlich durchgeführte *Post-hoc* Tukey-Test ergab signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen:

- DA-45-NE+45_passiv und DA-45-ISO+45_passiv ($p < 0,0001$)

- DA-45-NE+45_Stimulation und DA-45-ISO+45_Stimulation ($p < 0,0001$) bzw.

- DA-45-NE+45_Stimulation und DA-45-NE-10_Stimulation ($p = 0,0045$)

Alle anderen Gruppen unterschieden sich nicht signifikant ($p > 0,05$).

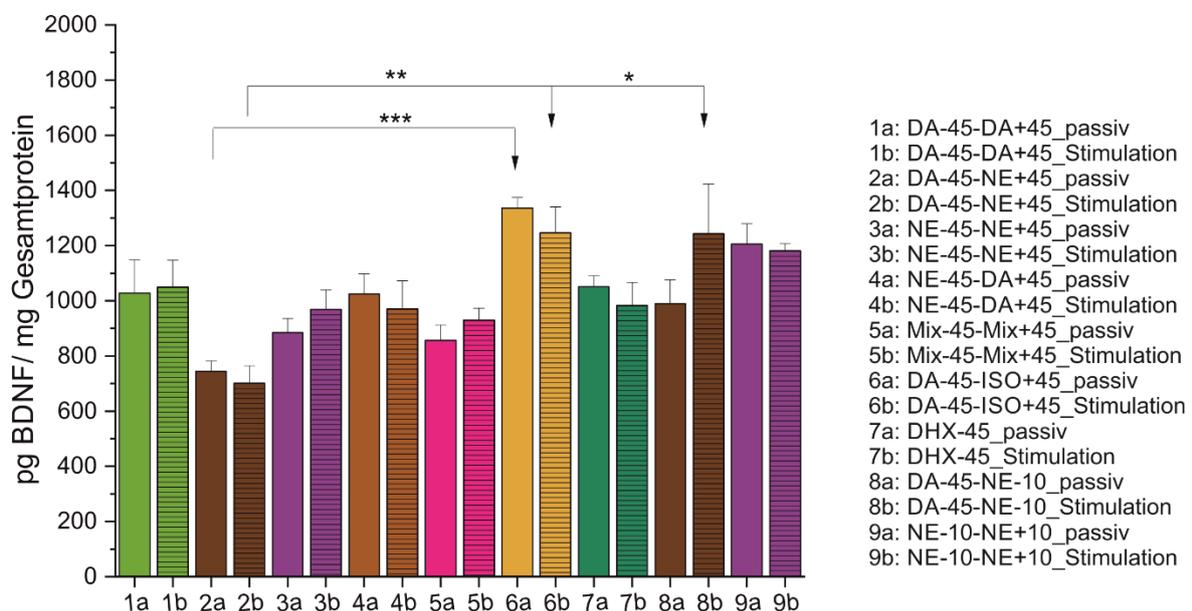


Abb. 45: Zusammenfassung der BDNF-Gehalte aller durchgeführten neuromodulatorischen Experimente unter den Bedingungen der passiven, unstimulierten Anwesenheit in der Kammer (_passiv) sowie der stimulierten Hirnschnitte (_Stimulation, schraffiert). Es konnten signifikante Unterschiede im BDNF-Gehalt zwischen den Gruppen 2a und 6a, 2b und 6b sowie zwischen 2b und 8b ermittelt werden ($p \leq 0,05$ (*), $p \leq 0,01$ (**), $p \leq 0,001$ (***)). Alle anderen Gruppen wiesen keine signifikanten Unterschiede auf ($p > 0,05$).

3.4. Möglicher Einfluss des Vit. C auf die Messparameter in den verschiedenen Hippocampi

In Abb. 46 sind die Reiz-Reaktionskurven der Messungen ohne (Abb. 46 a und c) sowie mit Vit.C (Abb. 46 b und d) separiert nach den in dieser Arbeit untersuchten Bereichen des Hippocampus dargestellt. Es konnte gezeigt werden, dass sich die Reiz-Reaktionskurven bei den betrachteten Stimulationsstärken von 200 und 400 μ A sowie die PPF bei den untersuchten ISIs sowohl ohne als auch mit Vit. C in den verschiedenen Abschnitten der Hippocampi teils signifikant voneinander unterscheiden. Die detaillierten statistischen Analysen finden sich in der Anlage.

Sowohl ohne als auch unter dem Einfluss des Vit. C unterschieden sich die Reiz-Reaktionskurven in den untersuchten Stimulationsstärken von 200 μ A und 400 μ A signifikant voneinander. Es konnten Unterschiede zwischen ventralen (VH) und dorsalen (DH) sowie ventralen und ventral-intermediären (VIH) Hippocampus gezeigt werden.

In der Analyse der PPF unter Einfluss des Vit. C konnten in allen ISIs zwischen allen drei Hippocampus-Arealen signifikante Unterschiede ermittelt werden, wohingegen sich ohne Vit. C lediglich VIH und DH sowie VH und DH signifikant unterschieden.

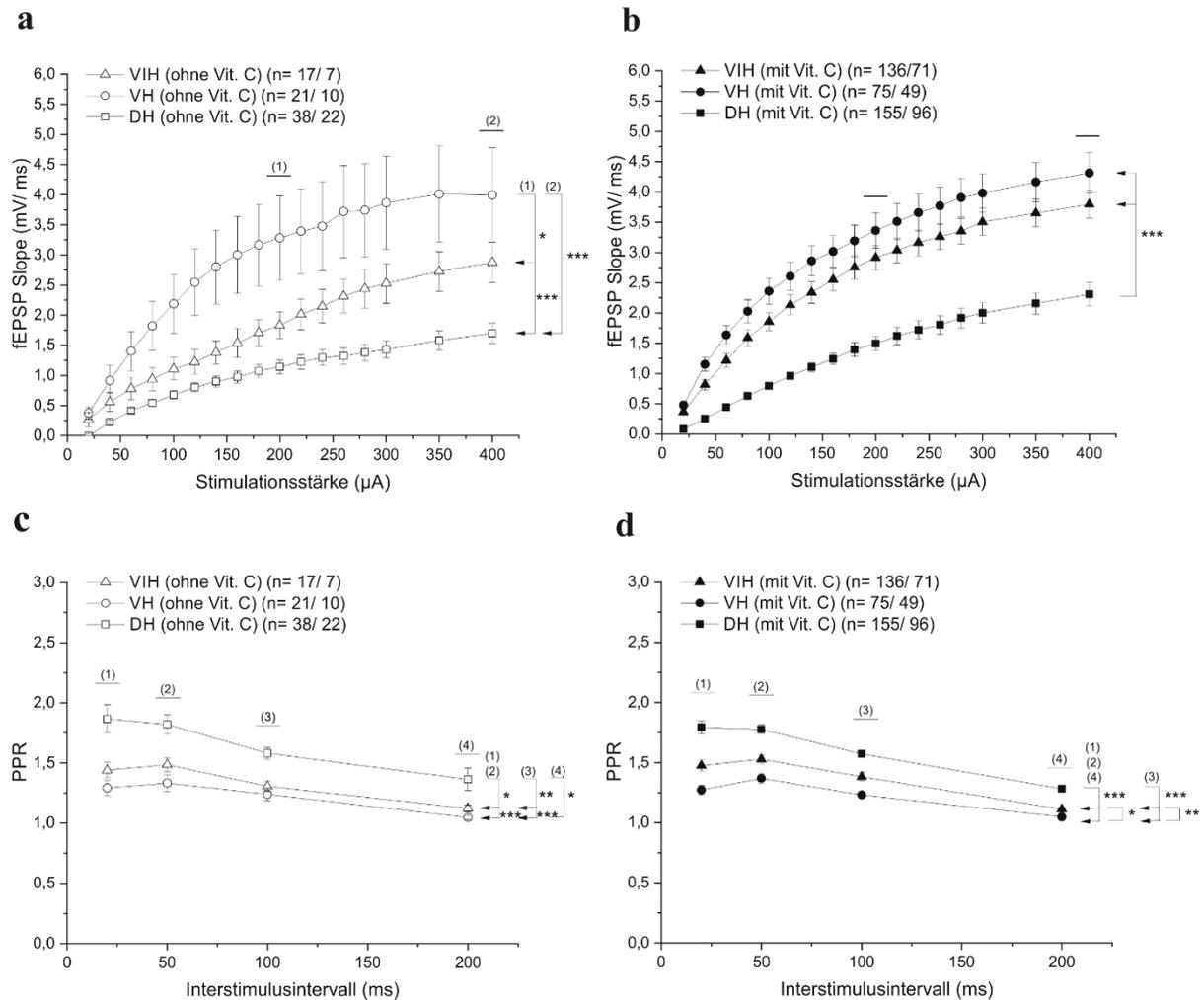


Abb. 46: Darstellung der basalen synaptischen Transmission und PPR bei verschiedenen ISI aller Experimente im ventral-intermediären (VIH; Symbol: Dreieck), ventralen (VH; Symbol: Kreis) und dorsalen Hippocampus (DH; Symbol: Viereck) sowohl ohne (unausgefüllte Symbole) als auch mit Vit. C (ausgefüllte Symbole).

(a) Vergleich der Reiz-Reaktionskurvenverläufe ohne bzw.

(b) mit Vit. C.

Es konnten in den untersuchten Stimulationsstärken von 200 μA und 400 μA signifikante Unterschiede zwischen den verschiedenen Hippocampi-Arealen beobachtet werden ($p \leq 0,05$ (*), $p \leq 0,001$ (***)).

(c) Vergleich der Darstellung des PPR unter Verwendung der verschiedenen ISIs 20, 50, 100 und 200 ms ohne bzw.

(d) mit Vit. C.

Es konnten in den verschiedenen ISIs signifikante Unterschiede zwischen den Hippocampi-Arealen gezeigt werden ($p \leq 0,05$ (*)), $p \leq 0,01$ (**), $p \leq 0,001$ (***)).

Separiert nach den Hippocampus-Arealen (Abb. 47), zeigten sich in der Analyse des Reiz-Reaktionskurvenverlaufes und des PPR mit und ohne Vit. C lediglich signifikante Unterschiede im DH.

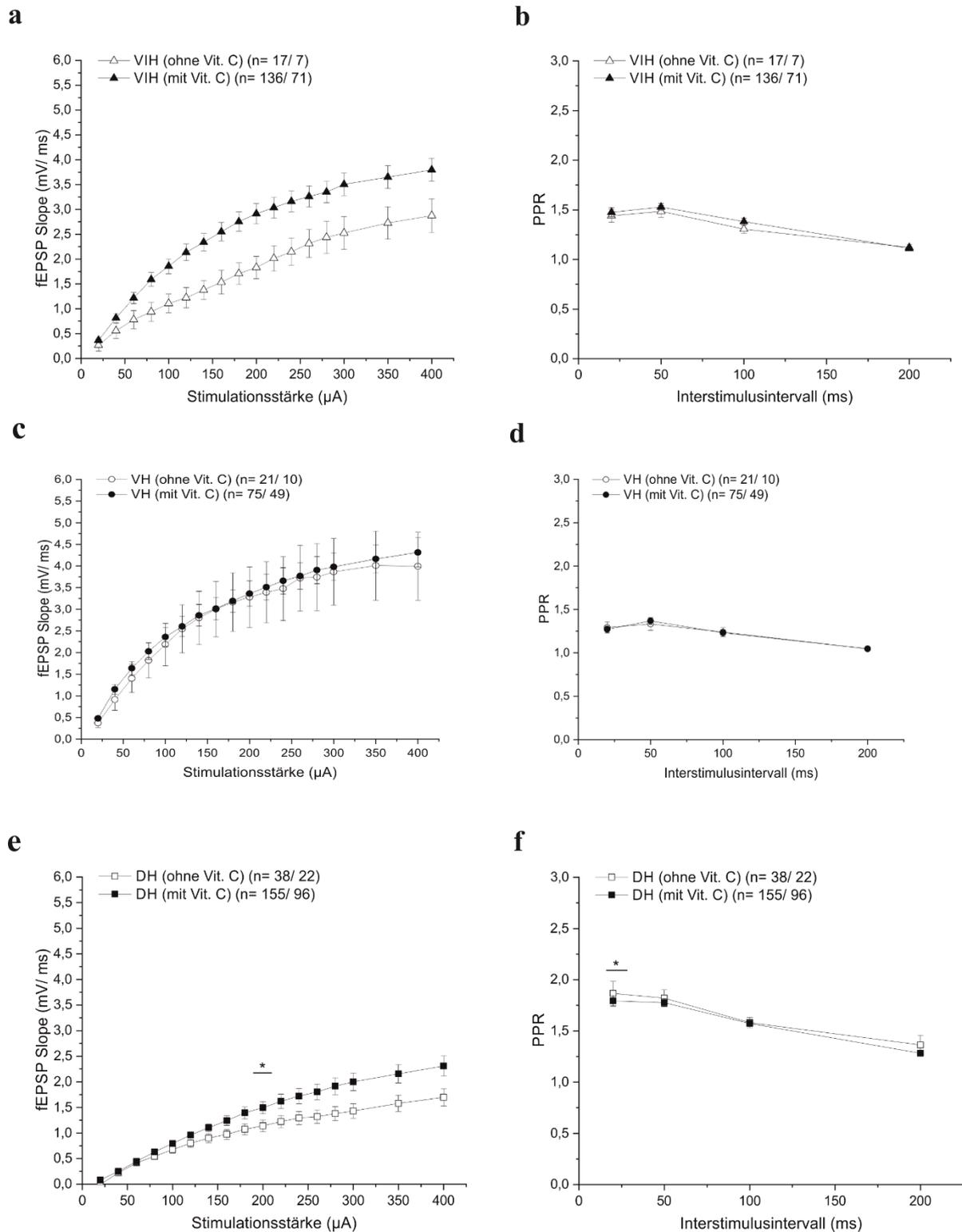


Abb. 47: Darstellung der basalen synaptischen Transmission (links) und PPR bei verschiedenen ISI (rechts) aller Experimente sowohl *ohne* (unausgefüllte Symbole) als auch *mit* Vit. C (ausgefüllte Symbole) separiert nach ventral-intermediären, (VIH), ventralen (VH) und dorsalen (DH) Hippocampus.

(a) Vergleich der Reiz-Reaktionskurvenverläufe ohne und mit Vit. C bzw.

(b) Vergleich der Darstellung des PPR unter Verwendung der verschiedenen ISIs 20, 50, 100 und 200 ms ohne und mit Vit. C im **VIH**.

(c) Vergleich der Reiz-Reaktionskurvenverläufe ohne und mit Vit. C bzw.

(b) Vergleich der Darstellung des PPR unter Verwendung der verschiedenen ISIs 20, 50, 100 und 200 ms ohne und mit Vit. C im **VH**.

(d) Vergleich der Reiz-Reaktionskurvenverläufe ohne und mit Vit. C bzw.

(e) Vergleich der Darstellung des PPR unter Verwendung der verschiedenen ISIs 20, 50, 100 und 200 ms ohne und mit Vit. C im **DH**.

Hier wurden bei einer Stimulationsstärke von 200 μA sowie bei einem ISI von 20 ms signifikante Unterschiede im Hinblick auf das Vorhandensein von Vit. C beobachtet ($p \leq 0,05$ (*)). Alle anderen Hippocampus-Areale wiesen in den analysierten Stimulationsstärken von 200 μA und 400 μA sowie bei den verschiedenen ISIs keine signifikanten Unterschiede auf ($p > 0,05$).

4. Diskussion

Der Hippocampus ist eine wichtige Gehirnstruktur, die u.a. an der Codierung und dem Abruf von Erinnerungen, der Verarbeitung sensorischer Informationen und an der Navigation beteiligt ist (Eichenbaum et al., 2016; Goode et al., 2020; Miliou et al., 2021).

Entlang seiner longitudinalen (septotemporalen) Achse können entsprechend der afferenten und efferenten Verbindungen zwei funktionelle Kompartimente unterschieden werden: während der dorsale (septale, DH) Hippocampus räumliches Lernen und Gedächtnis vermittelt, ist der ventrale (temporale, VH) Hippocampus vorrangig an emotionalen und affektiven sowie autonomen und endokrinen Reaktionen beteiligt (Moser & Moser, 1998; Fanselow & Dong, 2010; Strange et al., 2014; Dubovyk & Manahan-Vaughan, 2018).

Der Hippocampus weist sowohl für kurz- als auch langanhaltende Plastizitätsphänomene beeindruckende, entlang der longitudinale Achse ungleichmäßig verteilte Fähigkeiten auf (Bliss et al., 2007; Papatheodoropoulos & Kouvaros, 2016). Die synaptische Langzeitplastizität, im Speziellen die LTP, stellt einen wissenschaftlich anerkannten, zellulären Mechanismus zur Untersuchung von Lern- und Gedächtnisvorgängen dar (Matynia et al., 2002; Takeuchi et al., 2014; Papatheodoropoulos & Kouvaros, 2016) und kann durch Neurotransmitter wie Dopamin (DA) oder Noradrenalin (NE) beeinflusst werden.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde der neuromodulatorische Einfluss und die metaplastische Wirkung des Dopamins und Noradrenalins zu unterschiedlichen Zeitpunkten auf die Kurz- und Langzeitplastizität entlang der septotemporalen Achse untersucht: an akuten Hirnschnittpräparaten in männlichen, 8-15 Wochen alten C57BL/6J-Mäusen wurde die synaptische Plastizität an SC-CA1-Synapsen mithilfe extrazellulärer Feldpotentialableitungen analysiert.

Es wurden ausschließlich männliche Mäuse zur Untersuchung herangezogen, um mögliche Einflüsse zyklischer Östrogenschwankungen auf die LTP auszuschließen.

4.1. Neuromodulatorische Wirkung von DA auf die e-LTP

Aus der Literatur ist bekannt, dass Neuromodulatoren (z.B. DA, NE und Acetylcholin) und Neuromediatoren (z.B. BDNF, Stickstoffmonoxid, Endocannabinoide) auf die Ausbildung synaptischer Plastizität sowohl auf Einzelzellebene als auch auf Netzwerkniveau regulierend wirken (zusammengefasst in Edelman & Lessmann, 2018). Ferner beeinflussen sie neben der

Morphologie (wie dendritische Verzweigungen und Form der Spines) auch die molekulare Ausstattung synaptischer Strukturen (Edelmann et al., 2017). Durch eine konstante Anwesenheit von Neuromodulatoren oder durch deren phasische Konzentrationserhöhung wurde auf Einzelzelebene ein Einfluss auf die t-LTP und t-LTD gezeigt (zusammengefasst in Edelmann & Lessmann, 2018). DA ist zur Beeinflussung der e- und l-LTP sowohl an in dieser Dissertation untersuchten SC-CA1-Synapsen als auch an PP-DG- und MF-CA3-Synapsen des Hippocampus in der Lage (Gasbarri et al., 2018).

Zunächst wurde -wie institutsintern üblich- im ventral-intermediären Hippocampus der neuromodulatorische Einfluss exogen applizierten DA auf die hippocampale e-LTP untersucht (Kapitel 3.1.2.).

4.1.1. Die kontinuierliche Anwesenheit von DA verstärkt die e-LTP

Unsere Untersuchungen zeigten, dass die durch einen schwachen Stimulus induzierte e-LTP durch die kontinuierliche extrazelluläre Anwesenheit von DA verstärkt wird (Abb. 12). Dies deckt sich mit Erkenntnissen aus der Literatur, die eine langanhaltende Potenzierung durch sowohl die Applikation von exogenem DA selbst als auch eines D1/D5-Rezeptoragonisten eine langsam entstehende, langanhaltende Potenzierung in den Dendriten der CA1-Pyramidenzellen induziert (Huang & Kandel, 1995; Navakkode et al., 2007, 2012; Navakkode & Korte, 2012). Die Fazilitierung der LTP-Induktion und des LTP-Erhalts wird über D1-artige Mechanismen beschrieben: die Anwendung unterschwelliger (d.h. schwacher) LTP-Protokolle rufen in Anwesenheit von DA eine robuste LTP hervor (z.B. Swant & Wagner, 2006; zusammengefasst in Edelmann & Lessmann, 2018), was sich mit ebenfalls unseren Ergebnissen deckt. Die literarisch beschriebene Aktivierung von D1-artigen Rezeptoren mittels D1/D5R-Agonisten (wie z.B. Dihydroxid oder (+)-6-Bromo-APB Hydrobromid) rief eine e-LTP-verstärkende Wirkung hervor (Otmakhova & Lisman, 1996; Swant & Wagner, 2006), wohingegen sich bei der Applikation von D1/D5R-Antagonisten (z.B. SCH23390) (Frey et al., 1991; Huang & Kandel, 1995; Otmakhova & Lisman, 1996; Katsuki et al., 1997; Swant & Wagner, 2006) und der Aktivierung D2-artiger Prozesse eine abschwächende LTP-Wirkung zeigte (Gasbarri et al., 2018).

Dopamin ist zur Beeinflussung der Erregbarkeit glutamaterger Neurone durch die Modulation spannungsabhängiger Ionenkanäle in der Lage (Edelmann & Lessmann, 2011, 2013; Gasbarri et al., 2018). Je nach Rezeptorsubtypaktivierung wird die Erregbarkeit der CA1-Neurone

reguliert: durch einen D1R-abhängigen Mechanismus erfolgt eine Verringerung oder Verstärkung der spannungsabhängigen Na⁺-Kanalleitfähigkeit, der Modulierung von A-Typ K⁺-Kanälen sowie der zeitlichen Summation von EPSPs (zusammengefasst in Edelman & Lessmann, 2018). Die Aktivierung der D1-artigen Rezeptoren durch exogenes DA rief nicht nur in kultivierten hippocampalen Neuronen, sondern auch in akuten hippocampalen Schnitten eine verstärkte t-LTP in SC-CA1-Synapsen hervor (Zhang et al., 2009; Edelman & Lessmann, 2011, zusammengefasst in Edelman und Lessmann, 2018).

4.1.2. Dopamin verstärkt proaktiv, 45 min vor LTP-Induktion die e-LTP

In zahlreichen Publikationen konnte gezeigt werden, dass eine erleichterte Ausbildung und der Erhalt der t-LTP durch eine Aktivierung des neuromodulatorischen Systems sowohl pro- als auch retroaktiv hervorgerufen werden konnte (zusammengefasst in Edelman & Lessmann, 2018). Die als Metaplastizität beschriebene Eigenschaft, durch ein zu einem bestimmten Zeitpunkt ausgelöstes metaplastizitätsinduzierendes Ereignis (engl. *priming*) dauerhafte Veränderungen der synaptischen Plastizität (zusammengefasst in Ireland et al., 2009) und eine damit verbundene Modulation der Induktionsschwelle für die LTP hervorzurufen (Abraham, 2008), wurde im Rahmen dieser Dissertation auf Netzwerkniveau zu unterschiedlichen Zeitpunkten untersucht.

