

Visualisierung aktivitätsabhängiger Interaktionen des  
Hippocampus mit subcorticalen und corticalen  
Regionen mit fMRT

**Dissertation**

zur Erlangung des akademischen Grades

**doctor rerum naturalium**

**(Dr. rer. nat.)**

genehmigt durch die Fakultät der Naturwissenschaften  
der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg

von Dipl.-Biol. Cornelia Helbing  
geb. am 12. Oktober 1982 in Halle/Saale

Gutachter: Prof. Dr. Frank Angenstein  
Prof. Dr. Mathias Hoehn

eingereicht am: 26. Mai 2015

verteidigt am: 3. November 2015

## Danksagung

Zunächst möchte ich mich bei all denjenigen bedanken, die mich während der gesamten Promotionszeit unterstützt haben.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Frank Angenstein, der mit sehr viel Engagement, guten Ideen und unermüdlichem Einsatz meine Dissertation betreut hat. Darüber hinaus möchte ich ihm für seine rückhaltlose Unterstützung danken, für produktive und anregende fachliche Diskussionen, die einen großen Anteil an meiner wissenschaftlichen und auch persönlichen Entwicklung gehabt haben.

Des Weiteren danke ich den Mitarbeitern des Speziallabors für Nichtinvasive Bildgebung, nicht nur für ihre vielen technischen und fachlichen Hinweise, auch die moralische Unterstützung und kontinuierliche Motivation haben einen großen Teil zur Vollendung dieser Arbeit beigetragen. Ein Dank gilt dabei dem Leiter des Speziallabors, Dr. André Brechmann, als auch Dr. Jörg Stadler für die technische Nutzung und Unterstützung im Hinblick auf das bildgebende Verfahren der MRT. Ein großer Dank gilt Frau Dr. Nicole Angenstein für die organisatorischen, wissenschaftlichen und persönlichen Gespräche und die nette Arbeitsatmosphäre, die zum mannschaftlichen Verhältnis innerhalb der Arbeitsgruppe beigetragen hat.

Des Weiteren danke ich Dr. Michael Lippert und Marta Brocka der Abteilung Systemphysiologie des Leibniz-Instituts für Neurobiologie für die Einführung und Nutzung der spannenden Technik der Optogenetik.

Ein besonderer Dank gilt Grit Werner, die mich während der gesamten Promotionszeit bis heute durch ihre freundschaftliche und fachliche Hilfe unterstützt hat. Bei Karla Krautwald möchte ich mich zum einen für die Einführung in die *in vivo* Präparationstechniken und zum anderen für die vielen organisatorischen Hilfestellungen und Auswertunterstützungen bedanken. Den Kollegen des DZNE, Stephanie Riemann und Dr. Thomas Scherf, danke ich für die hilfreiche und beratende Unterstützung. Mein Dank gilt weiterhin Monika Dobrowolny, Andreas Fügner und Marko Dombach für die organisatorische und technische Hilfe.

Ebenfalls bedanken möchte ich mich bei den Mitarbeitern der Abteilung „Biomedical Engineering“ und „Neurologic Surgery“ der Mayo Clinic in Rochester / Minnesota, besonders Prof. Dr. Kendall Lee und Dr. Hoon-Ki Min, für die freundliche Aufnahme in deren Labor und die Hilfe bei der Einführung in das Spezialgebiet der zyklischen Voltammetrie.

Nicht zuletzt möchte ich meiner ganzen Familie danken, ohne deren uneingeschränkte Unterstützung und Rückhalt die Arbeit an der Dissertation nicht möglich gewesen wäre. Im Besonderen möchte ich meinen Eltern für ihren organisatorischen und liebevollen Beistand danken. Ein ganz besonderer Dank gilt meiner Nichte Lucy und meinem Neffen Charlie, für ihr Verständnis dass manche Spiel- und Malstunden kürzer ausfielen als sonst.

Für die finanzielle Förderung meiner Dissertation möchte ich mich bei der DFG und dem DZNE bedanken.

>> In life, it's not where you go -  
it's who you travel with. <<

- Charles M. Schulz -

# Inhaltsverzeichnis

<b>1 Zusammenfassung</b> .....	<b>1</b>
<b>2 Einleitung</b> .....	<b>3</b>
2.1 <i>Anatomische und physiologische Grundlagen</i> .....	6
2.1.1 Struktureller Aufbau des Hippocampus und der intra-hippocampalen Netzwerke .....	6
2.1.2 Der Hippocampus als Bestandteil globaler neuronaler Netzwerke .....	9
2.1.3 Regulationsmechanismen neuronaler Netzwerke, Neurotransmitter, Rezeptoren und Modulatoren.....	14
2.2 <i>Darstellung lokaler, globaler und modulatorischer neuronaler Aktivität</i> .....	21
2.2.1 Lokale Feldpotentiale .....	21
2.2.2 Funktionelle Bildgebung und neurovaskuläre Kopplung .....	22
2.2.3 Zyklische Voltammetrie und Dopamin-Freisetzung.....	28
2.3 <i>Simultane Messung elektrophysiologischer und fMRT Signale zur Darstellung veränderter lokaler und globaler neuronaler Netzwerkaktivität</i> .....	29
<b>3 Material und Methoden</b> .....	<b>32</b>
3.1 <i>Herkunft, Zucht und Haltung</i> .....	32
3.2 <i>Präparation und Elektrodenimplantation</i> .....	32
3.3 <i>Kombinierte fMRT und elektrophysiologische Aufzeichnung</i> .....	35
3.3.1 fMRT - Messung und Stimulationsprotokolle.....	35
3.3.2 Stimulationsprotokolle .....	40
3.3.3 Pharmakologie .....	44
3.3.4 Datenanalyse und Auswertung fMRT-Elektrophysiologie .....	44
3.4 <i>Zyklische Voltammetrie – Fast Scan Cyclic Voltammetry (FSCV)</i> .....	47
3.5 <i>Statistische Auswertung</i> .....	50
<b>4 Ergebnisse</b> .....	<b>51</b>
4.1 <i>Einfluss von Stimulationsdauer, Stimulationsintensität und Pulsanzahl auf die induzierte BOLD-Antwort in der hippocampalen Formation und deren Zielgebiete</i> .....	51
4.1.1 Stimulation des Tractus perforans mit 20 Pulsen je Sekunde.....	52
4.1.2 Stimulation des Tractus perforans mit 20 Pulsen je Sekunde mit doppelter Stimulationsintensität.....	64
4.1.3 Stimulation des Tractus perforans mit 50 Pulsen je Sekunde.....	68
4.1.4 Stimulation des Tractus perforans mit 100 Pulsen je Sekunde.....	73
4.2 <i>Elektrochemischer Nachweis einer Stimulus - induzierten Dopaminfreisetzung im Nucleus accumbens