Dabei wurde exogenes DA für eine Dauer von 10 min zu unterschiedlichen Zeitpunkten, entweder vor (proaktiv, 45 min bzw. 10 min), zeitgleich mit (aktiv) oder nach (retroaktiv, 10 min bzw. 45 min) dem schwachen LTP-induzierenden Stimulus appliziert. Unsere Ergebnisse zeigten, dass die Aktivierung der Dopaminrezeptoren die e-LTP an den SC-CA1-Synapsen proaktiv, effektiv jedoch nur dann verstärkt, wenn der Agonist 45 min nach Abschluss der DA-Inkubation vor Gabe des LTP-induzierenden Stimulus appliziert wurde (Vgl. Abb. 13, Abb. 14). Eine Applikation des exogenen Dopamins sowohl zeitgleich mit als auch retroaktiv zu den o.g. Zeitpunkten nach dem Stimulus zeigte hingegen keine verstärkenden Effekte auf die e-LTP. Dies deckt sich mit der Literatur, in der die Metaplastizität als anhaltender Effekt einer anfänglichen neuronalen Aktivität definiert wird, die an den beteiligten Neuronen eine Veränderung hervorruft, so dass die Fähigkeit zur Auslösung synaptischer Plastizität zu einem späteren Zeitpunkt verändert ist (Ireland et al., 2009). Das 10-minütige Priming mit DA (als metaplastizitätsinduzierendes Ereignis) ausschließlich vor dem plastizitätsinduzierenden Ereignis (d.h. LTP-induzierender Stimulus) bedingt neuronale Veränderungen, die aufgrund

der Persistenz von 45 min die nachfolgende e-LTP regulieren (ausgelöst durch den LTP-induzierenden Stimulus).

4.1.3. Stabiler proaktiver e-LTP-verstärkender Effekt des Dopamins 45 min vor LTP-Induktion entlang der longitudinalen Achse

Die funktionelle Organisation der longitudinalen Achse des Hippocampus steht im Fokus wissenschaftlicher Untersuchungen. Es ist bekannt, dass der VH u.a. emotionale und autonome Reaktionen reguliert (Moser & Moser, 1998; Fanselow & Dong, 2010; Strange et al., 2014; Dubovyk & Manahan-Vaughan, 2018) und der DH für die räumliche Orientierungsfähigkeit verantwortlich ist (Fanselow & Dong, 2010). Außerdem ist beschrieben, dass der DH eine stärker ausgeprägte Fähigkeit zur Ausbildung einer LTP durch einen hochfrequenten Stimulus im Vergleich zum VH aufweist (Papatheodoropoulos & Kostopoulos, 2000; Maruki et al., 2001; Colgin et al., 2004; Maggio & Segal, 2009; Kenney & Manahan-Vaughan, 2013; Keralapurath et al., 2014; Papatheodoropoulos & Kouvaros, 2016).

Im Rahmen dieser Dissertation wurden die neuromodulatorischen (und metaplastischen) Effekte des DA zu unterschiedlichen Zeitpunkten entlang der longitudinalen Achse untersucht.

Dabei konnten wir zeigen, dass über die longitudinale Achse hinweg ein ausschließlich proaktives, 45 min vor der LTP-Induktion stattfindendes DA-Priming zu einer Verstärkung der e-LTP führt (Abb. 24, Abb. 30), wohingegen die retroaktive Dopaminrezeptor-Stimulation in allen untersuchten hippocampalen Regionen keine LTP-Verstärkung hervorrief. Dies deckt sich mit den Ergebnissen von Huang und Kandel, die im Rahmen von durchgeführten Feldpotentialmessungen ebenfalls durch die retroaktive Applikation eines D1/D5R-Agonisten keine LTP-verstärkende Wirkung beschrieben (Huang & Kandel, 1995).

Dieses in allen Regionen des Hippocampus entlang der longitudinalen Achse auftretende effektive proaktive Priming (d.h. 45 min vor der LTP-Induktion) kann möglicherweise darin begründet sein, dass die Zeitspanne von 45 min für die ausreichend starke Expression plastizitätsrelevanter Proteine (PRPs) benötigt wird. Als mögliche PRPs, die infolge synaptischer Aktivierung oder postsynaptischer Aktivität aktiviert oder neu synthetisiert werden (Abraham, 2008), sind u.a. PKM ζ , Arc (z.B. Vishnoi et al., 2018) und BDNF (Pang et al., 2004) beschrieben, die für den Aufbau persistierender Formen der LTP (d.h. l-LTP) benötigt werden (Abraham, 2008).

Einen retroaktiven Effekt konnten Otmakhova & Lisman durch einen D1/D5-Agonisten nur durch Stimulation zweier unabhängiger Eingänge zu derselben Zellpopulation zeigen; eine alleinige Signalwegstimulation zeigte durch die Applikation des Agonisten nach dem LTP-induzierenden Stimulus keine verstärkende Wirkung (Otmakhova & Lisman, 1996). Ferner konnten Li und Kollegen in *in-vivo* Untersuchungen an Ratten beobachten, dass die Erkundung einer neuen Umgebung sowohl hinsichtlich ihrer Dauer als auch der zeitlichen Abfolge bis zur Gabe eines schwachen LTP-induzierenden Stimulus einem engen, effektiven Zeitfenster unterliegt, um eine LTP-verstärkende Wirkung hervorzurufen. Auch in diesen Experimenten scheint die Aktivierung des dopaminergen Systems retroaktiv keine LTP-Verstärkung hervorzurufen (Li et al., 2003). Dies unterstützt unsere Ergebnisse der ausschließlich proaktiven, LTP-verstärkenden Wirkung 45 min vor dem LTP-induzierenden Stimulus in allen untersuchten Regionen des Hippocampus.

Möglicherweise könnte sich durch längerandauernde Messungen (> 1-2 h nach LTP-Induktion) ein sowohl proaktiver Effekt, d.h. 10 min vor als auch ein aktiver Effekt, d.h. eine zeitgleich mit dem LTP-induzierenden Stimulus ablaufende DA-Applikation zeigen. Eine Erklärung dafür, dass unser DA-Priming zu diesen Zeitpunkten keine e-LTP verstärkende Wirkung erzielte (siehe Abb. 14, Abb. 15), könnte die folgende sein: das exogen hinzugefügte DA aktiviert die D1-artigen Rezeptoren, jedoch aufgrund der kurzen Zeitspanne bis zum Zeitpunkt der tetanischen Stimulation können die nachgeschalteten Signalkaskaden die Signalwege nicht (ausreichend) aktivieren, die die e-LTP effizient verstärken würden. Für eine ausreichende PRP-Expression ist das Zeitintervall zwischen dem DA-Priming und der Plastizitätsinduktion (d.h. LTP-induzierender Stimulus) möglicherweise zu kurz oder die durch die PRPs hervorgerufenen, typischerweise 1- LTP verstärkenden Effekte werden durch die ein-bis zweistündigen fEPSP-Ableitungen nach der LTP-Induktion verdeckt.

Die tetanische Stimulation selbst bedingt eine Freisetzung von endogenem DA (Frey et al., 1990; Otmakhova & Lisman, 1996), welches, möglicherweise über die Aktivierung D2-artiger Rezeptoren (Swant & Wagner, 2006), zu einer Verhinderung des LTP-Erhalts führen (Gasbarri et al., 2018). Zur Überprüfung dieser Vermutung sind weitere, längerdauernde Messungen, auch unter Zuhilfenahme von D2-artigen Rezeptorantagonisten wie Sulpirid oder Domperidon, erforderlich.

Sowohl das Ursprungsgebiet dopaminerger Axone (LC, VTA) als auch die dopaminerge Faserverteilung auf die verschiedenen hippocampalen Regionen entlang der longitudinalen Achse wird kontrovers diskutiert (zusammengefasst in Edelman & Lessmann, 2018). Einige Publikationen von beispielsweise Lemon & Manahan-Vaughan sowie Smith & Greene deuten darauf hin, dass dopaminerge Neurone aus dem LC in den DH projizieren (Devoto & Flore, 2006; Lemon & Manahan-Vaughan, 2012; Smith & Greene, 2012; Kempadoo et al., 2016), wohingegen andere Arbeitsgruppen die VTA als dopaminerge Hauptquelle des DH ansehen (Gasbarri et al., 1994, 1997; McNamara et al., 2014; Kempadoo et al., 2016; Vgl. Edelman & Lessmann, 2018).

Die in der Literatur beschriebenen Innervationsmuster dopaminerger Fasern unterscheiden sich in Abhängigkeit von der jeweiligen Schnittführung bei der Anfertigung von akuten Hirn- bzw. isolierten Hippocampuschnitten (coronal, transversal, sagittal und horizontal) und der betrachteten hippocampalen Region (dorsaler, ventraler und intermediärer Hippocampus). So zeigten Gasbarri und Kollegen sowie Verney und Kollegen, dass der VH eine hohe dopaminerge Faserdichte im Subiculum und in der CA1-Region aufweist, während diese in der CA3-Region und im DG geringer ist (Verney et al., 1985; Gasbarri et al., 1994; zusammengefasst in Edelman & Lessmann, 2018). Andere Publikationen hingegen beschreiben entweder keine unterschiedliche Verteilung entlang der longitudinalen Achse (Gasbarri et al., 1994) oder eine im VH generell geringe dopaminerge Innervation (Hörtnagl et al., 1991; zusammengefasst in Edelman & Lessmann, 2018). Die größere dopaminerge Innervation des DH wurde durch Ishikawa und Kollegen aufgrund der dort ermittelten vier- bis zehnfach höheren DA-Konzentration angenommen (Ishikawa et al., 1982; zusammengefasst in Edelman & Lessmann, 2018). Wir fertigten für unsere elektrophysiologischen Messungen transversale und coronale Hirnschnitte an.

Die Zielregion postsynaptischer SC stellen die basalen und apikalen Dendriten der CA1-Pyramidenzellen dar (Megias et al., 2001; Witter, 2007; Edelman et al., 2017). Die CA1-Region weist eine unterschiedliche Innervationsdichte dopaminerger Fasern auf, die von der Distanz vom Soma abhängig ist (Edelman et al., 2017). Es wurde beschrieben, dass distal gelegene Pyramidenzellen der CA3-Region hauptsächlich zu den apikalen CA1-Dendriten projizieren, wohingegen die basalen CA1-Dendriten stärkeren Input der proximalen CA3-Pyramidenzellen erhalten (Spruston, 2008; Edelman et al., 2017). In apikalen dendritischen Spines der CA1-Pyramidenzellen werden die D1Rs vorrangig exprimiert; die D5Rs sind im Schaftbereich zwischen den Spines der CA1-Neurone lokalisiert, wo synaptische Kontakte mit

inhibitorischen GABAergen Interneuronen geformt werden (Yao et al., 2008; Edelmann et al., 2017). Im Rahmen der in dieser Dissertation durchgeführten extrazellulären Feldpotentialmessungen erfolgte die Registrierung synaptischer Aktivität im apikalen dendritischen Bereich der CA1-Pyramidenzellen, dem Stratum radiatum. Daher ist es wahrscheinlich, dass hauptsächlich die Axone der distalen CA3-Pyramidenzellen mit der Stimulationselektrode gereizt wurden, die folglich Potentialänderungen der SC-CA1-Synapsen hervorriefen.

Durch Navakkode und Kollegen konnte gezeigt werden, dass die Aktivierung dopaminerger Rezeptoren durch exogenes DA in basalen und apikalen Dendriten der CA1-Pyramidenzellen eine langandauernde LTP -jedoch mit verschiedenen zugrundeliegenden Signalmechanismen-induziert. In den apikalen Dendriten benötigt diese DA-abhängige LTP die Aktivierung von NMDARs, wohingegen in den basalen Dendriten der CA1-Pyramidenzellen die zusätzliche Aktivierung spannungsabhängiger L-Typ Ca^{2+} -Kanäle erforderlich ist (Navakkode et al., 2012). Im Rahmen dieser Dissertation wurden extrazelluläre Feldpotentialmessungen im Stratum radiatum zur Registrierung synaptischer Aktivität im apikalen dendritischen Bereich der CA1-Pyramidenzellen vorgenommen. Daher ist davon auszugehen, dass auch in unseren Experimenten, wie durch Navakodde und Kollegen beschrieben, eine synergistische Aktivität von D1-artigen und NMDA-Rezeptoren für die Induktion und Aufrechterhaltung der DA-abhängigen LTP in den apikalen Dendriten benötigt wird (Navakkode et al., 2007, 2010, 2012). Zur Untersuchung dieses Synergismus ist eine Co-Applikation des selektiven NMDAR-Antagonisten 2-Amino-5-Phosphonovaleriansäure (APV) mit DA empfehlenswert.

4.1.4. Effekte der zusätzlichen retroaktiven Applikation bzw. eines spezifischen D1-Rezeptoragonisten auf die e-LTP im DH

Die proaktive Wirkung des exogen hinzugefügten DA 45 min vor der LTP-Induktion zeigte im DH durch eine zusätzliche retroaktive Applikation von DA bzw. NE keine Verstärkung der e-LTP (Abb. 35, Abb. 36). Möglicherweise ruft die proaktive Aktivierung des dopaminergen Systems mit nachfolgendem LTP-Induktionsstimulus bereits eine maximale Ausschöpfung der Systemkapazität hervor, die durch die zusätzliche Applikation von DA bzw. NE somit nicht (effektiv) gesteigert werden kann.

Wir konnten weiterhin zeigen, dass das alleinige proaktive DA-Priming 45 min vor der LTP-Induktion, welches über die gesamte longitudinale Achse hinweg effektiv die e-LTP verstärkte, durch D1-artigen Rezeptoren vermittelt wurde. Die Applikation des D1/D5-Agonisten

Dihydroxydiphenylamin (10 μ M) anstelle des DA verstärkte ebenfalls ein signifikant die e-LTP (Abb. 42). Dieses Ergebnis unterstützt die in der Literatur beschriebene modulierende Rolle des DA auf die hippocampale synaptische Plastizität, welche vorrangig durch D1/D5-Rezeptoren vermittelt wird (Roggenhofer et al., 2010; Hansen & Manahan-Vaughan, 2014; Papaleonidopoulos et al., 2018). Es ist bekannt, dass die Aktivierung der D1-artigen Rezeptoren im DH zur Förderung von Aufmerksamkeit, episodischer Gedächtnisformation, räumlichem Lernen und synaptischer Plastizität beiträgt (Huang & Kandel, 1995; Xing et al., 2010; da Silva et al., 2012; Kempadoo et al., 2016). Es konnte gezeigt werden, dass schon eine neue Umgebung (engl. *novelty*), was z.B. bei Nagern bereits ein neuer Käfig darstellen kann, genügt, um die dopaminergen Neurone zu aktivieren und den Neurotransmitter im Hippocampus vermehrt freizusetzen (Lisman & Grace, 2005). Li und Kollegen entdeckten an Ratten, dass ein schwacher Tetanus, der allein selbst nicht in der Lage zur Potenzierung ist, durch eine fünfminütige Erkundung einer neuen Umgebung zu einer stabilen LTP-Induktion in den CA1-Synapsen führt - dabei war die Aktivierung der D1-artigen Rezeptoren für Verstärkung der LTP-Induktion verantwortlich (Li et al., 2003). Dies unterstützt unsere o.g. Erkenntnis zur Beteiligung der D1-artigen Rezeptoren am proaktiven DA-Priming und der somit mit der Metaplastizität im Zusammenhang stehenden nachfolgenden Beeinflussung (d.h. Verstärkung) der e-LTP.

Zur Analyse der möglicherweise mit diesen Priming-Experimenten im Zusammenhang stehende, entlang der longitudinalen Achse bestehenden, unterschiedlichen Expression der D1-artigen Rezeptoren in der CA1-Region könnte die Anwendung einer quantitativen Polymerasekettenreaktion (q-PCR) zur Detektion und Quantifizierung von mRNA sowie der Western Blot zur Proteinanalyse der experimentbezogen stimulierten Hippocampi hilfreich sein. Dazu sollten nach den durchgeführten elektrophysiologischen Messungen die nachfolgenden Analysen ausschließlich an isolierten CA1-Regionen durchgeführt werden. Dies ermöglicht die Detektion möglicher Veränderungen in der Rezeptoranzahl und -dichte oder der Signalkaskade, die zu den beobachteten Phänomenen beitragen könnten.

In der Literatur ist beschrieben, dass an den SC-CA1-Synapsen die von der Proteinsynthese unabhängige e-LTP postsynaptisch exprimiert zu sein scheint und folglich bereits existierende AMPAR phosphoryliert und seitlich verlagert werden oder eine Einlagerung AMPAR-haltiger Vesikel in die postsynaptische Membran stattfindet (Lu et al., 2014; Edelmann et al., 2017). Eine wesentliche Rolle für die synaptische Plastizität spielt die phosphorylierte AMPAR-UE GluR1 (Lee et al., 2003). Ferner ist bekannt, dass durch Aktivierung der D1-artigen Rezeptoren, in Abhängigkeit von der Zusammensetzung der NMDAR-UEs, eine erhöhte NMDAR-bedingte

Transmission beobachtet werden konnte (Cepeda et al., 1998; Varela et al., 2009; Papaleonidopoulos et al., 2018). So werden durch Aktivierung der D1/D5Rs synaptische Antworten in der CA1-Region durch NR2B-enthaltende NMDARs potenziert, wohingegen diese durch die NR2A-UE reduziert werden. In der CA1-Region konnte im DH ein höheres Verhältnis zwischen NR2B und NR2A-UEs als im VH beobachtet werden (Pandis et al., 2006; Papaleonidopoulos et al., 2018). Zur Analyse, ob der hier genutzte LTP-induzierende Stimulus sowie die Aktivierung der D1-artigen Rezeptoren durch das exogene DA zu unterschiedlichen Zeitpunkten in der CA1-Region in allen hippocampalen Kompartimenten eine NMDAR-Abhängigkeit aufweisen, könnte, wie bereits beschrieben, die Nutzung des selektiven NMDAR-Antagonisten 2-Amino-5-Phosphonovaleriansäure (APV) hilfreich sein. Weiterführend könnten dann zur Detektion möglicher Unterschiede hinsichtlich der Verteilung der NMDAR-UEs sowohl mittels extrazellulärer Feldpotentialmessungen als auch unter (gleichzeitigem) Einsatz der Patch-Clamp-Technik an Einzelzellen der CA1-Region die Verwendung selektiver NR2A- bzw. NR2B-Antagonisten von großem Nutzen sein. Außerdem kann Picrotoxin zur Hemmung von GABA-Rs sowie zur Antagonisierung von AMPA- und Kainat-Rezeptoren NBQX (2,3-Dioxo-6-nitro-1,2,3,4-tetrahydrobenzo[f]chinoxalin-7-sulfonamid) verwendet werden. Ferner ist eine Isolierung der untersuchten CA1-Region empfehlenswert.

4.2. Neuromodulatorische Wirkung von NE auf die e-LTP

4.2.1. Noradrenalin verstärkt proaktiv, 10 min vor LTP-Induktion die e-LTP

Frühere Studien zeigten, dass die Aktivierung von sowohl prä- als auch postsynaptisch befindlichen β -adrenergen Rezeptoren die neuronale Erregbarkeit und Transmitterfreisetzung reguliert und die synaptische Plastizität im Hippocampus reguliert (zusammengefasst in Miliou et al., 2021). Aus der Literatur ist ferner auch bekannt, dass sich die adrenerge Transmission u.a. hinsichtlich der Modulation langanhaltender synaptischer Plastizität (Papaleonidopoulos & Papatheodoropoulos, 2018; Miliou et al., 2021), der extrazelluläre Noradrenalinspiegel sowie der Dichte adrenerger Nerven terminalien (Gage & Thompson, 1980; Miliou et al., 2021) entlang der septotemporalen Achse unterscheidet und all diese im VH eine stärkere Ausprägung zeigen (Miliou et al., 2021). Maity und Kollegen zeigten an Mäusen, bei denen für elektrophysiologische Messungen die Hippocampi isoliert und transversal geschnitten wurden,

dass bei einer 15-minütigen Applikation von NE (10 μ M) und 30-minütig später erfolgender Tetanisation (1x100 Hz) die LTP-Induktion faziilitiert wurde (Maity et al., 2015).

Auf diesen Erkenntnissen der proaktiven Wirkung des NE basierend erfolgte zunächst im VIH die Untersuchung des neuromodulatorischen Einflusses des exogen applizierten NE (20 μ M) auf die e-LTP an SC-CA1-Synapsen (Kapitel 3.1.3.). Die 10-minütige Applikation des NE wurde -wie bereits bei der Applikation von DA beschrieben- zu unterschiedlichen Zeitpunkten untersucht.

Wir konnten zeigen, dass die proaktive Aktivierung des β -adrenergen Systems im VIH eine verstärkte e-LTP an den SC-CA1-Synapsen auslöste, effektiv jedoch nur 10 min vor dem LTP-induzierenden Stimulus (Vgl. Abb. 18, Abb. 19). Die Applikation des exogenen NEs sowohl zeitgleich mit dem LTP-induzierenden Stimulus als auch retroaktiv zu den o.g. Zeitpunkten bedingten keine verstärkenden Effekte auf die e-LTP. Dies legt die Vermutung nahe, dass die kurze Zeitspanne von 10 min zwischen dem metaplastizitätsinduzierenden Ereignis, d.h. NE-Priming und der LTP-Induktion ausreicht, damit die PRPs in ausreichender Menge für eine effektive Wirkung auf die e-LTP vorliegen. Eine verlängerter Zeitraum zwischen vollendeter NE-Applikation und anschließendem LTP-induzierenden Stimulus trifft möglicherweise auf einen bereits in Gang gesetzten PRP-Mechanismus, der infolge dessen zu einer Erhöhung der e-LTP nicht mehr modulierend beitragen kann.

4.2.2. Keine e-LTP-verstärkenden Effekte von Noradrenalin entlang der longitudinalen Achse

Anschließend wurden die neuromodulatorischen Effekte des NE auf die e-LTP ebenfalls im VH und DH (Kapitel 3.2.3. und Kapitel 3.3.3.) untersucht, um mögliche Unterschiede entlang der longitudinalen Achse zu detektieren. Dabei zeigte sich in beiden Regionen durch die pro- bzw. retroaktive Applikation des exogenen NE keine e-LTP-verstärkende Wirkung (Abb. 26- Abb. 28; Abb. 32- Abb. 34). Dies legt die Vermutung nahe, dass der im VIH vorliegende proaktive e-LTP-verstärkende NE-Effekt 10 min vor dem LTP-induzierenden Stimulus (Abb. 19) wahrscheinlich durch vorrangig an intermediären Hippocampi vorgenommenen Messungen, die diese LTP-verstärkende Wirkung zeigten, durchgeführt wurden. Konkrete individuelle vorzunehmende Zuordnungen bzw. Korrelationen hinsichtlich der elektrophysiologisch stimulierten Hippocampusregionen und der LTP-Daten in diesem Falle sind im Nachhinein nicht mehr möglich. In *in-vitro*-Untersuchungen der synaptischen Plastizität entlang der longitudinalen Achse wurde in der Literatur für den intermediären

Hippocampus eine im Vergleich zum DH schwächere, im Vergleich zum VH stärkere LTP beschrieben (Milior et al., 2016). Weiterhin ist bei der Interpretation unserer Ergebnisse zu berücksichtigen, dass sich der angewandte schwache LTP-induzierende Stimulus im VIH (1x100 Hz) zu dem im VH bzw. DH (1x25 Hz) unterscheidet und dies möglicherweise den dortigen proaktiven LTP-verstärkenden Effekt bedingt. Ferner kann in unseren Versuchen nicht ausgeschlossen werden, dass erhöhte Stresslevel der Mäuse die LTP beeinflussen. Stress als biologisch signifikanter Faktor ist in der Lage, kognitive Funktionen und die hippocampale synaptische Plastizität zu beeinflussen (zusammengefasst in Maggio & Segal, 2007). Untersuchungen durch Maggio und Segal zeigten, dass im VH die im Vergleich zum DH geringere LTP durch Stress verstärkt wird, wohingegen im DH gegenläufige Effekte beobachtet werden konnten (Maggio & Segal, 2007). Zur Überprüfung möglicher stressbedingter Effekte könnte die individuelle Bestimmung der Corticosteronkonzentration im Blutserum hilfreich sein.

Die im DH zusätzlich durchgeführte kombinierte pro- und retroaktive Applikation mit NE bzw. DA und einer Mixtur (Mix) beider Catecholamine verstärkte die e-LTP ebenfalls nicht (Abb. 37- Abb. 40).

Die Wirkungen des NE scheinen frequenzabhängig zu sein, da Katsuki und Kollegen an Rattenhippocampi -die für elektrophysiologische Messungen isoliert und transversal geschnitten wurden- gezeigt haben, dass NE (10 μ M) in Kombination mit einem TBS (10 Bursts (oder weniger) mit 4 Trains bei 100 Hz) keine LTP-verstärkende Wirkung hervorruft. Die Applikation von NE mit einem LTD-induzierenden Stimulus niedriger Frequenz (z.B. 1-3 Hz) bedingt eine signifikante LTD, wohingegen höhere Frequenzen (z.B. 30 Hz) in einer LTP resultieren (Katsuki et al., 1997). Die hier erwähnten höheren Frequenzen sind denen im VH und DH angewandten LTP-induzierenden Stimuli recht ähnlich. Möglicherweise unterscheiden sich die in dieser Arbeit gewonnenen Ergebnisse mit denen von Katsuki und Kollegen dahingehend, dass -neben der Verwendung von Mäuse- bzw. Rattenhippocampi- einerseits die Wirkung des NE konzentrationsabhängig sein könnte (in dieser Arbeit wurden 20 μ M eingesetzt) und andererseits der angewandte 1x25 Hz-Stimulus in Kombination mit NE nicht ausreichend ist, um die in der Publikation o.g. beschriebenen Effekte einer resultierenden LTP bzw. deren Verstärkung zu erreichen.

Zur Klassifizierung der durch die Applikation von NE aktivierten adrenergen Rezeptoren und der möglicherweise damit verbundenen Wirkung auf die e-LTP, wurde der β -Agonist Isoproterenol (ISO, 1 μ M) nach proaktiver DA-Applikation mit nachfolgendem LTP-induzierenden Stimulus anschließend retroaktiv appliziert. Eine signifikante Verstärkung der e-LTP konnte nicht erzielt werden (Abb. 44). Dies könnte darin begründet sein, dass, infolge der proaktiven Applikation des DA -mit folglich stattfindender Aktivierung der D1/D5Rs und damit verbundener Signalwegaktivierung- ein LTP-verstärkender Effekt durch die retroaktive Applikation des ISO nicht mehr möglich war. Durch Gelinas und Nguyen konnte - an isolierten und transversal geschnittenen Mäusehippocampi- gezeigt werden, dass eine alleinige Applikation von ISO (d.h. ohne plastizitätsinduzierenden Stimulus) keine langanhaltenden Effekte auf die synaptische Transmission hervorruft. Erfolgte die Applikation von ISO zeitgleich gekoppelt mit einem LTP-induzierenden Stimulus (1x100 Hz) -der allein ausschließlich eine e-LTP bedingt- so konnte eine für mehrere Stunden anhaltende, proteinsyntheseabhängige l-LTP beobachtet werden. Ferner zeigte sich bei zeitgleicher Applikation von ISO und der Gabe eines niederfrequenten LTD-induzierenden Stimulus eine l-LTP (Gelinas & Nguyen, 2005). Dies legt die Vermutung nahe, dass die Aktivierung der β -Rezeptoren eine verstärkte e-LTP nur hervorruft, wenn sich diese in einem kurzen zeitlichen Abstand zu dem plastizitätsinduzierenden Ereignis befindet. Eventuell wäre eine reine proaktive, 10 min vor der LTP-Induktion stattfindende Applikation des ISO oder eines selektiven β_1 -Antagonisten wie z.B. CGP 20712 zur Konkretisierung involvierter aktivierter Rezeptoren und zur Detektion einer möglicherweise bestehenden unterschiedlichen Rezeptorverteilung entlang der longitudinalen Achse hilfreich.

Der molekulare Mechanismus hinter der LTP-Aufrechterhaltung ist bislang weitestgehend noch unverstanden. Es wird angenommen, dass die aktivierten β - Rezeptoren weitere molekulare Mechanismen in Gang setzen: die Aktivierung von PKA- und ERK-Kaskaden, die Rekrutierung des Translationsinitiationsfaktors eIF4E und die Auslösung der PKA-bedingten Phosphorylierung der AMPAR, deren Einbau der LTP-Induktion folgend an der Synapse vorkommt (Maity et al., 2015).

LTP und Spines

Es ist beschrieben, dass die LTP und einige Formen des Lernens mit einer erhöhten dendritischen Spinedichte im Hippocampus assoziiert sind (Engert & Bonhoeffer, 1999; Muller et al., 2000; Leuner & Shors, 2004; von Bohlen und Halbach et al., 2006). Ferner wird

angenommen, dass die Dichte der Spines die exzitatorische Inputdichte widerspiegelt (Konur et al., 2003; von Bohlen und Halbach et al., 2006).

Es ist denkbar, dass sich durch die im Rahmen dieser Dissertation durchgeführten Priming-Experimente morphologische Änderungen an den Spines der apikalen Dendriten zeigen. Bei dendritischen Spines handelt es sich um kleinste Membranausstülpungen unterschiedlicher Größe und Form, bestehend aus einem ca. $0,05 \mu\text{m}^2$ umfassenden Spinekopf, der am Dendritenschaft über den ca. $0,5 \mu\text{m}$ langen Spinehals verankert ist. In der Literatur ist beschrieben, dass u.a. die Größe des Spinekopfes und der elektrische Widerstand des Spinehalses an den apikalen und basalen Dendriten nach distal zunimmt. Durch diese strukturelle Plastizität und hauptsächlich aufgrund der Anatomie des Spinehalses sind sie zur kompartimentierten Kontrolle der postsynaptischen Ca^{2+} -Konzentration fähig. Ferner ist bekannt, dass die strukturelle Plastizität in den CA1-Pyramidenzellen die Aktivierung des BDNF/TrkB-Signalweges erfordert (Edelmann et al., 2017).

Zur Überprüfung der möglicherweise durch unsere elektrophysiologischen Feldpotentialmessungen hervorgerufenen morphologischen Veränderungen der Spines wäre nach Abschluss der elektrophysiologischen Messungen die Durchführung der klassischen Golgi-Imprägnation zur Visualisierung dendritischer Spines in den akuten Hirnschnitten mit lichtmikroskopischer Analyse zielführend (z.B. Harris et al., 1980). Möglicherweise könnten die neuromodulatorisch wirkenden Neurotransmitter DA und NE nicht nur Einfluss auf die synaptische Plastizität von SC-CA1-Synapsen haben, sondern auch Unterschiede in der Spineform, -dichte, und Spinelänge -auch entlang der longitudinalen Achse- bedingen.

4.3. Gleiche Verarbeitung des LTP-induzierenden Stimulus der SC-CA1-Synapsen und Analyse des LTP-Expressionsortes

Zur Analyse, ob und wie die SC-CA1-Synapse fähig ist, dem LTP-induzierenden Stimulus zu folgen, wurde die synaptische Ermüdung untersucht. Diese ist ein vorrangig präsynaptisches Phänomen (zusammengefasst in Pozzo-Miller et al., 1999) und spiegelt die Effizienz der Glutamatausschüttung während repetitiver synaptischer Stimulation, z.B. während der LTP-Induktion, wider (Schildt et al., 2013). Die synaptische Ermüdung beruht infolge der wiederholten hochfrequenten Stimulation auf der Erschöpfung des leicht freisetzbaren

Speichers (engl. *readily releasable pool*) oder der angedockten Vesikel. Die Fusionsrate (alle 10 ms) bei einer Stimulation von 100 Hz übersteigt die Rate des Vesikeltransports, der Endozytose oder der Vesikelmobilisation aus dem Reservespeicher in den freisetzbaren Speicher, wodurch die Anzahl angedockter Vesikel als ratenlimitierender Faktor gilt (zusammengefasst in Pozzo-Miller et al., 1999).

Wir beobachteten nach beginnender Fazilitierung im Allgemeinen eine graduelle Reduktion der fEPSP-Antworten in den untersuchten Gruppen, die sich in den untersuchten Pulsnummern (bis auf einige Ausnahmen) nicht signifikant voneinander unterschieden. Während der 10-minütigen Applikation von NE konnten im VIH (LTP-Induktion: 1x100 Hz-Stimulus; bei PT des NE: 45 min vor 1x100 Hz sowie bei PT des NE: mit 1x100 Hz) und im VH (LTP-Induktion: 1x25 Hz-Stimulus; bei PT des NE: 45 min vor 1x25 Hz) bei lediglich jeweils einer Pulsnummer statistisch signifikante Unterschiede zur Kontrollmessung festgestellt werden. Diese statistisch signifikanten Differenzen einzelner individueller Pulsnummern können aufgrund des geringen prozentualen Anteils bezogen auf die Anzahl der Gesamtpulse auf biologischer Ebene jedoch vernachlässigt werden. Folglich unterschied sich die Gesamtverarbeitung des LTP-induzierenden Stimulus an den SC-CA1-Synapsen nicht. Daher können (auch) die signifikanten Unterschiede in der e-LTP nicht in einer unterschiedlichen Verarbeitung des LTP-induzierenden Stimulus begründet liegen.

Zur Bestimmung des LTP-Expressionsortes wurde die Paarpuls-Stimulation unter Berechnung des Paarpuls-Verhältnisses (PPR, bei ISI 50 ms) vor und nach der LTP analysiert. In unseren Versuchen zeigte sich im Allgemeinen nach der LTP eine (teilweise signifikante) Zunahme des PPR im Vergleich zu vor der LTP. Dabei ist zu berücksichtigen, dass ausschließlich diejenigen Daten einer Ableitung ausgewertet wurden, bei der PPR-Änderungen von fEPSP-Amplitude und -Slope einen ähnlichen Verlauf aufwiesen. Dies verhinderte die Fehleinschätzung des PPR durch den generellen Ausschluss des Populationsspikes, allerdings wurde dadurch die Anzahl der analysierten Hirnschnitte einzelner Gruppen verringert.

Ein hohes PPR weist auf eine geringe Wahrscheinlichkeit der initialen Transmitterfreisetzung der präsynaptischen Terminalie hin (Santschi & Stanton, 2003). Ob die prä- und/oder postsynaptische Seite für die LTP-Ausprägung verantwortlich ist, wird bis zum gegenwärtigen Zeitpunkt in der Literatur kontrovers diskutiert (z.B. Tahmasebi et al., 2016). Es ist beschrieben, dass Veränderungen in den Mechanismen der präsynaptischen Transmitterfreisetzung in einem

veränderten PPR resultieren und bei ausschließlich postsynaptischen Mechanismen das PPR relativ unbeeinflusst bleibt (zusammengefasst in Hsu & Huang, 1997). Ein vermindertes PPR sollte beobachtbar sein, wenn die LTP eine präsynaptische Erhöhung in der Wahrscheinlichkeit der Transmitterfreisetzung bedingt (Santschi & Stanton, 2003). PPR-Änderungen können mit der relativen Freisetzungswahrscheinlichkeit einer Synapse korrelieren (und somit präsynaptische Veränderungen widerspiegeln), aber auch durch rasche Veränderungen postsynaptischer Rezeptoren (z.B. Einbau von AMPAR) hervorgerufen werden (zusammengefasst in Glasgow et al., 2019).

Die konkrete Interpretation unserer Ergebnisse ist im Rahmen der durchgeführten Feldpotentialmessungen nicht möglich, da das PPR -aufgrund des nicht reinen präsynaptischen Phänomens- als alleiniger Parameter jedoch nur zur ungefähren Abschätzung des LTP-Expressionsortes dient. Zur Konkretisierung ist der Einsatz der Patch-Clamp-Technik hilfreich: so könnte daher u.a. die Bestimmung des AMPA/NMDA-Verhältnisses sowie eine pharmakologische Intervention z.B. durch Hemmung des Einbaus postsynaptischer AMPAR in die PSD mittels Pep-1-TGL (Edelmann et al., 2015) weiterführend genaueren Aufschluss über den LTP-Expressionsortes geben.

4.4. BDNF scheint nicht als plastizitätsrelevantes Protein (PRP) der e-LTP zu agieren

Für eine langanhaltende l-LTP wird die *de-novo* Proteinsynthese benötigt, dessen Initiation durch die Signalkaskadenaktivierung der potenzierten Synapsen erfolgt (zusammengefasst in Bin Ibrahim et al., 2022). Dabei stellen plastizitätsrelevante Proteine (engl. *plasticity related proteins*, PRPs) sog. „molekulare Akteure“ dar, die nach der Potenzierung synthetisiert oder aktiviert werden und denen somit eine wichtige Rolle bei der Induktion und Aufrechterhaltung der l-LTP zugeschrieben wird. So konnten als Kandidaten für die Aufrechterhaltung der l-LTP u.a. das Protein Arc, die PKM ζ und das BDNF bereits beschrieben werden (zusammengefasst in Bin Ibrahim et al., 2022).

BDNF ist ein zur Gruppe der Neurotrophine gehörendes Protein (Lindsay et al., 1993; Williams & Undie, 2009), welches im ZNS weit verbreitet ist und bei der Entwicklung, für die Differenzierung und das Überleben sowie für die Aufrechterhaltung von vielen neuronalen Populationen eine wichtige Rolle spielt (zusammengefasst in Brigadski & Lessmann, 2014). Es

ist beschrieben, dass die BDNF-Freisetzung und die damit einhergehende Akkumulation im Extrazellularraum durch Stimulationsprotokolle, die zur LTP-Induktion genutzt werden (wie einem hochfrequenten Stimulus (HFS) oder TBS (engl. *theta burst stimulation*)), aber auch mittels spontaner synaptischer Netzwerkaktivität oder durch Depolarisation von hippocampalen Neuronen induziert wird (Kolarow et al., 2007; Kuczewski et al., 2008a, 2008b; Edelman et al., 2015; Brigadski & Lessmann, 2020). Ferner ist BDNF zur Modulierung der Induktion und Aufrechterhaltung der LTP fähig (Figurov et al., 1996; Patterson et al., 1996; Pang et al., 2004; Cooke et al., 2014).

Wir analysierten die BDNF-Konzentrationen im Homogenat derjenigen dorsalen Hippocampi, bei denen die in Kapitel 3.3.5. bis 3.3.7. aufgeführten Experimente an akuten dorsalen Hirnschnitten durchgeführt wurden. Dabei konnten wir experimentbezogen lediglich Unterschiede im BDNF-Gehalt bei der kombinierten Applikation durch den β -Agonisten Isoproterenol (ISO) (d.h. Applikation des DA 45 min vor und ISO 45 min nach dem LTP-induzierenden Stimulus) im Vergleich zur Kontrollmessung unter Stimulationsbedingungen (_Stimulation) feststellen (Abb. 44). Dies deutet darauf hin, dass für eine Erhöhung der BDNF-Level im gesamten Hippocampus die Aktivierung des dopaminergen Systems (vor dem LTP-induzierenden Stimulus) mit einer anschließenden Aktivierung des adrenergen Systems durch den β -Agonisten ISO erforderlich ist. Jedoch ist die konkrete Interpretation dieses Ergebnisses aufgrund der im Rahmen dieser Dissertation nicht bzw. nicht in ausreichender Menge gewonnenen BDNF-Konzentrationsdaten zu Messungen, bei der eine alleinige proaktive DA-Applikation 45 min vor der LTP-Induktion stattfand, im Rahmen dieser Dissertation nicht möglich. Diese Daten sind jedoch im Hinblick auf die in der Literatur beschriebene Fähigkeit des DA, konzentrationsabhängig über die Aktivierung von D1-artigen Rezeptoren die BDNF-Expression u.a. im Hippocampus *in-vitro* zu modulieren (Juric et al., 2006; Williams & Undieh, 2009) und somit als PRP zu agieren, nötig. Ferner, um den Effekt der Aktivierung des noradrenergen Systems durch den β -Agonisten ISO auf die BDNF-Konzentrationsmengen detaillierter zu beschreiben und aussagekräftige Schlussfolgerungen zu ziehen. Neben der bereits im Kapitel (4.1.) beschriebenen Fazilitierung der LTP durch DA *in-vitro* konnte durch Rossato und Kollegen dies ebenfalls *in-vivo* in Form eines verbesserten Langzeitgedächtnisses (engl. *long-term memory*) gezeigt und eine Erhöhung der BDNF-Level beobachtet werden (Rossato et al., 2009).

Der Vergleich der BDNF-Konzentrationen zwischen allen o.g. experimentbezogen untersuchten dorsalen Hippocampi ergab eine signifikant erhöhte Konzentration unter dem zusätzlich retroaktiven Einfluss des β -Agonisten ISO (d.h. Applikation des DA 45 min vor und ISO 45 min nach dem LTP-induzierenden Stimulus) im Vergleich zu den entsprechenden Messungen mit NE. Dieser Effekt zeigte sich sowohl in denjenigen Hippocampi, an denen die elektrophysiologischen Messungen durchgeführt wurden ($_Stimulation$) als auch in denen ohne jegliche Stimulation ($_passiv$) (Abb. 45). Dies deutet darauf hin, dass die Aktivierung der β -Rezeptoren durch den exogen hinzugefügten Agonisten eine stärkere Ausschüttung von BDNF bedingten als das exogene NE selbst. Da die BDNF-Konzentrationserhöhungen auch ohne die kontinuierliche elektrophysiologische Stimulation ($_passiv$) beobachtet wurden, ist davon auszugehen, dass der β -Agonist ISO allein bereits eine Ausschüttung von BDNF bedingt. Um aussagekräftigere Schlussfolgerungen hinsichtlich der Beteiligung des BDNF als PRP ziehen zu können, wäre wie bereits oben erwähnt, auch hier die Analyse des alleinigen NE-Primings, mit Rücksicht auf den Prozess der Metaplastizität, **vor** dem LTP-induzierenden Stimulus hilfreich. Weiterhin sollte ebenfalls der BDNF-Gehalt nach alleiniger Applikation von ISO möglichst vor dem LTP-induzierenden Stimulus (d.h. ohne vorherige proaktive DA-Applikation) bestimmt werden, um konkretere Aussagen hinsichtlich der PRP-Beteiligung des BDNF treffen zu können.

In dieser Arbeit wurden die BDNF-Proteinexpressionen im Homogenat der gesamten dorsalen Hippocampi analysiert, wodurch mögliche intrahippocampale, regionspezifische Veränderungen unter Umständen verdeckt wurden. Dazu wäre es nach Abschluss der elektrophysiologischen Messungen sinnvoll, die hippocampalen Hirnschnitte in die Regionen DG, CA1 und CA3 zu mikrodisektieren, um anschließend regionsindividuell die Bestimmung der BDNF-Proteinkonzentrationen vorzunehmen. Da während der LTP die BDNF-mRNA hochreguliert wird (Castrén et al., 1993; Patterson et al., 1996; Cooke et al., 2014), die für die Proteinsynthese benötigt wird, ist außerdem an den elektrophysiologisch verwendeten Schnitten nach Mikrodisektion die regionspezifische Detektion und Quantifizierung der BDNF-mRNA durch quantitative Echtzeit-Polymerasekettenreaktion (engl. *real-time quantitative PCR*, RT-qPCR) interessant, um diese anschließend mit den o.g. BDNF-Proteinkonzentrationen in den hippocampalen Regionen und entlang der longitudinalen Achse zu vergleichen. Bei der LTP-Auslösung erfolgt die Freisetzung von endogenem BDNF, welches innerhalb kurzer Zeit den Einbau neuer AMPARs in die Postsynapse bedingt (z.B. Edelmann et al., 2015; zusammengefasst in Brigadski & Lessmann, 2014). Zur weiterführenden Untersuchung der neuromodulatorischen und metaplastischen Wirkung des DA- bzw. NE-

Primings auf die e-LTP und BDNF-Expression wäre z.B. mithilfe simultaner Feldpotential- und Patch-Clamp-Ableitungen die Analyse der Zusammensetzung der NMDAR- (NR1, NR2A und B) und AMPAR- (GluR1-4)-UEs auf Einzelzellebene empfehlenswert, um die zeitabhängigen Effekte der Neuromodulatoren (d.h. vor dem plastizitätsinduzierenden Ereignis) postsynaptisch weiter exakter zu klassifizieren. Damit kann beispielsweise eine Bestimmung der Subtypen neu eingebauter AMPAR erfolgen.

Es ist beschrieben, dass in den apikalen Dendriten BDNF für die Induktion und Aufrechterhaltung der DA-abhängigen LTP essentiell ist. So konnte durch Navakkode und Kollegen gezeigt werden, dass die Entstehung und der Erhalt der DA-abhängigen LTP in den basalen Dendriten nicht beeinflusst wurde -wohl aber in den apikalen Dendriten- wenn BDNF-vermittelte Aktionen gehemmt wurden (Navakkode et al., 2012). Wir analysierten die BDNF-Gehalte auch derjenigen Hippocampi, an denen zuvor die elektrophysiologischen Feldpotentialmessungen im Stratum radiatum zur Registrierung synaptischer Aktivität im apikalen dendritischen Bereich der CA1-Pyramidenzellen durchgeführt wurden. Möglicherweise folgt die LTP an den apikalen Dendriten in unseren Experimenten einem BDNF-abhängigen Signalweg (Navakkode et al., 2012). Es konnte eindeutig nachgewiesen werden, dass der BDNF-Signalweg über die TrkB-Rezeptoren an der klassischen LTP beteiligt (zusammengefasst in Edelmann & Lessmann, 2018) und ebenfalls mit hippocampusabhängigem Lernen assoziiert ist (von Bohlen und Halbach et al., 2006). Ferner ist bekannt, dass für die Aufrechterhaltung bestimmter Formen der l-LTP die kontinuierliche Aktivierung von BDNF-Rezeptoren notwendig ist (Huang & Kandel, 1995; Navakkode et al., 2012). Um aussagekräftige Schlussfolgerungen ziehen zu können, sind längerdauernde LTP-Messungen und die Determination phosphorylierter TrkB-Rezeptoren empfehlenswert.

4.5. Vergleichende Untersuchungen (der Kurzzeitplastizität) unter dem Einfluss von Vit. C entlang der longitudinalen Achse

Das wasserlösliche Vit. C ist ein in biologischen Systemen natürlich vorkommender freier Radikalfänger (Vaziri & Sica, 2004; Karamian et al., 2015) mit antioxidativen Eigenschaften (Ramanathan et al., 2002; Patra & Swarup, 2004; Karamian et al., 2015). Zahlreiche Studien

zeigen, dass alterungsbedingte kognitive Störungen durch die langanhaltende Gabe von Antioxidantien (wie z.B. Vit. C oder Trolox) abgeschwächt werden können (Fukui et al., 2002; Head, 2009; Clausen et al., 2010; Yang et al., 2010) und diese somit auf das alternde Gehirn einen positiven (präventiven) Einfluss haben (Yang et al., 2010). Allerdings gibt es Hinweise darauf, dass Vit. C unter physiologischen Bedingungen zur direkten Beeinflussung der Neurotransmission durch Beteiligung an der Synthese, Freisetzung und Aufnahme von Catecholaminen sowie der Modulation der GABA-, NMDA- und Dopaminrezeptoren sowie der T-Typ Ca^{2+} -Kanäle in der Lage ist (zusammengefasst in Heruye et al., 2022). Durch Heruye und Kollegen konnte gezeigt werden, dass Vit. C die synaptische Stärke, die Paarpuls-fEPSPs sowie durch einen TBS-induzierten Stimulus die STP und LTP reduziert (Heruye et al., 2022).

Zur Überprüfung der basalen synaptischen Transmission an SC-CA1-Synapsen bzw. deren mögliche Beeinträchtigung wurde zu Beginn eines jeden Experiments eine Reiz-Reaktions-(I/O-) Kurve durchgeführt.

Beim Vergleich der verschiedenen Regionen des Hippocampus (VIH, VH und DH), zeigte sich sowohl mit als auch ohne Zusatz von Vit. C der flachste Kurvenverlauf im DH, der sich von den beiden anderen Regionen signifikant unterschied (Abb. 46). In Bezug auf das Nicht-/ bzw. Vorhandensein von Vit. C unterschieden sich im DH beide Kurvenverläufe bei einer Stimulationsstärke von 200 μA signifikant voneinander, was jedoch keine biologische Relevanz hat. Dieser Kurvenverlauf ist atypisch zu den bereits beschriebenen publizierten Erkenntnissen verschiedener Arbeitsgruppen, die generell eine geringere synaptische Übertragung im VH als im DH zeigten (z.B. Papatheodoropoulos, 2015). Es muss jedoch erwähnt werden, dass im Rahmen der bereits publizierten Untersuchungen die Hippocampi für elektrophysiologische Messungen isoliert, d.h. aus den Nagergehirnen herausgetrennt und anschließend regionspezifische Schnitte angefertigt wurden. Zur Aufrechterhaltung eines gesunden Gewebes und der funktionellen Konnektivität innerhalb des Hippocampusnetzwerkes nutzten wir akute Hirnschnitte unisolierter, d.h. in seiner anatomischen Lage zu umliegenden Hirnstrukturen verbleibenden Hippocampi. Möglicherweise kann dies zu unterschiedlichen Ergebnissen in der synaptischen Übertragung führen. Generell ist zusätzlich die unterschiedliche Zahl der verwendeten Hirnschnitte/ Tiere in den jeweiligen Regionen des Hippocampus zu berücksichtigen.

Zur Überprüfung einer möglicherweise veränderten Wahrscheinlichkeit der präsynaptischen Transmitterfreisetzung in den verschiedenen Regionen des Hippocampus wurde die Paarpuls-Stimulation zur Berechnung des PPR vorgenommen. Diese beschreibt eine vorübergehende aktivitätsabhängige Veränderung in der synaptischen Effizienz (Zucker & Regehr, 2002; Papatheodoropoulos, 2015), die mechanistisch durch die sog. Rest-Calcium-Hypothese erklärt werden kann (Katz & Miledi, 1968; Zucker & Regehr, 2002; Papatheodoropoulos, 2015). Diese besagt, dass das durch den ersten Stimulus eingeströmte und restliche, in der Präsynapse verbleibende Ca^{2+} infolge des zweiten zeitnahen Stimulus -der ebenfalls mit einem erneutem Ca^{2+} -Einstrom verbunden ist- eine nichtlineare Ionensumation und folglich eine erhöhte Transmitterfreisetzung während dieses Stimulus bedingt. Die intrazelluläre Erhöhung der Ca^{2+} -Konzentration hält nur wenige Millisekunden an (Papatheodoropoulos, 2015).

In unseren Experimenten konnte eine Paarpulsbahnung an den SC-CA1-Synapsen in allen Regionen des Hippocampus beobachtet werden (Abb. 46). Der Fazilitierungsgrad (PPR) im DH war signifikant größer als im VH, im VIH liegt dieser zwischen den Werten des VH und DH. Dies deckt sich mit bereits beschriebenen Beobachtungen in *in-vitro*-Studien an isolierter Rattenhippocampi (z.B. Papatheodoropoulos & Kostopoulos, 2000) sowie *in-vivo*-Studien lebender Ratten (z.B. Maruki et al., 2001) und spiegelt regionale hippocampale Unterschiede in der Wahrscheinlichkeit der hauptsächlichen präsynaptischen Transmitterfreisetzung wider (Zucker, 1989; Maruki et al., 2001). Damit deutet die in den Experimenten gezeigte stärkere PPR im DH auf eine schwächere Transmitterfreisetzungswahrscheinlichkeit hin, da das Ausmaß der Fazilitierung in einem umgekehrten Verhältnis zu dieser steht (Katz & Miledi, 1968; Dobrunz & Stevens, 1997; Papatheodoropoulos, 2015).

Wir konnten zeigen, dass die akute Applikation von Vit. C auf die e-LTP keinen Einfluss hatte (Abb. A 2). Dies steht im Einklang mit den Untersuchungen durch Yang und Kollegen, die mithilfe der an Hippocampi älterer Ratten in der CA1-Region durchgeführten Feldpotentialmessungen (unter Induktion einer NMDAR-abhängigen LTP durch eine Theta-Burst-Stimulation (TBS)) mit unterschiedlichen Vit. C-Konzentrationen (10, 50 und 250 μM) ebenfalls keine Veränderungen in der LTP zeigen konnten (Yang et al., 2010). Gegensätzlich dazu stehen die Erkenntnisse von Heruye und Kollegen, die an juvenilen Mäusen durch Gabe eines TBS eine reduzierte LTP im Rahmen von Feldpotentialmessungen beobachteten (Heruye et al., 2022). Zur Testung einer bestehenden NMDAR-Abhängigkeit unseres verwendeten LTP-induzierenden Stimulus 1x100 Hz ist eine Inkubation des selektiven NMDAR-Antagonisten 2-Amino-5-Phosphonovaleriansäure (APV) empfehlenswert, da bekannt ist, dass NMDARs in

der Kontrolle zahlreicher physiologischer Funktionen wie synaptischer Plastizität und dem Gedächtnis eine zentrale Rolle spielen, dessen Rezeptoraktivierung für die LTP-Induktion essentiell ist. Eine Unterfunktion dieser Rezeptoren wurde in gealterten Tieren und Patienten mit alterungsbedingten neurodegenerativen Erkrankungen beobachtet (zusammengefasst in Yang et al., 2010).

4.6. Zusammenfassung und Ausblick

Im Rahmen dieser Dissertationsschrift wurde der „Behavioral Tagging“-Prozess mithilfe elektrophysiologischer und molekularbiologischer Methoden auf synaptischer Ebene im zellulären Modell charakterisiert: der neuromodulatorische zeitabhängige Einfluss der Neurotransmitter DA und NE wurde auf die synaptische Plastizität hinsichtlich möglicherweise zeitabhängig vorliegender Unterschiede entlang der hippocampalen longitudinalen Achse untersucht. Dabei konnte gezeigt werden, dass

* eine proaktive, 45 min vor dem LTP-induzierenden Stimulus stattfindende Applikation von exogenem DA über die longitudinale Achse hinweg zu einer Verstärkung der e-LTP führt. Sowohl eine aktive (d.h. zeitgleich mit) als auch retroaktive (d.h. nach der LTP-Induktion stattfindende) Applikation bedingt keine e-LTP-verstärkende Wirkung.

* der proaktive e-LTP-modulierende Effekt des exogenen DA (unter Verwendung des D1/D5-Agonisten Dihydroxydifenhydrol) durch D1-artige Rezeptoren vermittelt wird. Weiterführende Untersuchungen hinsichtlich der NMDAR-Abhängigkeit des genutzten LTP-induzierenden Stimulus sowie der Aktivierung der D1-artigen Rezeptoren durch das exogene DA zu unterschiedlichen Zeitpunkten in den hippocampalen Kompartimenten sind von großer Bedeutung. Hierzu ist die Nutzung des selektiven NMDAR-Antagonisten 2-Amino-5-Phosphonovaleriansäure (APV) sowohl bei Feldpotentialmessungen als auch unter zeitgleichem Einsatz der Patch-Clamp-Technik an Einzelzellen der isolierten CA1-Region empfehlenswert, um die unter diesen Versuchsbedingungen vermutlich differenziell aktivierte Signalkaskaden näher zu untersuchen. Im Zuge der Patch-Clamp-Experimente kann zur Bestimmung der Zusammensetzung der NMDAR-UEs in den verschiedenen Regionen die Verwendung selektiver NR2A- bzw. NR2B-Antagonisten von großem Nutzen sein; zur Hemmung von GABA-R sollte Picrotoxin sowie zur Antagonisierung von AMPA- und Kainat-Rezeptoren NBQX (2,3-Dioxo-6-nitro-1,2,3,4-tetrahydrobenzo[f]chinoxalin-7-sulfonamid)

Verwendung finden. Die Nutzung von D2-artigen Rezeptorantagonisten wie Sulpirid oder Domperidon würden den im Rahmen dieser Arbeit gezeigten, D1/D5-Rs vermittelten Effekt weiter unterstützen. Um möglicherweise mit diesen durchgeführten Priming-Experimenten im Zusammenhang stehende, entlang der septotemporalen Achse bestehende unterschiedliche D1-R-Expression in der CA1-Region zu detektieren, kann die quantitativen Polymerasekettenreaktion (q-PCR) sowie der Western Blot an isolierten CA1-Regionen nach den elektrophysiologischen Messungen Anwendung finden.

* eine kombinierte pro- und retroaktive Applikation von DA bzw. NE (im DH) keine Verstärkung der e-LTP zur Folge hat.

* eine proaktive Applikation von exogenem NE nur im ventral-intermediären Hippocampus (VIH) die e-LTP verstärkt. In den beiden anderen Regionen des Hippocampus (VH und DH) konnte sowohl eine pro-, retroaktive als auch kombinierte Applikation des NE (hier im DH) keine weitere Verstärkung der e-LTP hervorbringen. Eine über β -Adrenorezeptoren vermittelte Aktivierung konnte (durch retroaktive Applikation des β -Agonisten Isoproterenol (ISO) nach proaktiver DA-Applikation) nicht eindeutig signifikant belegt werden. Möglicherweise kann zur Konkretisierung involvierter aktivierter Rezeptoren und entlang der septotemporalen Achse bestehender Unterschiede eine reine proaktive, 10-min vor dem LTP-induzierenden Stimulus ablaufende Applikation des β -Agonisten ISO oder selektiven β_1 -Antagonisten wie z.B. 1-[2-((3-Carbamoyl-4-hydroxy)phenoxy)ethylamino]-3-[4-(1-methyl-4-trifluoromethyl-2-imidazolyl)phenoxy]-2-propanol dihydrochlorid (CGP 20712) hilfreich sein.

* unter Einfluss des β -Agonisten ISO im Vergleich zum exogenen NE sowie in Zeitabhängigkeit der kombinierten pro- und retroaktiven Applikation der Catecholamine eine erhöhte BDNF-Konzentration zu verzeichnen war. Es ist zu berücksichtigen, dass in dieser Arbeit im Homogenat der gesamten (dorsalen) Hippocampi die BDNF-Proteinexpressionen analysiert wurden. Zur abschließenden Klärung der Beteiligung des BDNF als Kandidat eines PRP bedarf es weiterer Untersuchungen. Hinsichtlich der regionsindividuellen Bestimmung der BDNF-Proteinkonzentrationen zur Untersuchung differentiell regulierter BDNF-Expression in den hippocampalen Regionen wäre es daher sinnvoll, die hippocampalen Hirnschnitte nach Abschluss der elektrophysiologischen Messungen in die Regionen DG, CA1 und CA3 zu mikrodissizieren. Weiterhin wäre zur regionspezifischen Detektion und Quantifizierung der BDNF-mRNA die Anwendung der quantitativen Echtzeit-Polymerasekettenreaktion (engl. *real-time quantitative PCR*, RT-qPCR) zielführend.

5. Anlage – Daten der statistischen Analyse

Kapitel 3.1. Ventral-intermediärer Hippocampus (VIH)

-zu Kapitel 3.1.1.:

In Abb. A 1 sind die experimentenzugehörige Reiz-Reaktionskurve und das Paarpulsverhältnis (PPR -ISIs: 20, 50, 100 und 200 ms) zusammengefasst dargestellt.

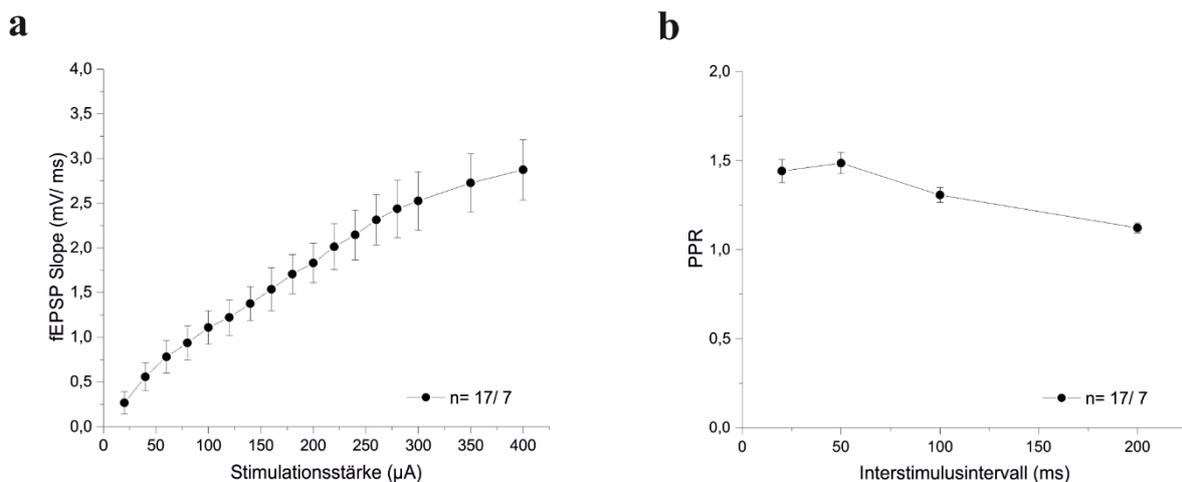


Abb. A 1: Darstellung der basalen synaptischen Transmission sowie PPR bei verschiedenen ISIs.

(a) Verlauf der Reiz-Reaktionskurve.

(b) Darstellung des PPR unter Verwendung der verschiedenen ISI's 20, 50, 100 und 200 ms.

Statistische Analyse der synaptischen Ermüdung des 3x100 Hz und 1x100 Hz-Stimulus

Pulsnummer	3x100 Hz	1x100 Hz	Statistischer Test (Zweistichproben-t-Test: „ $t_{(df)}$ “ bzw. Mann-Whitney-U-Test: „U“)	p-Wert	Statistische Signifikanz
C2	0,85	1,21 ± 0,2	U= 8	0,0103	*
C10	0,58 ± 0,1	0,72	$t_{(15)}= 1,031$	0,3190	ns
C50	-0,13 ± 0,1	-0,15 ± 0,2	$t_{(15)}= 1,769$	0,0973	ns
C100	-0,12 ± 0,1	-0,17 ± 0,1	U= 19	0,1732	ns

- zu Kapitel 3.1.2.:

In Abb. A 2 ist der Einfluss des Vit. C im Hinblick auf die basale synaptische Transmission, PPF, synaptische Ermüdung, LTP sowie das erneute PPR bei einem ISI von 50 ms dargestellt.

Zusammenfassend konnte gezeigt werden, dass:

* Vit. C keine signifikanten Änderungen in der basalen synaptischen Transmission (Abb. A 2 a) hervorruft.

* das PPR bei den ISIs von 20,50 und 100 ms zwischen beiden Gruppen gleich ist, diese sich lediglich bei einem ISI von 200 ms unterscheidet (Abb. A 2 b).

* bei den untersuchten Pulsnummern 50 und 100 des LTP-induzierenden Stimulus wurden signifikante Änderungen festgestellt (Abb. A 2 c).

* Vit. C hat auf den Verlauf und die Stärke der e-LTP keinen Einfluss (Abb. A 2 d und e; 1×100 Hz ohne Vit. C: $n = 6/5$, LTP $128,2 \pm 10,0$ %, 1×100 Hz mit Vit. C: $n = 14/8$, LTP $142,3 \pm 14,4$ %, Mann-Whitney-U-Test $U = 41$, $p = 0,9248$).

* das PPR bei einem ISI von 50 ms vor und nach der LTP unterschied sich nur in Anwesenheit von Vit. C signifikant (Abb. A 2 f).

Statistische Analyse der Reiz-Reaktionskurven

Stimulationsstärke	<u>mit</u> Vit.C	<u>ohne</u> Vit. C	Statistischer Test (Zweistichproben-t-Test: „ $t_{(df)}$ “ bzw. Mann-Whitney-U-Test: „U“)	p-Wert	Statistische Signifikanz
100 μ A	$2,04 \pm 0,5$	$1,39 \pm 0,3$	$U = 41$	0,9248	ns
200 μ A	$3,18 \pm 0,6$	$2,09 \pm 0,4$	$U = 29$	0,3032	ns
300 μ A	$3,80 \pm 0,6$	$2,88 \pm 0,6$	$t_{(18)} = 0,9216$	0,3689	ns
400 μ A	$4,05 \pm 0,6$	$3,1 \pm 0,6$	$t_{(18)} = 0,9974$	0,3318	ns

Statistische Analyse des PPR

Interstimulus-Intervall (ISI)	1×100 Hz - <u>mit</u> Vit. C	1×100 Hz - <u>ohne</u> Vit. C	Statistischer Test (Zweistichproben-t-Test: „ $t_{(df)}$ “ bzw. Mann-Whitney-U-Test: „U“)	p-Wert	Statistische Signifikanz

20 ms	1,70 ± 0,3	1,47 ± 0,2	U= 42	> 0,9999	ns
50 ms	1,75 ± 0,2	1,51 ± 0,1	U= 30	0,3345	ns
100 ms	1,49 ± 0,1	1,28 ± 0,1	U= 25	0,1699	ns
200 ms	1,19	1,07	U= 18	0,0490	*

Statistische Analyse der synaptischen Ermüdung

Pulsnummer	Statistischer Test (Zweistichproben-t-Test: „t _(df) “ bzw. Mann-Whitney-U-Test: „U“)	p-Wert	Statistische Signifikanz
C2	U= 37	0,7043	ns
C10	U= 37	0,7037	ns
C50	U= 17	0,0389	*
C100	U= 14	0,019	*

Statistische Analyse der PPR bei einem ISI von 50 ms vor und nach der LTP

Protokoll	Statistischer Test (gepaarter t-Test: „t _(df) “ bzw. Wilcoxon-Test: „W“)	p-Wert	Statistische Signifikanz
1x100 Hz - <u>mit</u> Vit. C	W= 105	0,0001	***
1x100 Hz - <u>ohne</u> Vit. C	W= 15	0,0625	ns

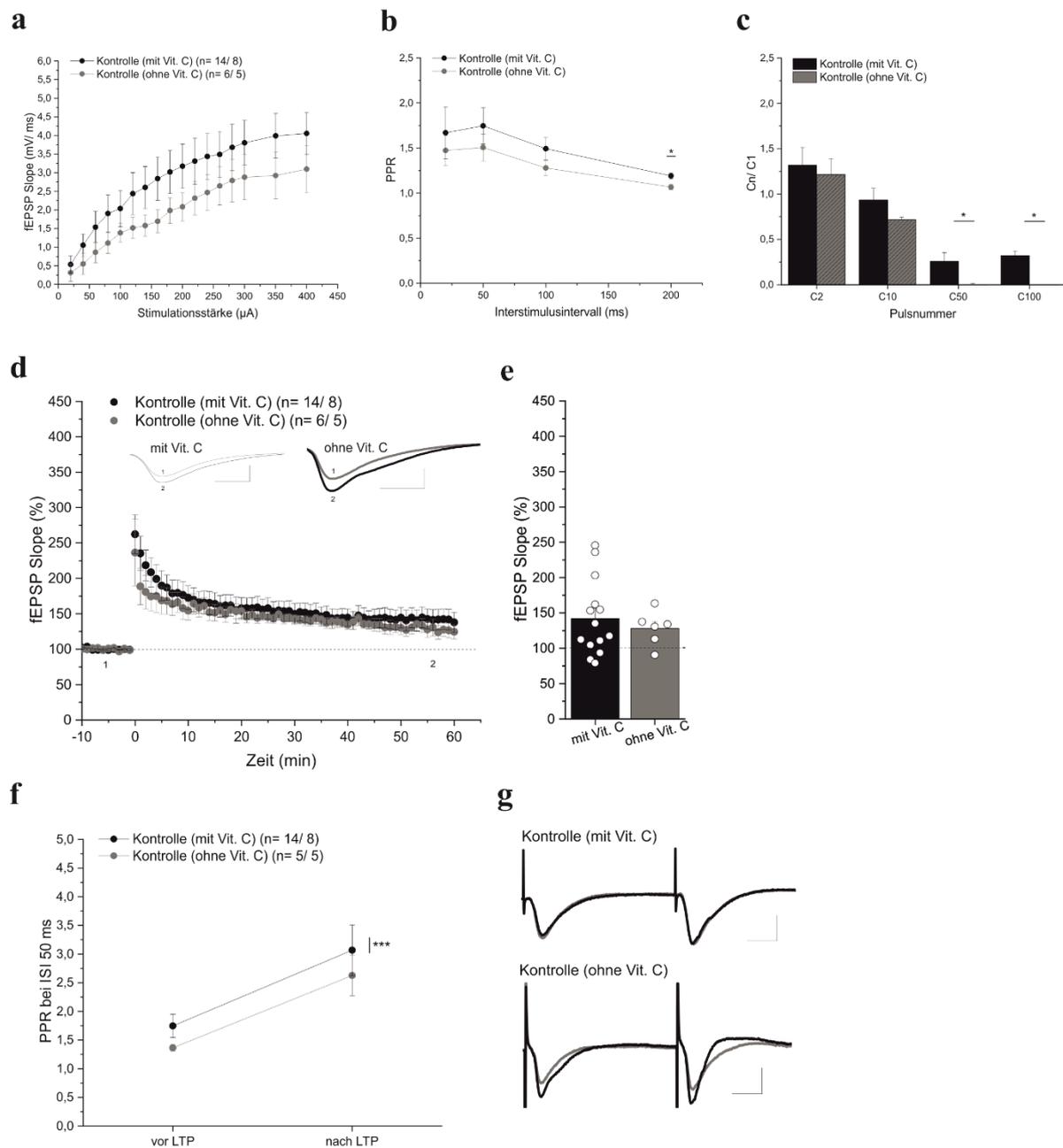


Abb. A 2: Untersuchung des Einflusses von Vit. C auf die basale synaptische Transmission, PPR, synaptische Ermüdung, LTP und PPR bei ISI 50 ms vor und nach der LTP.

Dargestellt sind die Gruppen Kontrolle (1x100 Hz) mit Vit. C (schwarz, n= 14/ 8) und Kontrolle (1x100 Hz) ohne Vit. C (dunkelgrau, n= 6/ 5).

(a) Verlauf der Reiz-Reaktionskurven: es konnten keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden ($p > 0,05$).

(b) Darstellung der PPR unter Verwendung der verschiedenen ISIs 20, 50, 100 und 200 ms: signifikante Unterschiede zwischen beiden Gruppen konnten bei einem ISI von 200 ms gezeigt werden ($p \leq 0,05$ (*)). Bei allen anderen ISIs unterschieden sich die beiden Gruppen nicht ($p > 0,05$).

(c) Die Anwesenheit von Vit. C zeigte eine teilweise veränderte synaptische Ermüdung der SC-CA1-Synapsen. Die Balkendiagramme stellen das mittlere Verhältnis (auf den ersten Puls normiert) der fEPSP-Antworten der verschiedenen Pulsnummern (2, 10, 50 und 100) dar. Es konnten beim 50. Und 100. Puls signifikante Unterschiede gezeigt werden ($p \leq 0,05$ (*)). In allen anderen Pulsnummern

unterschieden sich die beiden Gruppen nicht ($p > 0,05$).

(d) Zeitlicher Verlauf der LTP-Messung; exemplarische Darstellung von repräsentativen originalen Feldpotentialspuren der letzten 10 min der Baseline-Messung (1) sowie die der letzten 10 min der gesamten Messung (2); **links:** mit Vit. C, **rechts:** ohne Vit. C; Maßstabsbalken: 1 mV/ 5 ms.

(e) Balkenstreudiagramm der erreichten Potenzierung während der letzten 10 min der Messung. Zwischen beiden Gruppen konnte kein signifikanter Unterschied nachgewiesen werden ($p > 0,05$).

(f) Teilweise signifikante Änderungen im PPR bei ISI 50 ms vor und nach der LTP. Es wurde ein signifikanter Unterschied im PPR unter Einfluss des Vit. C gezeigt ($p \leq 0,001$ (***)). In der Teilabbildung rechts sind exemplarisch repräsentative originale Feldpotentialspuren nach Paarpulsstimulation mit einem ISI von 50 ms vor (hellgrau) und nach der LTP (ohne Vit. C: dunkelgrau; mit Vit. C: schwarz) dargestellt; **oben:** mit Vit. C, **unten:** ohne Vit. C; Maßstabsbalken: 1 mV/ 10 ms.

In Abb. A 3 ist die basale synaptische Transmission und das PPR (ISIs: 20, 50, 100 und 200 ms) der untersuchten Gruppen der Kontrolle und der der **kontinuierlichen Anwesenheit von DA** dargestellt.

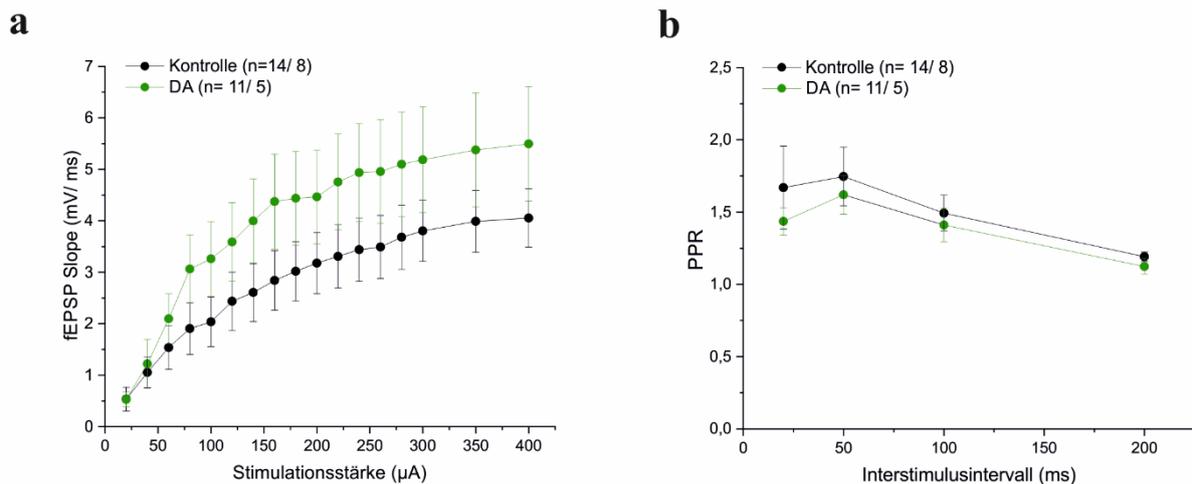


Abb. A 3: Darstellung der basalen synaptischen Transmission und PPR bei verschiedenen ISIs der untersuchten Gruppen der Kontrolle (schwarz, n= 14/ 8) und der der kontinuierlichen Anwesenheit von DA (grün, n= 11/ 5).

(a) Verlauf der Reiz-Reaktionskurven: es konnten keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden ($p > 0,05$).

(b) Darstellung der PPR unter Verwendung der verschiedenen ISIs 20, 50, 100 und 200 ms: es wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen gezeigt ($p > 0,05$).

Statistische Analyse der synaptischen Ermüdung während der dauerhaften Anwesenheit von DA

Pulsnummer	Kontrolle (1x100 Hz)	DA	Statistischer Test (Zweistichproben-t-Test: „t _(df) “ bzw. Mann-Whitney-U-Test: „U“)	p-Wert	Statistische Signifikanz
C2	1,32 ± 0,2	1,42 ± 0,2	U= 62	0,4262	ns
C10	0,94 ± 0,1	1,06 ± 0,1	U= 54	0,2171	ns
C50	0,26 ± 0,1	0,37 ± 0,1	U= 60	0,3656	ns
C100	0,32	0,2 ± 0,1	U= 61	0,3952	ns

- zu Kapitel 3.1.2.2.:

In Abb. A 4 sind die experimentzugehörigen routinemäßig durchgeführten Reiz-Reaktionskurven und das PPR (ISIs: 20, 50, 100 und 200 ms) der nun folgenden Experimente zur Untersuchung der pro-/aktiven bzw. retroaktiven Wirkung von DA bzw. NE im VIH zusammengefasst.

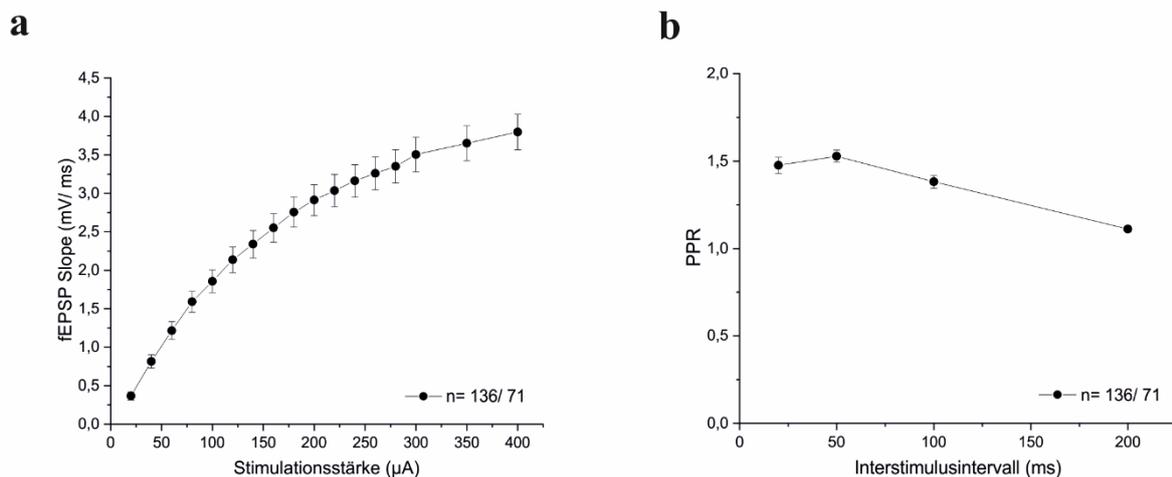


Abb. A 4: Darstellung der basalen synaptischen Transmission und PPR bei verschiedenen ISIs aller nun folgenden Experimente im VIH.

(a) Verlauf der Reiz-Reaktionskurve.

(b) Darstellung des PPR unter Verwendung der verschiedenen ISIs 20, 50, 100 und 200 ms.

Statistische Analyse der synaptischen Ermüdung – Vergleich von Kontrolle und PT des DA: 45 min vor 1x100 Hz

Pulsnummer	Kontrolle (1x100 Hz)	PT: -45 min	Statistischer Test (Zweistichproben-t-Test: „t _(df) “ bzw. Mann-Whitney-U-Test: „U“)	p-Wert	Statistische Signifikanz
C2	1,32 ± 0,2	1,68 ± 0,3	U= 73	0,5860	ns
C10	0,94 ± 0,1	0,82 ± 0,1	U= 67	0,3951	ns
C50	0,26 ± 0,1	0,11 ± 0,1	U= 62	0,2681	ns
C100	0,32	0,29 ± 0,1	U= 74	0,6214	ns

Statistische Analyse der synaptischen Ermüdung - Vergleich von Kontrolle und PT des DA: 10 min vor 1x100 Hz

Pulsnummer	Kontrolle (1x100 Hz)	PT: -10 min	Statistischer Test (Zweistichproben-t-Test: „t _(df) “ bzw. Mann-Whitney-U-Test: „U“)	p-Wert	Statistische Signifikanz
C2	1,32 ± 0,2	1,18 ± 0,1	U= 52	0,5060	ns
C10	0,94 ± 0,1	0,85 ± 0,1	U= 50	0,4249	ns
C50	0,26 ± 0,1	0,35 ± 0,1	U= 48	0,3602	ns
C100	0,32	0,05 ± 0,2	U= 51	0,4670	ns

Statistische Analyse der synaptischen Ermüdung – Vergleich von Kontrolle und PT des DA: zeitgleich mit 1x100 Hz

Pulsnummer	Kontrolle (1x100 Hz)	PT: 0 min	Statistischer Test (Zweistichproben-t-Test: „t _(df) “ bzw. Mann-Whitney-U-Test: „U“)	p-Wert	Statistische Signifikanz
C2	1,32 ± 0,2	1,08 ± 0,1	U= 70	0,1308	ns
C10	0,94 ± 0,1	0,80 ± 0,1	U= 90	0,9053	ns
C50	0,24 ± 0,1	0,11 ± 0,1	U= 99	0,8043	ns
C100	0,32	0,16± 0,1	U= 85	0,3942	ns

Statistische Analyse der synaptischen Ermüdung – Vergleich von Kontrolle und PT des DA: 10 min nach 1x100 Hz

Pulsnummer	Kontrolle (1x100 Hz)	PT: +10 min	Statistischer Test (Zweistichproben-t-Test: „t _(df) “ bzw. Mann- Whitney-U-Test: „U“)	p-Wert	Statistische Signifikanz
C2	1,31 ± 0,2	1,26 ± 0,1	U= 44	0,9492	ns
C10	1,00 ± 0,1	0,91 ± 0,1	t _(14,9) = 0,6378	0,5333	ns
C50	0,49 ± 0,1	0,45	t _(15,3) = 0,4604	0,6517	ns
C100	0,44 ± 0,1	0,22 ± 0,1	t _(10,9) = 1,317	0,2149	ns

Statistische Analyse der synaptischen Ermüdung – Vergleich von Kontrolle und PT des DA: 45 min nach 1x100 Hz

Pulsnummer	Kontrolle (1x100 Hz)	PT: +45 min	Statistischer Test (Zweistichproben-t-Test: „t _(df) “ bzw. Mann- Whitney-U-Test: „U“)	p-Wert	Statistische Signifikanz
C2	1,31 ± 0,2	1,31 ± 0,2	U= 65	>0,9999	ns
C10	1,00 ± 0,1	0,81 ± 0,1	U= 47	0,2818	ns
C50	0,49 ± 0,1	0,34 ± 0,1	U= 54,5	0,5326	ns
C100	0,44 ± 0,1	0,28 ± 0,1	U= 53	0,4785	ns

- zu Kapitel 3.1.3.:

Statistische Analyse der synaptischen Ermüdung - Vergleich von Kontrolle und PT des NE: 45 min vor 1x100 Hz

Pulsnummer	Kontrolle (1x100 Hz)	PT: -45 min	Statistischer Test (Zweistichproben-t- Test: „t _(df) “ bzw. Mann- Whitney-U-Test: „U“)	p-Wert	Statistische Signifikanz
C2	1,32 ± 0,2	1,3 ± 0,1	U= 54	0,0430	*
C10	0,94 ± 0,1	0,78 ± 0,1	U= 97	0,9722	ns
C50	0,24 ± 0,1	0,24 ± 0,1	U= 95	0,9004	ns
C100	0,32	0,18 ± 0,1	U= 78	0,3687	ns

Statistische Analyse der synaptischen Ermüdung - Vergleich von Kontrolle und PT des NE: 10 min vor 1x100 Hz

Pulsnummer	Kontrolle (1x100 Hz)	PT: -10 min	Statistischer Test (Zweistichproben-t-Test: „t _(df) “ bzw. Mann-Whitney-U-Test: „U“)	p-Wert	Statistische Signifikanz
C2	1,32 ± 0,2	1,14 ± 0,1	U= 70	> 0,9999	ns
C10	0,94 ± 0,1	0,78 ± 0,1	U= 67	0,8739	ns
C50	0,26 ± 0,1	0,23 ± 0,1	U= 54	0,3632	ns
C100	0,32	0,23 ± 0,1	U= 57	0,4625	ns

Statistische Analyse der synaptischen Ermüdung - Vergleich von Kontrolle und PT des NE: zeitgleich mit 1x100 Hz

Pulsnummer	Kontrolle (1x100 Hz)	PT: 0 min	Statistischer Test (Zweistichproben-t-Test: „t _(df) “ bzw. Mann-Whitney-U-Test: „U“)	p-Wert	Statistische Signifikanz
C2	1,32 ± 0,2	0,98 ± 0,1	U= 29	0,0316	*
C10	0,94 ± 0,1	0,64 ± 0,1	U= 61	0,9131	ns
C50	0,24 ± 0,1	0,39	U= 50	0,4295	ns
C100	0,32	0,27 ± 0,1	U= 61	0,9136	ns

Statistische Analyse der synaptischen Ermüdung – Vergleich von Kontrolle und PT des NE: 10 min nach 1x100 Hz

Pulsnummer	Kontrolle (1x100 Hz)	PT: +10 min	Statistischer Test (Zweistichproben-t-Test: „t _(df) “ bzw. Mann-Whitney-U-Test: „U“)	p-Wert	Statistische Signifikanz
C2	1,31 ± 0,2	1,37 ± 0,2	U= 68	0,9101	ns
C10	1,00 ± 0,1	0,78 ± 0,1	t _(17,7) = 1,491	0,1537	ns
C50	0,49 ± 0,1	0,17 ± 0,1	t _(18,7) = 2,238	0,0375	*
C100	0,44 ± 0,1	0,34 ± 0,1	t _(21,2) = 1,084	0,2907	ns

Statistische Analyse der synaptischen Ermüdung – Vergleich von Kontrolle und PT des NE: 45 min nach 1x100 Hz

Pulsnummer	Kontrolle (1x100 Hz)	PT: +45 min	Statistischer Test (Zweistichproben-t-Test: „t _(df) “ bzw. Mann- Whitney-U-Test: „U“)	p-Wert	Statistische Signifikanz
C2	1,31 ± 0,2	1,1 ± 0,1	U= 28	0,3080	ns
C10	1,00 ± 0,1	0,92 ± 0,2	U= 29	0,3509	ns
C50	0,49 ± 0,1	0,42 ± 0,1	t _(11,8) = 0,5766	0,5751	ns
C100	0,44 ± 0,1	0,38	t _(15,4) = 0,7044	0,4917	ns

Kapitel 3.2. Ventraler Hippocampus (VH)

- zu Kapitel 3.2.1.:

In Abb. A 5 sind die experimentzugehörige Reiz-Reaktionskurve, PPR (ISIs von 20, 50, 100 und 200 ms) sowie die Analyse der synaptischen Ermüdung der SC-CA1-Synapsen auf die beiden LTP-induzierenden Stimuli 1x100 Hz und 1x25 Hz zusammengefasst dargestellt.

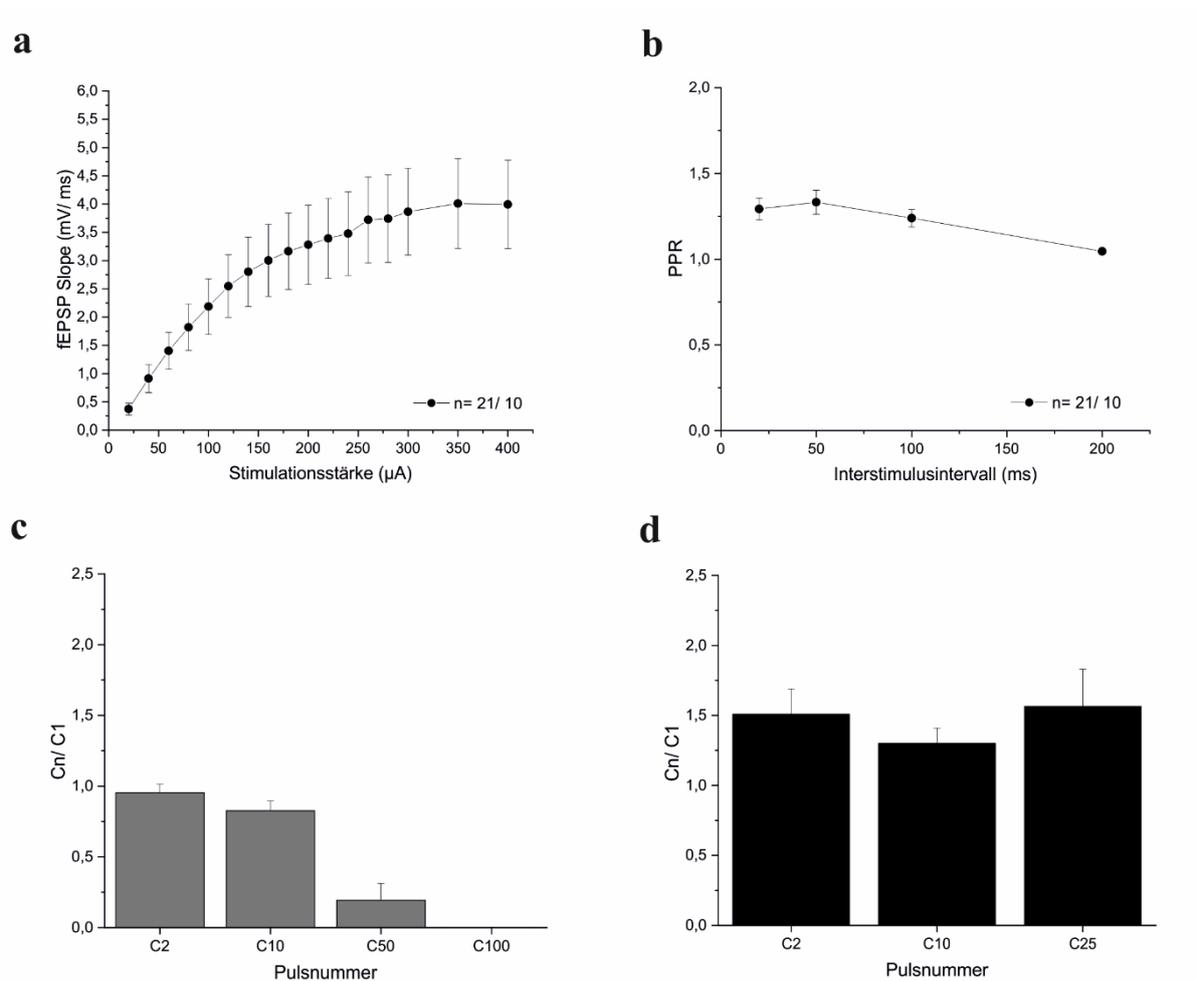


Abb. A 5: Darstellung der basalen synaptischen Transmission, PPR sowie der synaptischen Ermüdung.

(a) Verlauf der Reiz-Reaktionskurve.

(b) Darstellung des PPR unter Verwendung der verschiedenen ISIs 20, 50, 100 und 200 ms.

(c) Darstellung der synaptischen Ermüdung der SC-CA1-Synapsen auf den LTP-induzierenden Stimulus 1x100 Hz. Die Balkendiagramme zeigen das mittlere Verhältnis (auf den ersten Puls normiert) der fEPSP-Antworten auf den LTP-induzierenden Stimulus 1x100 Hz (grau) der Pulsnummern 2, 10, 50 und 100 bzw.

(d) die fEPSP-Antworten auf den LTP-induzierenden Stimulus 1x25 Hz (schwarz) der verschiedenen Pulsnummern 2, 10 und 25.

- zu Kapitel 3.2.2.:

In Abb. A 6 sind die experimentzugehörigen routinemäßig durchgeführten Reiz-Reaktionskurven und PPR (ISIs von 20, 50, 100 und 200 ms) der nun folgenden Experimente zur Untersuchung der pro- bzw. retroaktiven Wirkung von DA bzw. NE im VH zusammengefasst.

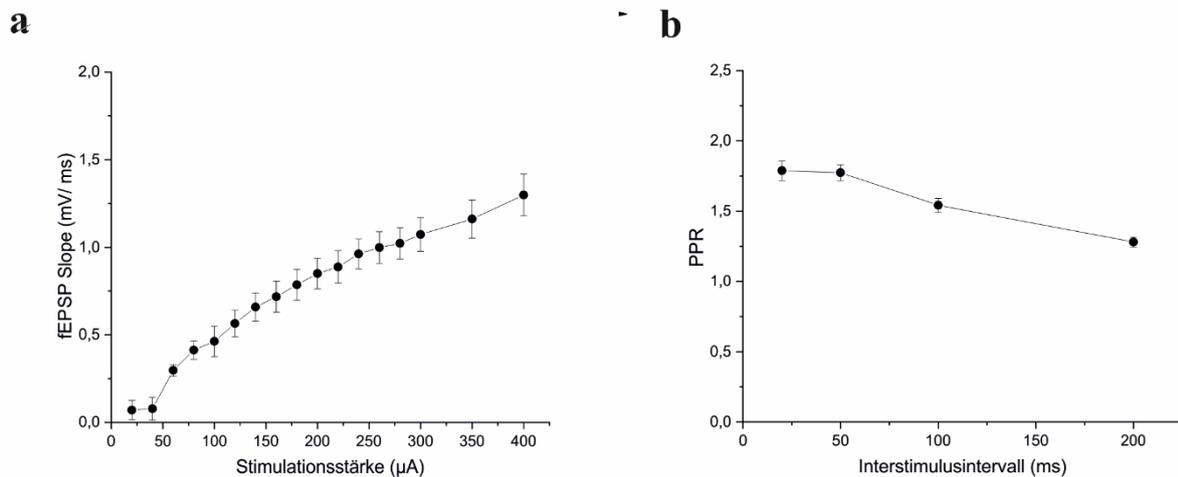


Abb. A 6: Darstellung der basalen synaptischen Transmission und PPR bei verschiedenen ISI aller nun folgenden Experimente im VH.

(a) Verlauf der Reiz-Reaktionskurve.

(b) Darstellung des PPR unter Verwendung der verschiedenen ISIs 20, 50, 100 und 200 ms.

Statistische Analyse der synaptischen Ermüdung - Vergleich von Kontrolle und **PT des DA: 45 min vor 1x25 Hz**

Pulsnummer	Kontrolle (1x25 Hz)	PT: -45 min	Statistischer Test (Zweistichproben-t-Test: „t _(df) “ bzw. Mann-Whitney-U-Test: „U“)	p-Wert	Statistische Signifikanz
C2	1,34 ± 0,1	1,42 ± 0,1	t ₍₁₆₎ = 0,68	0,5062	ns
C10	1,41 ± 0,2	1,24 ± 0,2	U= 38	0,8773	ns
C25	1,13 ± 0,1	1,03 ± 0,1	U= 38	0,8688	ns

Statistische Analyse der synaptischen Ermüdung – Vergleich von Kontrolle und **PT des DA: 45 min nach 1x25 Hz**

Pulsnummer	Kontrolle (1x25 Hz)	PT: +45 min	Statistischer Test (Zweistichproben-t-Test: „t _(df) “ bzw. Mann-Whitney-U-Test: „U“)	p-Wert	Statistische Signifikanz
C2	1,32 ± 0,1	1,41 ± 0,2	t ₍₁₆₎ = 0,8201	0,4242	ns
C10	1,21 ± 0,1	1,15 ± 0,1	t _(14,5) = 0,4917	0,6303	ns
C25	1,16 ± 0,1	1,03 ± 0,1	t ₍₁₆₎ = 1,217	0,2413	ns

- zu Kapitel: 3.2.3.:**Statistische Analyse der synaptischen Ermüdung - Vergleich von Kontrolle und PT des NE: 45 min vor 1x25 Hz**

Pulsnummer	Kontrolle (1x25 Hz)	PT: -45 min	Statistischer Test (Zweistichproben-t-Test: „t _(df) “ bzw. Mann-Whitney-U-Test: „U“)	p-Wert	Statistische Signifikanz
C2	1,38 ± 0,1	2,08 ± 0,4	U= 9	0,0148	*
C10	1,38 ± 0,1	1,53 ± 0,1	t ₍₁₆₎ = 1,257	0,2294	ns
C25	1,36 ± 0,2	1,65 ± 0,2	U= 23	0,3754	ns

Statistische Analyse der synaptischen Ermüdung - Vergleich von Kontrolle und PT des NE: 10 min vor 1x25Hz

Pulsnummer	Kontrolle (1x25 Hz)	PT: -10 min	Statistischer Test (Zweistichproben-t-Test: „t _(df) “ bzw. Mann-Whitney-U-Test: „U“)	p-Wert	Statistische Signifikanz
C2	1,60 ± 0,1	1,70 ± 0,1	U= 33	0,5647	ns
C10	1,44 ± 0,1	1,63 ± 0,1	t ₍₁₆₎ = 1,164	0,2616	ns
C25	1,17 ± 0,1	1,47 ± 0,1	t ₍₁₆₎ = 1,660	0,1164	ns

Statistische Analyse der synaptischen Ermüdung – Vergleich von Kontrolle und PT des NE: 45 min nach 1x25 Hz

Pulsnummer	Kontrolle (1x25 Hz)	PT: +45 min	Statistischer Test (Zweistichproben-t-Test: „t _(df) “ bzw. Mann-Whitney-U-Test: „U“)	p-Wert	Statistische Signifikanz
C2	1,32 ± 0,1	1,56 ± 0,1	U= 18	0,3265	ns
C10	1,21 ± 0,1	1,46 ± 0,1	U= 13	0,1135	ns
C25	1,16 ± 0,1	1,14 ± 0,1	U= 26	0,9391	ns

Kapitel 3.3. Dorsaler Hippocampus (DH)

- zu Kapitel 3.3.1.:

In Abb. A 7 sind die experimentenzugehörige Reiz-Reaktionskurve, PPR (ISIs: 20, 50, 100 und 200 ms) sowie die Analyse der synaptischen Ermüdung der SC-CA1-Synapsen auf die beiden LTP-induzierenden Stimuli 3x100 Hz und 1x25 Hz zusammengefasst.

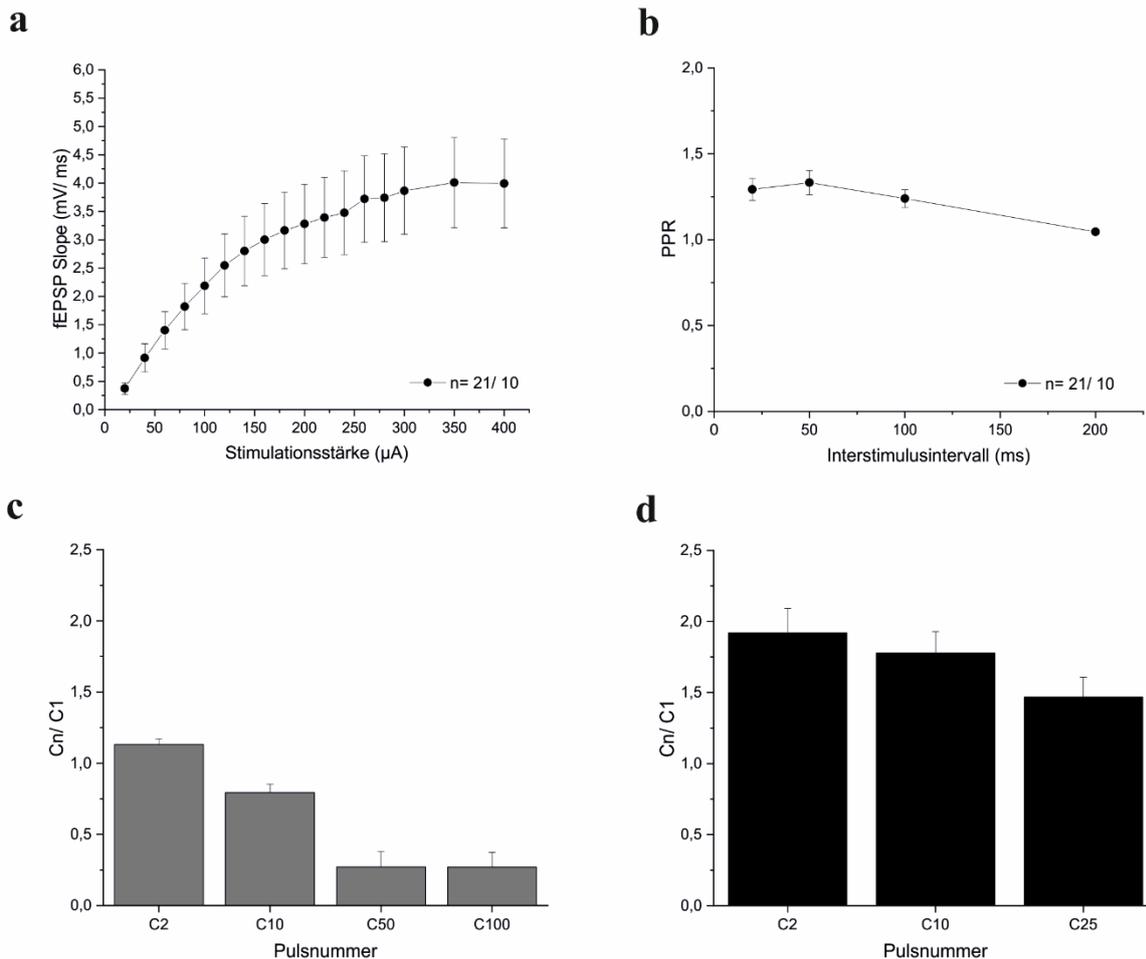


Abb. A 7: Darstellung der basalen synaptischen Transmission sowie PPR bei den verschiedenen ISIs.

(a) Verlauf der Reiz-Reaktionskurve.

(b) Darstellung des PPR unter Verwendung der verschiedenen ISIs 20, 50, 100 und 200 ms.

(c) Darstellung der synaptischen Ermüdung der SC-CA1-Synapsen auf den LTP-induzierenden Stimulus 3x100 Hz. Die Balkendiagramme zeigen das mittlere Verhältnis (auf den ersten Puls normiert) der fEPSP-Antworten auf den LTP-induzierenden Stimulus 3x100 Hz (grau) der verschiedenen Pulsnummern 2, 10, 50 und 100 bzw.

(d) der fEPSP-Antworten auf den LTP-induzierenden Stimulus 1x25 Hz (schwarz) der verschiedenen Pulsnummern 2, 10 und 25.

Statistische Analyse der PPR bei einem ISI von 50 ms vor und nach der LTP

Protokoll	Statistischer Test (gepaarter t-Test: „t _(df) “ bzw. Wilcoxon-Test: „W“)	p-Wert	Statistische Signifikanz
3x100 Hz	W= 28	0,0156	*
1x25 Hz	W= 36	0,0078	**

- zu Kapitel: 3.3.2.:

In Abb. A 8 sind die experimentzugehörigen routinemäßig durchgeführten Reiz-Reaktionskurven und PPR (ISIs von 20, 50, 100 und 200 ms) der nun folgenden Experimente zur Untersuchung der pro-/ retroaktiven bzw. kombinierter Wirkung von DA bzw. NE im DH zusammengefasst.

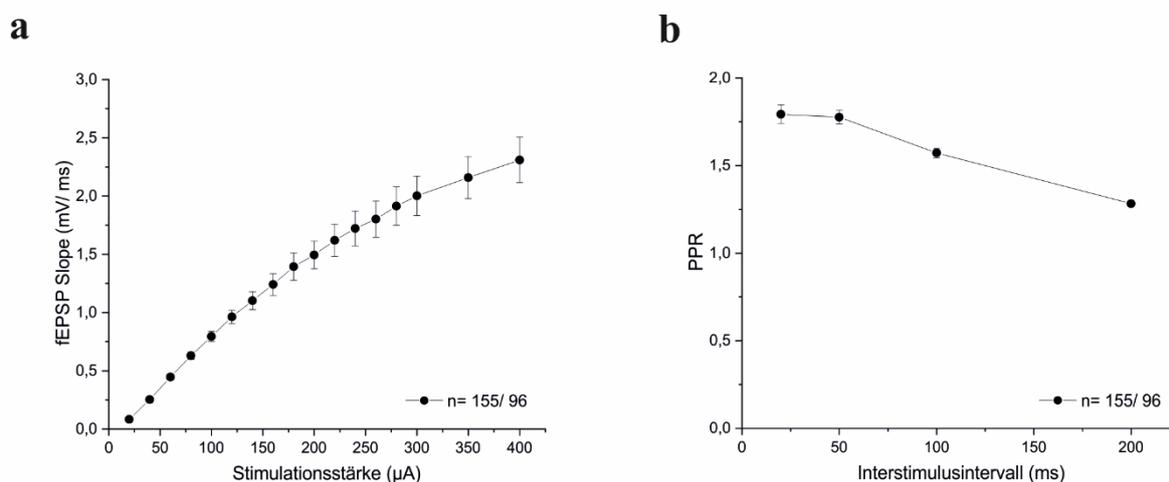


Abb. A 8: Darstellung der basalen synaptischen Transmission und PPR bei verschiedenen ISI aller nun folgenden Experimente im DH.

(a) Verlauf der Reiz-Reaktionskurve.

(b) Darstellung des PPR unter Verwendung der verschiedenen ISIs 20, 50, 100 und 200 ms.

Statistische Analyse der synaptischen Ermüdung - Vergleich von Kontrolle und PT des DA: 45 min vor 1x25 Hz

Pulsnummer	Kontrolle (1x25 Hz)	PT: -45 min	Statistischer Test (Zweistichproben-t- Test: „t _(df) “ bzw. Mann- Whitney-U-Test: „U“)	p-Wert	Statistische Signifikanz
C2	1,87 ± 0,1	2,35 ± 0,3	U= 61	0,3703	ns

C10	1,69 ± 0,1	1,98 ± 0,2	$t_{(23)} = 1,166$	0,2550	ns
C25	1,47 ± 0,1	1,55 ± 0,1	$t_{(23)} = 0,4465$	0,6594	ns

Statistische Analyse der synaptischen Ermüdung – Vergleich von Kontrolle und PT des DA: 45 min nach 1x25 Hz

Pulsnummer	Kontrolle (1x25 Hz)	PT: +45 min	Statistischer Test (Zweistichproben-t-Test: „ $t_{(df)}$ “ bzw. Mann- Whitney-U-Test: „U“)	p-Wert	Statistische Signifikanz
C2	1,87 ± 0,1	1,78 ± 0,2	U= 74	0,6234	ns
C10	1,69 ± 0,1	1,78 ± 0,1	$t_{(23,9)} = 0,4695$	0,6430	ns
C25	1,47 ± 0,1	1,44 ± 0,1	U= 81	0,8885	ns

- zu Kapitel: 3.3.3.:

Statistische Analyse der synaptischen Ermüdung - Vergleich von Kontrolle und PT des NE: 45 min vor 1x25 Hz

Pulsnummer	Kontrolle (1x25 Hz)	PT: -45 min	Statistischer Test (Zweistichproben-t-Test: „ $t_{(df)}$ “ bzw. Mann- Whitney-U-Test: „U“)	p-Wert	Statistische Signifikanz
C2	1,87 ± 0,1	1,79 ± 0,2	U= 42	0,4114	ns
C10	1,69 ± 0,1	1,7 ± 0,2	$t_{(19)} = 0,0405$	0,9681	ns
C25	1,47 ± 0,1	1,42 ± 0,1	$t_{(19)} = 0,2545$	0,8018	ns

Statistische Analyse der synaptischen Ermüdung - Vergleich von Kontrolle und PT des NE: 10 min vor 1x25 Hz

Pulsnummer	Kontrolle (1x25 Hz)	PT: -10 min	Statistischer Test (Zweistichproben-t-Test: „ $t_{(df)}$ “ bzw. Mann- Whitney-U-Test: „U“)	p-Wert	Statistische Signifikanz
C2	1,82	1,86 ± 0,1	$t_{(16)} = 0,2577$	0,7999	ns
C10	1,71 ± 0,1	1,81 ± 0,1	$t_{(16)} = 0,4067$	0,6896	ns

C25	1,33 ± 0,1	1,37 ± 0,1	$t_{(16)} = 0,4078$	0,6888	ns
-----	------------	------------	---------------------	--------	----

Statistische Analyse der synaptischen Ermüdung – Vergleich von Kontrolle und PT des DA: 45 min nach 1x25 Hz

Pulsnummer	Kontrolle (1x25 Hz)	PT: +45 min	Statistischer Test (Zweistichproben-t-Test: „ $t_{(df)}$ “ bzw. Mann- Whitney-U-Test: „U“)	p-Wert	Statistische Signifikanz
C2	1,87 ± 0,1	1,58 ± 0,2	U= 45	0,1266	ns
C10	1,69 ± 0,1	1,53 ± 0,2	U= 48	0,1764	ns
C25	1,47 ± 0,1	1,27 ± 0,1	U= 48	0,1764	ns

- zu Kapitel 3.3.6.:

Statistische Analyse der synaptischen Ermüdung - Vergleich der Kontrolle mit PT des Mix: 45 min vor und nach 1x25 Hz

Pulsnummer	Kontrolle (1x25 Hz)	Mix/ Mix	Statistischer Test (Zweistichproben-t-Test: „ $t_{(df)}$ “ bzw. Mann- Whitney-U-Test: „U“)	p-Wert	Statistische Signifikanz
C2	1,72 ± 0,1	1,7 ± 0,1	$t_{(15)} = 0,095$	0,9256	ns
C10	1,5 ± 0,1	1,92 ± 0,3	U= 26	0,3655	ns
C25	1,23 ± 0,1	1,66 ± 0,4	U= 30	0,5947	ns

Statistische Analyse der synaptischen Ermüdung auf den 1x25 Hz-Stimulus - Vergleich der Kontrolle mit PT des DA 45 min und NE 10 min vor 1x25 Hz

Pulsnummer	Kontrolle (1x25 Hz)	DA/NE	Statistischer Test (Zweistichproben-t- Test: „ $t_{(df)}$ “ bzw. Mann- Whitney-U-Test: „U“)	p-Wert	Statistische Signifikanz
C2	1,72 ± 0,1	1,75	$t_{(2)} = 0,1521$	0,8815	ns
C10	1,50 ± 0,1	1,71 ± 0,2	$t_{(13)} = 1,026$	0,3235	ns
C25	1,23 ± 0,1	1,39 ± 0,1	$t_{(13)} = 1,083$	0,2984	ns

Statistische Analyse der synaptischen Ermüdung - Vergleich von Kontrolle und PT des DHX: 45 min vor 1x25 Hz

Pulsnummer	Kontrolle (1x25 Hz)	DHX	Statistischer Test (Zweistichproben-t-Test: „t _(df) “ bzw. Mann-Whitney-U-Test: „U“)	p-Wert	Statistische Signifikanz
C2	1,78 ± 0,1	2,11 ± 0,3	U= 25	0,3518	ns
C10	1,73 ± 0,1	1,63 ± 0,1	t ₍₁₅₎ = 0,6587	0,5201	ns
C25	1,49 ± 0,2	1,33 ± 0,1	U= 27	0,4705	ns

Kapitel 3.4. Möglicher Einfluss des Vit. C auf die Messparameter in den verschiedenen Hippocampi

Statistische Analyse der Reiz-Reaktionskurve ohne Vit. C

Stimulationsstärke	Statistischer Test (einfaktorielle Anova: „F(df _n , df _d)“	p-Wert	Post-hoc Tukey-Test: Unterschiede zwischen Gruppen	p-Wert	Statistische Signifikanz
200 µA	F(2, 73)= 9,474	0,0002	VH - DH	0,0001	***
			VH - VIH	0,0430	*
400 µA	F(2, 73)= 8,129	0,0006	VH - DH	0,0005	***

Statistische Analyse der Reiz-Reaktionskurve mit Vit. C

Stimulationsstärke	Statistischer Test (einfaktorielle Anova: „F(df _n , df _d)“	p-Wert	Post-hoc Tukey-Test: Unterschiede zwischen Gruppen	p-Wert	Statistische Signifikanz
200 µA	F(2, 363)= 26,97	<0,0001	DH - VH	<0,0001	***
			DH - VIH	<0,0001	***
400 µA	F(2, 363)= 18,99	<0,0001	DH - VH	<0,0001	***

			DH - VIH	<0,0001	***
--	--	--	----------	---------	-----

Statistische Analyse der PPR ohne Vit. C

Interstimulus-intervall (ISI)	Statistischer Test (einfaktorielle Anova: „F(df _n , df _d)“)	p-Wert	Post-hoc Tukey-Test: Unterschiede zwischen Gruppen	p-Wert	Statistische Signifikanz
20 ms	F(2, 73)= 8,187	0,0006	DH - VIH DH - VH	0,00289 0,0009	* ***
50 ms	F(2, 73)= 10,63	<0,0001	DH - VIH DH - VH	0,0174 0,0001	* ***
100 ms	F(2, 73)= 13,61	<0,0001	DH - VIH DH - VH	0,0018 <0,0001	** ***
200 ms	F(2, 73)= 4,566	0,0135	VH - DH	0,00174	*

Statistische Analyse der PPR mit Vit. C

Interstimulus-intervall (ISI)	Statistischer Test (einfaktorielle Anova: „F(df _n , df _d)“)	p-Wert	Post-hoc Tukey-Test: Unterschiede zwischen Gruppen	p-Wert	Statistische Signifikanz
20 ms	F(2, 363)= 24,49	<0,0001	DH - VIH VH - VIH VH - DH	<0,0001 0,0327 <0,0001	*** * ***
50 ms	F(2, 363)= 25,34	<0,0001	DH - VIH VH - VIH VH - DH	<0,0001 0,0286 <0,0001	*** * ***
100 ms	F(2, 363)= 26,99	<0,0001	DH - VIH VH - VIH VH - DH	<0,0001 0,0071 <0,0001	*** ** ***
200 ms	F(2, 363)= 60,42	<0,0001	DH - VIH VH - VIH	<0,0001 0,0248	*** *

			VH - DH	<0,0001	***
--	--	--	---------	---------	-----

Statistische Analyse im VIH: Reiz-Reaktionskurve

Stimulationsstärke	Statistischer Test (Zweistichproben-t-Test: „t _(df) “ bzw. Mann-Whitney-U-Test: „U“)	p-Wert	Statistische Signifikanz
200 μ A	U= 897	0,1339	ns
400 μ A	U= 978	0,3050	ns

Statistische Analyse im VIH: PPR

Interstimulusintervall (ISI)	Statistischer Test (Zweistichproben-t-Test: „t _(df) “ bzw. Mann-Whitney-U-Test: „U“)	p-Wert	Statistische Signifikanz
20 ms	U= 1133	0,8969	ns
50 ms	U= 1113	0,8064	ns
100 ms	U= 990	0,3394	ns
200 ms	U= 1077	0,6507	ns

Statistische Analyse im VH: Reiz-Reaktionskurve

Stimulationsstärke	Statistischer Test (Zweistichproben-t-Test: „t _(df) “ bzw. Mann-Whitney-U-Test: „U“)	p-Wert	Statistische Signifikanz
200 μ A	U= 647,5	0,2170	ns
400 μ A	U= 643	0,2027	ns

Statistische Analyse im VH: PPR

Interstimulusintervall (ISI)	Statistischer Test (Zweistichproben-t-Test: „t _(df) “ bzw. Mann-Whitney-U-Test: „U“)	p-Wert	Statistische Signifikanz
20 ms	U= 750	0,7444	ns
50 ms	U= 666	0,2833	ns

100 ms	U= 737	0,6554	ns
200 ms	$t_{(48,41)}= 0,064$	0,9497	ns

Statistische Analyse im DH: Reiz-Reaktionskurve

Stimulations- stärke	Statistischer Test (Zweistichproben-t-Test: „ $t_{(df)}$ “ bzw. Mann-Whitney-U-Test: „U“)	p-Wert	Statistische Signifikanz
200 μ A	U= 2322	0,0433	*
400 μ A	U= 2610	0,1590	ns

Statistische Analyse im DH: PPR

Interstimulus- intervall (ISI)	Statistischer Test (Zweistichproben-t-Test: „ $t_{(df)}$ “ bzw. Mann-Whitney-U-Test: „U“)	p-Wert	Statistische Signifikanz
20 ms	U= 2019	0,0394	*
50 ms	U= 2781	0,5957	ns
100 ms	U= 2848	0,7549	ns
200 ms	U= 2817	0,6805	ns

III. Literaturverzeichnis

- Abraham, W. C. (2008). Metaplasticity: Tuning synapses and networks for plasticity. *Nature Reviews Neuroscience*, 9, 387–399.
- Abraham, W. C. & Bear, M. F. (1996). Metaplasticity: the plasticity of synaptic plasticity. *Trends in Neuroscienc*, 19, 126–130.
- Amaral, D. G. & Lavenex, P. (2007). Hippocampus. In Per Andersen, R. G. M. Morris, D. G. Amaral, T. V. P. Bliss, & J. O'Keefe (Eds.), *Oxford University Press* (1st ed.). Oxford University Press.
- Andersen, P., Bliss, T. V. P. & Skrede, K. K. (1971). Lamellar organization of hippocampal excitatory pathways. *Experimental Brain Research*, 13, 222–238.
- Ballarini, F., Moncada, D., Martinez, M. C., Alen, N. & Viola, H. (2009). Behavioral tagging is a general mechanism of long-term memory formation. *Proceedings of the National Academy in Science of the United States of America*, 106(34), 14599–14604.
- Balschun, D. & Rowan, M. J. (2018). Hippocampale synaptische Plastizität bei neurodegenerativen Erkrankungen: A β , Tau und darüber hinaus. *Neuroforum*, 24(3), 203–212.
- Barde, Y. A. (1994). Neurotrophins: a family of proteins supporting the survival of neurons. *Progress in Clinical and Biological Research*, 390, 45–56.
- Barnes, C. A., Rao, G. & Shen, J. (1997). Age-related decrease in the N-methyl-D-aspartate R-mediated excitatory postsynaptic potential in hippocampal region CA1. *Neurobiology of Aging*, 18(4), 445–452.
- Bartsch, T. & Wulff, P. (2015). The hippocampus in aging and disease: From plasticity to vulnerability. *Neuroscience*, 309, 1–16. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.07.084>
- Battaglia, F., Wang, H.-Y., Ghilardi, M. F., Gashi, E., Quartarone, A., Friedman, E. & Nixon, R. A. (2007). Cortical plasticity in Alzheimer's disease in humans and rodents. *Biological Psychiatry*, 62(12), 1405–1412.
- Bazzari, A. H. & Parri, H. R. (2019). Neuromodulators and long-term synaptic plasticity in learning and memory: A steered-glutamatergic perspective. *Brain Sciences*, 9(11).
- Bear, M. F., Cooper, L. N. & Ebner, F. F. (1987). A physiological basis for a theory of synapse modification. *Science*, 237(4810), 42–48.
- Bienkowski, M. S., Bowman, I., Song, M. Y., Gou, L., Ard, T., Cotter, K., Zhu, M., Benavidez, N. L., Yamashita, S., Abu-Jaber, J., Azam, S., Lo, D., Foster, N. N., Hintiryan, H. & Dong, H.-W. (2018). Integration of gene expression and brain-wide connectivity reveals the multiscale organization of mouse hippocampal networks. *Nature Neuroscience*, 21(11), 1628–1643.
- Bin Ibrahim, M. Z., Benoy, A. & Sajikumar, S. (2022). Long-term plasticity in the hippocampus: maintaining within and 'tagging' between synapses. *FEBS Journal*, 289(8), 2176–2201.
- Bliss, T. V. P. & Collingridge, G. L. (1993). A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature*, 361, 31–39.
- Bliss, T. V. P., Collingridge, G. L. & Morris, R. G. M. (2007). *The Hippocampus Book* (Per Andersen, R. G. M. Morris, D. G. Amaral, T. V. P. Bliss, & J. O'Keefe (eds.)). Oxford University Press.
- Bliss, T. V. P., Collingridge, G. L., Morris, R. G. M. & Reymann, K. G. (2018). Langzeitpotenzierung im Hippocampus: Entdeckung, Mechanismen und Funktion. *Neuroforum*, 24(3), 1–20.
- Bliss, T. V. P. & Lomo, T. (1973). Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *The Journal of Physiology*, 232(2), 331–356.

- Brigadski, T. & Lessmann, V. (2020). The physiology of regulated BDNF release. *Cell and Tissue Research*, 382(1), 15–45.
- Brigadski, T. & Lessmann, V. (2014). BDNF: Ein Regulator von Lern- und Gedächtnisprozessen mit klinischem Potenzial. *Springer-Verlag/ Neuroforum*, 166–177.
- Brisch, R., Saniotis, A., Wolf, R., Bielau, H., Bernstein, H. G., Steiner, J., Bogerts, B., Braun, K., Kumaratilake, J., Henneberg, M. & Gos, T. (2014). The role of dopamine in schizophrenia from a neurobiological and evolutionary perspective: old fashioned, but still in vogue. *Frontiers in Psychiatry*, 5(47).
- Brzosko, Z., Schultz, W. & Paulsen, O. (2015). Retroactive modulation of spike timing-dependent plasticity by dopamine. *ELife*, 4.
- Castrén, E., Pitkänen, M., Sirviö, J., Parsadanian, A., Lindholm, D., Thoenen, H. & Riekkinen, P. J. (1993). The induction of LTP increases BDNF and NGF mRNA but decreases NT-3 mRNA in the dentate gyrus. *Neuroreport*, 4(7), 895–898.
- Cepeda, C., Colwell, C. S., Itri, J. N., Chandler, S. H. & Levine, M. S. (1998). Dopaminergic modulation of NMDA-induced whole cell currents in neostriatal neurons in slices: contribution of calcium conductances. *Journal of Neurophysiology*, 79(1), 82–94.
- Cheung, T. H. C. & Cardinal, R. N. (2005). Hippocampal lesions facilitate instrumental learning with delayed reinforcement but induce impulsive choice in rats. *BMC Neuroscience*, 6–36.
- Citri, A. & Malenka, R. C. (2008). Synaptic plasticity: Multiple forms, functions, and mechanisms. *Neuropsychopharmacology*, 33, 18–41.
- Clausen, A., Doctrow, S. & Baudry, M. (2010). Prevention of cognitive deficits and brain oxidative stress with superoxide dismutase/catalase mimetics in aged mice. *Neurobiology of Aging*, 31(3), 425–433.
- Clayton, D. A., Mesches, M. H., Alvarez, E., Bickford, P. C. & Browning, M. D. (2002). A hippocampal NR2B deficit can mimic age-related changes in long-term potentiation and spatial learning in the Fischer 344 rat. *The Journal of Neuroscience*, 22(9), 3628–3637.
- Colgin, L. L., Kubota, D., Jia, Y., Rex, C. S. & Lynch, G. (2004). Long-term potentiation is impaired in rat hippocampal slices that produce spontaneous sharp waves. *Journal of Physiology*, 558(3), 953–961.
- Cooke, J. D., Cavender, H. M., Lima, H. K. & Grover, L. M. (2014). Antidepressants that inhibit both serotonin and norepinephrine reuptake impair long-term potentiation in hippocampus. *Psychopharmacology*, 231(23), 4429–4441.
- da Silva, W. C. N., Köhler, C. C., Radiske, A. & Cammarota, M. (2012). D1/D5 dopamine receptors modulate spatial memory formation. *Neurobiology of Learning and Memory*, 97(2), 271–275.
- Deng, W., Aimone, J. B. & Gage, F. H. (2010). New neurons and new memories: how does adult hippocampal neurogenesis affect learning and memory? *Nature Reviews Neuroscience*, 11(5), 339–350.
- Devoto, P. & Flore, G. (2006). On the origin of cortical dopamine: is it a co-transmitter in noradrenergic neurons? *Current Neuropharmacology*, 4, 115–125.
- Dobrunz, L. E. & Stevens, C. F. (1997). Heterogeneity of release probability, facilitation, and depletion at central synapses. *Neuron*, 18(6), 995–1008.
- Dubovyk, V. & Manahan-Vaughan, D. (2018). Less means more: The magnitude of synaptic plasticity along the hippocampal dorso-ventral axis is inversely related to the expression levels of plasticity-related neurotransmitter receptors. *Hippocampus*, 28(2), 136–150.
- Duvernoy, H. M. (2005). The human hippocampus. In *Springer-Verlag (3. Edition)*.

- Edelmann, E., Brigadski, T. & Lessmann, V. (2014). Pre- and postsynaptic twists in BDNF secretion and action in synaptic plasticity. *Neuropharmacology*, 76(PART C), 610–627.
- Edelmann, E., Cepeda-Prado, E., Franck, M., Lichtenecker, P., Brigadski, T. & Lessmann, V. (2015). Theta burst firing recruits BDNF release and signaling in postsynaptic CA1 neurons in spike-timing-dependent LTP. *Neuron*, 86(4), 1041–1054. 7
- Edelmann, E., Cepeda-Prado, E. & Lessmann, V. (2017). Coexistence of multiple types of synaptic plasticity in individual hippocampal CA1 pyramidal neurons. *Frontiers in Synaptic Neuroscience*, 9(7).
- Edelmann, E. & Lessmann, V. (2011). Dopamine modulates spike timing-dependent plasticity and action potential properties in CA1 pyramidal neurons of acute rat hippocampal slices. *Frontiers in Synaptic Neuroscience*, 3(6), 1–16.
- Edelmann, E. & Lessmann, V. (2013). Dopamine regulates intrinsic excitability thereby gating successful induction of spike timing-dependent plasticity in CA1 of the hippocampus. *Frontiers in Neuroscience*, 7, 1–11.
- Edelmann, E. & Lessmann, V. (2018). Die Analyse synaptischer Plastizität auf Einzelzellebene mit Hilfe der STDP. *Neuroforum*, 24(3), 213–221.
- Edelmann, E. & Lessmann, V. (2018). Dopaminergic innervation and modulation of hippocampal networks. *Cell and Tissue Research*, 373(3), 711–727.
- Eichenbaum, H., Amaral, D. G., Buffalo, E. A., Buzsáki, G., Cohen, N., Davachi, L., Frank, L., Heckers, S., Morris, R. G. . M., Moser, E. I., Nadel, L., O’Keefe, J., Preston, A., Ranganath, C., Silva, A. & Witter, M. (2016). Hippocampus at 25. *Hippocampus*, 26(10), 1238–1249.
- Engert, F. & Bonhoeffer, T. (1999). Dendritic spine changes associated with hippocampal long-term synaptic plasticity. *Nature*, 399(6731), 66–70.
- Fanselow, M. S. & Dong, H.-W. (2010). Are the dorsal and ventral hippocampus functionally distinct structures? *Neuron*, 65(1), 7–19.
- Figurov, A., Pozzo-Miller, L. D., Olafsson, P., Wang, T. & Lu, B. (1996). Regulation of synaptic responses to high-frequency stimulation and LTP by neurotrophins in the hippocampus. *Nature*, 381(6584), 706–709.
- Frey, U., Matthies, H., Reymann, K. G. & Matthies, H. (1991). The effect of dopaminergic D1 receptor blockade during tetanization on the expression of long-term potentiation in the rat CA1 region in vitro. *Neuroscience Letters*, 129(1), 111–114.
- 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 Research*, 522, 69–75.
- Fukui, K., Omoi, N.-O., Hayasaka, T., Shinnkai, T., Suzuki, S., Abe, K. & Urano, S. (2002). Cognitive impairment of rats caused by oxidative stress and aging, and its prevention by vitamin E. *Annals of the New York Academy of Science*, 959, 275–284.
- Gage, F. H. & Thompson, R. G. (1980). Differential distribution of norepinephrine and serotonin along the dorsal-ventral axis of the hippocampal formation. *Brain Research Bulletin*, 5(6), 771–773.
- 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 Research*, 668(1–2), 71–79.
- Gasbarri, A., Packard, M. G., Campana, E. & Pacitti, C. (2018). Dopaminergic innervation and modulation of hippocampal networks. *Cell and Tissue Research*, 373(3), 711–727.

- Gasbarri, A., Sulli, A. & Packard, M. G. (1997). The dopaminergic mesencephalic projections to the hippocampal formation in the rat. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 21(1), 1–22.
- Gelinas, J. N. & Nguyen, P. V. (2005). β -adrenergic receptor activation facilitates induction of a protein synthesis-dependent late phase of long-term potentiation. *Journal of Neuroscience*, 25(13), 3294–3303.
- Glasgow, S. D., McPhedrain, R., Madranges, J. F., Kennedy, T. E. & Ruthazer, E. S. (2019). Approaches and limitations in the investigation of synaptic transmission and plasticity. *Frontiers in Synaptic Neuroscience*, 11(20).
- Goode, T. D., Tanaka, K. Z., Sahay, A. & McHugh, T. J. (2020). An integrated index: engrams, place cells, and hippocampal memory. *Neuron*, 107(5), 805–820.
- Hansen, N. & Manahan-Vaughan, D. (2014). Dopamine D1/D5 receptors mediate informational saliency that promotes persistent hippocampal long-term plasticity. *Cerebral Cortex*, 24(4), 845–858.
- Harley, C. W., Lalies, M. D. B. & Nutt, D. J. (1996). Estimating the synaptic concentration of norepinephrine in dentate gyrus which produces β -receptor mediated long-lasting potentiation in vivo using microdialysis and intracerebroventricular norepinephrine. *Brain Research*, 710(1–2), 293–298.
- Harris, K. M., Cruce, W. L. R., Greenough, W. T. & Teyler, T. J. (1980). A Golgi impregnation technique for thin brain slices maintained in vitro. *Journal of Neuroscience Methods*, 2, 363–371.
- Head, E. (2009). Oxidative damage and cognitive dysfunction: antioxidant treatments to promote healthy brain aging. *Neurochemical Research*, 34(4), 670–678.
- Heruye, S. H., Warren, T. J., Kostansek, J. A., Draves, S. B., Matthews, S. A., West, P. J., Simeone, K. A. & Simeone, T. A. (2022). Ascorbic acid reduces neurotransmission, synaptic plasticity, and spontaneous hippocampal rhythms in in vitro slices. *Nutrients*, 14(3), 613.
- Hessler, S., Zheng, F., Hartmann, S., Rittger, A., Lehnert, S., Völkel, M., Nissen, M., Edelmann, E., Saftig, P., Schwake, M., Huth, T. & Alzheimer, C. (2015). β -secretase BACE1 regulates hippocampal and reconstituted M-currents in a β -subunit-like fashion. *Journal of Neuroscience*, 35(8), 3298–3311.
- Hörtnagl, H., Berger, M. L., Sperk, G. & Pifl, C. (1991). Regional heterogeneity in the distribution of neurotransmitter markers in the rat hippocampus. *Neuroscience*, 45(2), 261–272.
- Hsu, K.-S. & Huang, C.-C. (1997). Characterization of the anoxia-induced long-term synaptic potentiation in area CA1 of the rat hippocampus. *British Journal of Pharmacology*, 122, 671–681.
- Huang, Y.-Y. & Kandel, E. R. (1995). D1/D5 receptor agonists induce a protein synthesis-dependent late potentiation in the CA1 region of the hippocampus. *Proceedings of the National Academy of the Science of the United States of America*, 92(7), 2446–2450.
- Ireland, D. R., Mockett, B. G. & Abraham, W. C. (2009). Metaplasticity. *Encyclopedia of Neuroscience*, 819–826.
- Ishikawa, K., Ott, T., & Mcgaugh, J. L. (1982). Evidence for dopamine as a transmitter in dorsal hippocampus. *Brain Research*, 232(1), 222–226.
- Joyce, A. & Vogeler, S. (2018). Molluscan bivalve settlement and metamorphosis: Neuroendocrine inducers and morphogenetic responses. *Aquaculture*, 487, 64–82.
- Juric, D. M., Miklic, S. & Carman-Krzan, M. (2006). Monoaminergic neuronal activity up-regulates BDNF synthesis in cultured neonatal rat astrocytes. *Brain Research*, 1108(1), 54–62.
- Kandel, E. R., Schwartz, J. H., Jessell, T. M., Siegelbaum, S. A. & Hudspeth, A. J. (2013). *Principles*

- of neural science* (Eric R. Kandel, J. H. Schwartz, T. M. Jessell, S. A. Siegelbaum, & A. J. Hudspeth (eds.); 5th ed.). The McGraw-Hill Companies.
- Kandel, E. R., Schwartz, J. & Jessell, T. (1995). *Neurowissenschaften: Eine Einführung* (1st ed.). Springer Spektrum.
- Karamian, R., Komaki, A., Salehi, I., Tahmasebi, L., Komaki, H., Shahidi, S. & Sarihi, A. (2015). Vitamin C reverses lead-induced deficits in hippocampal synaptic plasticity in rats. *Brain Research Bulletin*, 116, 7–15.
- Katsuki, H., Izumi, Y., & Zorumski, C. F. (1997). Noradrenergic regulation of synaptic plasticity in the hippocampal CA1 region. *Journal of Neurophysiology*, 77(6), 3013–3020.
- Katz, B. & Miledi, R. (1968). The role of calcium in neuromuscular facilitation. *The Journal of Physiology*, 195(2), 481–492.
- Katz, P. S. & Calin-Jagemann, R. J. (2009). Neuromodulation. *Encyclopedia of Neuroscience*, 497–503.
- Kempadoo, K. A., Mosharov, E. V., Choi, S. J., Sulzer, D. & Kandel, E. R. (2016). Dopamine release from the locus coeruleus to the dorsal hippocampus promotes spatial learning and memory. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 113(51), 14835–14840.
- Kenney, J. & Manahan-Vaughan, D. (2013). NMDA receptor-dependent synaptic plasticity in dorsal and intermediate hippocampus exhibits distinct frequency-dependent profiles. *Neuropharmacology*, 74, 108–118.
- Keralapurath, M. M., Clark, J. K., Hammond, S. & Wagner, J. J. (2014). Cocaine- or stress-induced metaplasticity of LTP in the dorsal and ventral hippocampus. *Hippocampus*, 24(5), 577–590.
- Klausch, M. (2017). *Elektrophysiologische Untersuchung des Einflusses von freiwilligem Laufradtraining auf hippocampale synaptische Plastizität in einem Mausmodell des Morbus Alzheimer*. Masterarbeit im Studiengang Humanbiologie der Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald - angefertigt im Institut für Physiologie der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg
- Knowles, W. D. (1992). Normal anatomy and neurophysiology of the hippocampal formation. *Journal of Clinical Neurophysiology*, 9(2), 252–263.
- Kolarow, R., Brigadski, T. & Lessmann, V. (2007). Postsynaptic secretion of BDNF and NT-3 from hippocampal neurons depends on calcium-calmodulin kinase II signaling and proceeds via delayed fusion pore opening. *Journal of Neuroscience*, 27(39), 10350–10364.
- Konorski, J. (1949). Conditioned reflexes and neuron organization. *Journal of the American Medical Association*, 139(15).
- Konur, S., Rabinowitz, D., Fenstermaker, V. L. & Yuste, R. (2003). Systematic regulation of spine sizes and densities in pyramidal neurons. *Journal of Neurobiology*, 56(2), 95–112.
- Kuczewski, N., Porcher, C., Ferrand, N., Fiorentino, H., Pellegrino, C., Kolarow, R., Lessmann, V., Medina, I., & Gaiarsa, J. L. (2008a). Back-propagating action potential: a key contributor in activity-dependent dendritic release of BDNF. *Journal of Neuroscience*, 28(27), 7013–7023.
- Kuczewski, N., Porcher, C., Ferrand, N., Fiorentino, H., Pellegrino, C., Kolarow, R., Lessmann, V., Medina, I. & Gaiarsa, J. L. (2008b). Backpropagating action potentials trigger dendritic release of BDNF during spontaneous network activity. *Journal of Neuroscience*, 28(27), 7013–7023.
- Kumar, A. (2011). Long-term potentiation at CA3-CA1 hippocampal synapses with special emphasis on aging, disease, and stress. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 3(7), 1–20.
- Lee, H.-K., Takamiya, K., Han, J.-S., Man, H., Kim, C.-H., Rumbaugh, G., Yu, S., Ding, L., He, C.,

- Petralia, R. S., Wenthold, R. J., Gallagher, M. & Huganir, R. L. (2003). Phosphorylation of the AMPA receptor GluR1 subunit is required for synaptic plasticity and retention of spatial memory. GluR1 subunit of AMPA receptors changes with LTP and LTD induction, consistent with a role for GluR1. *Cell*, 112, 631–643.
- Lemon, N. & Manahan-Vaughan, D. (2012). Dopamine D1/D5 receptors contribute to de novo hippocampal LTD mediated by novel spatial exploration or locus coeruleus activity. *Cerebral Cortex*, 22(9), 2131–2138.
- Leuner, B. & Shors, T. J. (2004). New spines, new memories. *Molecular Neurobiology*, 29(2), 117–130.
- Lewin, G. R. & Barde, Y.-A. (1996). Physiology of the neurotrophins. *Annual Review of Neuroscience*, 19, 289–317.
- Li, S., Cullen, W. K., Anwyl, R. & Rowan, M. J. (2003). Dopamine-dependent facilitation of LTP induction in hippocampal CA1 by exposure to spatial novelty. *Nature Neuroscience*, 6(5), 526–531.
- Lindsay, R. M., Altar, A., Cedarbaum, J. M., Hyman, C. & Wiegand, S. J. (1993). The therapeutic potential of neurotrophic factors in the treatment of Parkinson's disease. *Experimental Neurology*, 124, 103–118.
- Lisman, J. E. & Grace, A. A. (2005). The hippocampal-VTA loop: Controlling the entry of information into long-term memory. *Neuron*, 46, 703–713.
- Liu, W., Ge, T., Leng, Y., Pan, Z., Fan, J., Yang, W. & Cui, R. (2017). The role of neural plasticity in depression: from hippocampus to prefrontal cortex. *Neural Plasticity*, 6871089.
- Liu, Y., Bergmann, T., Mori, Y., Peralvo Vidal, J. M., Pihl, M., Vasistha, N. A., Thomsen, P. D., Seemann, S. E., Gorodkin, J., Hyttel, P., Khodosevich, K., Witter, M. P. & Hall, V. J. (2021). Development of the entorhinal cortex occurs via parallel lamination during neurogenesis. *Frontiers in Neuroanatomy*, 15.
- Lu, H., Park, H. & Poo, M. M. (2014). Spike-timing-dependent BDNF secretion and synaptic plasticity. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 369(1633).
- Maggio, N., & Segal, M. (2007). Striking variations in corticosteroid modulation of long-term potentiation along the septotemporal axis of the hippocampus. *Journal of Neuroscience*, 27(21), 5757–5765.
- Maggio, N. & Segal, M. (2009). Differential modulation of long-term depression by acute stress in the rat dorsal and ventral hippocampus. *Journal of Neuroscience*, 29(27), 8633–8638.
- Maity, S., Rah, S., Sonenberg, N., Gkogkas, C. G. & Nguyen, P. V. (2015). Norepinephrine triggers metaplasticity of LTP by increasing translation of specific mRNAs. *Learning and Memory*, 22(10), 499–508.
- Mango, D., Saidi, A., Cisale, G. Y., Feligioni, M., Corbo, M. & Nisticò, R. (2019). Targeting synaptic plasticity in experimental models of Alzheimer's disease. *Frontiers in Pharmacology*, 10(778).
- Maruki, K., Izaki, Y., Nomura, M. & Yamauchi, T. (2001). Differences in paired-pulse facilitation and long-term potentiation between dorsal and ventral CA1 regions in anesthetized rats. *Hippocampus*, 11(6), 655–661.
- Matthies, H. (1989). In search of cellular mechanisms of memory. *Progress in Neurobiology*, 32, 277–349.
- Matynia, A., Kushner, S. A. & Silva, A. J. (2002). Genetic approaches to molecular and cellular cognition: a focus on LTP and learning and memory. *Annual Review of Genetics*, 36, 687–720.
- McNamara, C. G., Tejero-Cantero, Á., Trouche, S., Campo-Urriza, N. & Dupret, D. (2014).

- Dopaminergic neurons promote hippocampal reactivation and spatial memory persistence. *Nature Neuroscience*, 17(12), 1658–1660.
- Megias, M., Emri, Z. S., Freund, T. F. & Guly, A. (2001). Total number and distribution of inhibitory and excitatory synapses on hippocampal CA1 pyramidal cells. *Neuroscience*, 102(3), 527–540.
- Milior, G., Castro, M. A. D., Sciarria, L. P., Garofalo, S., Branchi, I., Ragozzino, D., Limatola, C. & Maggi, L. (2016). Electrophysiological properties of CA1 pyramidal neurons along the longitudinal axis of the mouse hippocampus. *Scientific Reports*, 6(38242).
- Miliou, A., Papaleonidopoulos, V., Trompoukis, G. & Papatheodoropoulos, C. (2021). Septotemporal variation in beta-adrenergic modulation of short-term dynamics in the hippocampus. *IBRO Neuroscience Reports*, 11, 64–72.
- Milner, B., Squire, L. R., & Kandel, E. R. (1998). Cognitive neuroscience and the study of memory. *Neuron*, 20, 445–468.
- Moncada, D., Ballarini, F. & Viola, H. (2015). Behavioral tagging: A translation of the synaptic tagging and capture hypothesis. *Neural Plasticity*.
- Moncada, D. & Viola, H. (2007). Induction of long-term memory by exposure to novelty requires protein synthesis: Evidence for a behavioral tagging. *Journal of Neuroscience*, 27(28), 7476–7481.
- Morris, R. (1984). Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. In *Journal of Neuroscience Methods* (Vol. 11, Issue 1, pp. 47–60).
- Morris, R. G. M., Anderson, E., Lynch, G. S. & Baudry, M. (1986). Selective impairment of learning and blockade of long-term potentiation by an N-methyl-D-aspartate receptor antagonist, AP5. *Nature*, 319(6056), 774–776.
- Moser, M.-B., Trommald, M. & Andersen, P. (1994). An increase in dendritic spine density on hippocampal CA1 pyramidal cells following spatial learning in adult rats suggests the formation of new synapses. *Neurobiology*, 91, 12673–12675.
- Moser, M.-B. & Moser, E. I. (1998). Functional differentiation in the hippocampus. *Hippocampus*, 8, 608–619.
- Mothet, J. P., Rouaud, E., Sinet, P.-M., Potier, B., Jouvenceau, A., Dutar, P., Videau, C., Epelbaum, J. & Billard, J.-M. (2006). A critical role for the glial-derived neuromodulator D-serine in the age-related deficits of cellular mechanisms of learning and memory. *Aging Cell*, 5(3), 267–274.
- Muller, D., Toni, N. & Buchs, P. A. (2000). Spine changes associated with long-term potentiation. *Hippocampus*, 10(5), 596–604.
- Nadim, F. & Bucher, D. (2014). Neuromodulation of neurons and synapses. *Current Opinion in Neurobiology*, 29, 48–56.
- Navakkode, S. & Korte, M. (2012). Cooperation between cholinergic and glutamatergic receptors are essential to induce BDNF-dependent long-lasting memory storage. *Hippocampus*, 22(2), 335–346.
- Navakkode, S., Sajikumar, S. & Frey, J. U. (2007). Synergistic requirements for the induction of dopaminergic D1/D5-receptor-mediated LTP in hippocampal slices of rat CA1 in vitro. *Neuropharmacology*, 52(7), 1547–1554.
- Navakkode, S., Sajikumar, S., Korte, M. & Soong, T. W. (2012). Dopamine induces LTP differentially in apical and basal dendrites through BDNF and voltage-dependent calcium channels. *Learning and Memory*, 19(7), 294–299.
- Navakkode, S., Sajikumar, S., Sacktor, T. C. & Frey, J. U. (2010). Protein kinase M ζ is essential for the induction and maintenance of dopamine-induced long-term potentiation in apical CA1

- dendrites. *Learning and Memory*, 17(12), 605–611.
- Neves, G., Cooke, S. F. & Bliss, T. V. P. (2008a). Synaptic plasticity, memory and the hippocampus: a neural network approach to causality. *Nature Reviews Neuroscience*, 9(1), 65–75.
- Neves, G., Cooke, S. F. & Bliss, T. V. P. (2008b). Synaptic plasticity, memory and the hippocampus: a neural network approach to causality. *Nature Reviews Neuroscience*, 9(1), 65–75.
- Nguyen, P. V. & Connor, S. A. (2019). Noradrenergic regulation of hippocampus-dependent memory. *Central Nervous System Agents in Medicinal Chemistry*, 19(3), 187–196.
- Nicoll, R. A., Kauer, J. A. & Malenka, R. C. (1988). The current excitement in long-term potentiation. *Neuron*, 1, 97–103.
- Nicoll, R. A. (2017). A brief history of long-term potentiation. *Neuron*, 93(2), 281–290.
- Nishikawa, K.-I. & MacIver, M. B. (2000). Excitatory synaptic transmission mediated by NMDA receptors is more sensitive to isoflurane than are non-NMDA receptor-mediated responses. *Anesthesiology*, 92(1), 228–236.
- O'Keefe, J. & Dostrovsky, J. (1971). The hippocampus as a spatial map. Preliminary evidence from unit activity in the freely-moving rat. *Brain Research*, 34(1), 171–175.
- Opendak, M. & Gould, E. (2015). Adult neurogenesis: a substrate for experience-dependent change. *Trends in Cognitive Sciences*, 19(3), 151–161.
- Otmakhova, N. A. & Lisman, J. E. (1996). D1/D5 dopamine receptor activation increases the magnitude of early long-term potentiation at CA1 hippocampal synapses. *The Journal of Neuroscience*, 16(23), 7478–7486.
- Palacios-Filardo, J. & Mellor, J. R. (2019). Neuromodulation of hippocampal long-term synaptic plasticity. *Current Opinion in Neurobiology*, 54, 37–43.
- Pandis, C., Sotiriou, E., Kouvaras, E., Asproдини, E., Papatheodoropoulos, C. & Angelatou, F. (2006). Differential expression of NMDA and AMPA receptor subunits in rat dorsal and ventral hippocampus. *Neuroscience*, 140, 163–175.
- Pang, P. T., Teng, H. K., Zaitsev, E., Woo, N. T., Sakata, K., Zhen, S., Teng, K. K., Yung, W. H., Hempstead, B. L. & Lu, B. (2004). Cleavage of proBDNF by tPA/plasmin is essential for long-term hippocampal plasticity. *Science*, 306(5695), 487–491.
- Papaleonidopoulos, V., Kouvaras, S. & Papatheodoropoulos, C. (2018). Effects of endogenous and exogenous D1/D5 dopamine receptor activation on LTP in ventral and dorsal CA1 hippocampal synapses. *Synapse*, 72(8).
- Papaleonidopoulos, V. & Papatheodoropoulos, C. (2018). β -adrenergic receptors reduce the threshold for induction and stabilization of LTP and enhance its magnitude via multiple mechanisms in the ventral but not the dorsal hippocampus. *Neurobiology of Learning and Memory*, 151, 71–84.
- Papatheodoropoulos, C. (2015). Striking differences in synaptic facilitation along the dorsoventral axis of the hippocampus. *Neuroscience*, 301, 454–470.
- Papatheodoropoulos, C. & Kostopoulos, G. (2000). Decreased ability of rat temporal hippocampal CA1 region to produce long-term potentiation. *Neuroscience Letters*, 279(3), 177–180.
- Papatheodoropoulos, C. & Kouvaras, S. (2016). High-frequency stimulation-induced synaptic potentiation in dorsal and ventral CA1 hippocampal synapses: The involvement of NMDA receptors, mGluR5, and (L-Type) voltage-gated calcium channels. *Learning and Memory*, 23(9), 460–464.
- Park, H. & Poo, M.-M. (2013). Neurotrophin regulation of neural circuit development and function. *Nature Reviews Neuroscience*, 14(1), 7–23.

- Patra, R. C. & Swarup, D. (2004). Effect of antioxidant ascorbic acid, l-methionine or α tocopherol alone or along with chelator on cardiac tissue of lead-treated rats. *Veterinarsky Arhiv*, 74(3), 235–244.
- Patterson, S. L., Abel, T. & Deuel, T. A. S. (1996). Recombinant BDNF rescues deficits in basal synaptic transmission and hippocampal LTP in BDNF knockout mice. *Neuron*, 16(6), 1137–1145.
- Pozzo-Miller, L. D., Gottschalk, W., Zhang, L., Mcdermott, K., Du, J., Gopalakrishnan, R., Oho, C., Sheng, Z.-H. & Lu, B. (1999). Impairments in high-frequency transmission, synaptic vesicle docking, and synaptic protein distribution in the hippocampus of BDNF knockout mice. *Journal of Neuroscience*, 19(12), 4972–4983.
- Ramanathan, K., Balakumar, B. S. & Panneerselvam, C. (2002). Effects of ascorbic acid and α -tocopherol on arsenic-induced oxidative stress. *Human and Experimental Toxicology*, 21(12), 675–680.
- Rangel-Gomez, M. & Meeter, M. (2016). Neurotransmitters and novelty: a systematic review. *Journal of Psychopharmacology*, 30(1), 3–12.
- Rapoport, J. L. & Gogtay, N. (2008). Brain neuroplasticity in healthy, hyperactive and psychotic children: insights from neuroimaging. *Neuropsychopharmacology*, 33(1), 181–197.
- Renelt, M., von Bohlen und Halbach, V. & von Bohlen und Halbach, O. (2014). Distribution of PCP4 protein in the forebrain of adult mice. *Acta Histochemica*, 116(6), 1056–1061.
- Reymann, K. G. & Frey, J. U. (2007). The late maintenance of hippocampal LTP: Requirements, phases, “synaptic tagging”, “late-associativity” and implications. *Neuropharmacology*, 52(1), 24–40.
- Roeper, J. (2013). Dissecting the diversity of midbrain dopamine neurons. *Trends in Neurosciences*, 36(6), 336–342.
- Roggenhofer, E., Fidzinski, P., Bartsch, J., Kurz, F., Shor, O. & Behr, J. (2010). Activation of dopamine D1/D5 receptors facilitates the induction of presynaptic long-term potentiation at hippocampal output synapses. *European Journal of Neuroscience*, 32(4), 598–605.
- Rolls, E. T. (2000). Memory systems in the brain. *Annual Review of Psychology*, 51, 599–630.
- Rossato, J. I., Bevilacqua, L. R. M., Izquierdo, I., Medina, J. H. & Cammarota, M. (2009). Dopamine controls persistence of long-term memory storage. *Science*, 325(5943), 1017–1020.
- Sahay, A. & Hen, R. (2007). Adult hippocampal neurogenesis in depression. *Nature Neuroscience*, 10(9), 1110–1115.
- Santschi, L. A. & Stanton, P. K. (2003). A paired-pulse facilitation analysis of long-term synaptic depression at excitatory synapses in rat hippocampal CA1 and CA3 regions. *Brain Research*, 962, 78–91.
- Schildt, S., Endres, T., Lessmann, V. & Edelmann, E. (2013). Acute and chronic interference with BDNF/TrkB-signaling impair LTP selectively at mossy fiber synapses in the CA3 region of mouse hippocampus. *Neuropharmacology*, 71, 247–254.
- Schmeißer, M., Schumann, S. & Ulfing, N. (2020). Kurzlehrbuch Neuroanatomie. In *Kurzlehrbuch Neuroanatomie* (1st ed.). Thieme.
- Shankar, S., Teyler, T. J. & Robbins, N. (1998). Aging differentially alters forms of long-term potentiation in Rat hippocampal area CA1. *Journal of Neurophysiology*, 79(1), 334–341.
- Siebner, H. R. & Ziemann, U. (2007). *Das TMS-Buch* (Hartwig Roman Siebner & U. Ziemann (eds.); 1st ed.). Springer Medizin Verlag.

- Smith-Dijak, A. I., Sepers, M. D. & Raymond, L. A. (2019). Alterations in synaptic function and plasticity in Huntington disease. *Journal of Neurochemistry*, *150*(4), 346–365.
- Smith, C. C., & Greene, R. W. (2012). CNS dopamine transmission mediated by noradrenergic innervation. *Journal of Neuroscience*, *32*(18), 6072–6080.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.6486-11.2012>
- Speranza, L., Di Porzio, U., Viggiano, D., Donato, A. D. & Volpicelli, F. (2021). Dopamine: The neuromodulator of long-term synaptic plasticity, reward and movement control. *Cells*, *10*(4)(735).
- Spruston, N. (2008). Pyramidal neurons: dendritic structure and synaptic integration. *Nature Reviews Neuroscience*, *9*(3), 206–221.
- Squire, L. R. (1992). Memory and the hippocampus: A synthesis from findings with rats, monkeys, and humans. *Psychological Review*, *99*(2), 195–231.
- Squire, L. R., Stark, C. E. L. & Clark, R. E. (2004). The medial temporal lobe. *Annual Review of Neuroscience*, *27*, 279–306.
- Squire, L. R. & Zola, S. M. (1996). Structure and function of declarative and nondeclarative memory systems. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *93*(24), 13515–13522.
- Stanton, P. K. & Sarvey, J. M. (1984). Blockade of long-term potentiation in rat hippocampal CA1 region by inhibitors of protein synthesis. *The Journal of Neuroscience*, *4*(12), 3080–3088.
- Strange, B. A., Witter, M. P., Lein, E. S. & Moser, E. I. (2014). Functional organisation of the hippocampal longitudinal axis. *Nature Reviews Neuroscience*, *15*, 655–669.
- Swant, J. & Wagner, J. J. (2006). Dopamine transporter blockade increases LTP in the CA1 region of the rat hippocampus via activation of the D3 dopamine receptor. *Learning and Memory*, *13*(2), 161–167.
- Tahmasebi, L., Komaki, A., Karamian, R., Shahidi, S., Sarihi, A. & Komaki, H. (2016). Interaction between paired-pulse facilitation and long-term potentiation during the stimulation of the cannabinoid and vanilloid systems in the dentate gyrus. *Brain Research*, *1643*, 27–34.
- Takeuchi, T., Duszkievicz, A. J. & Morris, R. G. M. (2014). The synaptic plasticity and memory hypothesis: encoding, storage and persistence. *Philosophical Transactions of the Royal Society. Series B, Biological Sciences*, *369*(1633).
- Temido-Ferreira, M., Coelho, J. E., Pousinha, P. A. & Lopes, L. V. (2019). Novel players in the aging synapse: Impact on cognition. *Journal of Caffeine and Adenosine Research*, *9*(3), 104–127.
- Thomas, M. J., Moody, T. D. & Makhinson, M. (1996). Activity-dependent β -adrenergic modulation of low frequency stimulation induced LTP in the hippocampal CA1 region. *Neuron*, *17*(3), 475–482.
- Trepel, M. (2015). *Neuroanatomie* (Martin Trepel (ed.); 6th ed.). Urban & Fischer.
- Turpin, F. R., Potier, B., Dulong, J. R., Sinet, P. M., Alliot, J., Oliet, S. H. R., Dutar, P., Epelbaum, J., Mothet, J. P. & Billard, J. M. (2011). Reduced serine racemase expression contributes to age-related deficits in hippocampal cognitive function. *Neurobiology of Aging*, *32*(8), 1495–1504.
- Varela, J. A., Hirsch, S. J., Chapman, D., Leverich, L. S. & Greene, R. W. (2009). D1/D5 modulation of synaptic NMDA receptor currents. *Journal of Neuroscience*, *29*(10), 3109–3119.
- Vaziri, N. D. & Sica, D. A. (2004). Lead-induced hypertension: role of oxidative stress. *Current Hypertension Reports*, *6*(4), 314–320.
- Verney, C., Baulac, M., Berger, B., Alvarez, C., Vigny, A. & Helle, K. B. (1985). Morphological

- evidence for a dopaminergic terminal field in the hippocampal formation of young and adult rat. *Neuroscience*, 14(4), 1039–1052.
- Vishnoi, S., Naseem, M., Raisuddin, S. & Parvez, S. (2018). Behavioral tagging: plausible involvement of PKM ζ , Arc and role of neurotransmitter receptor systems. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 94, 210–218.
- Vogel, J. W., La Joie, R., Grothe, M. J., Diaz-Papkovich, A., Doyle, A., Vachon-Presseau, E., Lepage, C., Vos de Wael, R., Thomas, R. A., Iturria-Medina, Y., Bernhardt, B., Rabinovici, G. D. & Evans, A. C. (2020). A molecular gradient along the longitudinal axis of the human hippocampus informs large-scale behavioral systems. *Nature Communications*, 11(1).
- von Bohlen und Halbach, O. & Dermietzel, R. (2006). *Neurotransmitters and Neuromodulators Handbook of Receptors and Biological Effects*.
- von Bohlen und Halbach, O., Krause, S., Medina, D., Sciarretta, C., Minichiello, L. & Unsicker, K. (2006). Regional- and age-dependent reduction in trkB receptor expression in the hippocampus is associated with altered spine morphologies. *Biological Psychiatry*, 59, 793–800.
- von Bohlen und Halbach, O. & von Bohlen und Halbach, V. (2017). BDNF effects on dendritic spine morphology and hippocampal function. *Cell and Tissue Research*, 373(3), 729–741.
- Wei, X., Ma, T., Cheng, Y., Huang, C. C. Y., Wang, X., Lu, J. & Wang, J. (2018). Dopamine D1 or D2 receptor-expressing neurons in the central nervous system. *Addiction Biology*, 23(2), 569–584.
- Williams, S. N. & Undieh, A. S. (2009). Dopamine D1-like receptor activation induces brain-derived neurotrophic factor protein expression. *NeuroReport*, 20(6), 606–610.
- Witter, M. P. (2007). Intrinsic and extrinsic wiring of CA3: indications for connectional heterogeneity. *Learning and Memory*, 14(11), 705–713.
- Wu, M. V. & Hen, R. (2014). Functional dissociation of adult-born neurons along the dorsoventral axis of the dentate gyrus. *Hippocampus*, 24(7), 751–761.
- Xing, B., Kong, H., Meng, X., Wei, S. G., Xu, M. & Li, S. B. (2010). Dopamine D1 but not D3 receptor is critical for spatial learning and related signaling in the hippocampus. *Neuroscience*, 169(4), 1511–1519.
- Yang, Y. J., Wu, P. F., Long, L. H., Yu, D. F., Wu, W. N., Hu, Z. L., Fu, H., Xie, N., Jin, Y., Ni, L., Wang, J. Z., Wang, F. & Chen, J. G. (2010). Reversal of aging-associated hippocampal synaptic plasticity deficits by reductants via regulation of thiol redox and NMDA receptor function. *Aging Cell*, 9(5), 709–721.
- Yao, W.-D., Spealman, R. D. & Zhang, J. (2008). Dopaminergic signaling in dendritic spines. *Biochemical Pharmacology*, 75(11), 2055–2069.
- Zhang, J.-C., Lau, P.-M. & Bi, G.-Q. (2009). Gain in sensitivity and loss in temporal contrast of STDP by dopaminergic modulation at hippocampal synapses. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(31), 13028–13033.
- Zucker, R. S. (1989). Short-term synaptic plasticity. *Annual Review of Neuroscience*, 12, 13–31.
- Zucker, R. S. & Regehr, W. G. (2002). Short-term synaptic plasticity. *Annual Review of Physiology*, 64, 355–405.

IV. Danksagung

Die Danksagung wurde aus datenschutzrechtlichen Gründen entfernt.

V. Ehrenerklärung

Ich versichere hiermit, dass ich die vorliegende Arbeit mit dem Titel

„Elektrophysiologische Untersuchungen des neuromodulatorischen Einfluss von Dopamin und Noradrenalin auf die synaptische Plastizität von Schaffer-Collateral-CA1 Synapsen des murinen Hippocampus“

ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe; verwendete fremde und eigene Quellen sind als solche kenntlich gemacht.

Ich habe insbesondere nicht wissentlich:

- Ergebnisse erfunden oder widersprüchlich Ergebnisse verschwiegen,
- statistische Verfahren absichtlich missbraucht, um Daten in ungerechtfertigter Weise zu interpretieren,
- fremde Ergebnisse oder Veröffentlichungen plagiiert,
- fremde Forschungsergebnisse verzerrt wiedergegeben.

Mir ist bekannt, dass Verstöße gegen das Urheberrecht Unterlassungs- und Schadensersatzansprüche des Urhebers sowie eine strafrechtliche Ahndung durch die Strafverfolgungsbehörden begründen kann.

Ich erkläre mich damit einverstanden, dass die Arbeit ggf. mit Mitteln der elektronischen Datenverarbeitung auf Plagiate überprüft werden kann.

Die Arbeit wurde bisher weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form als Dissertation eingereicht und ist als Ganzes auch noch nicht veröffentlicht.

Magdeburg, 14.07.2023

VI. Lebenslauf

Der Lebenslauf wurde aus datenschutzrechtlichen Gründen entfernt.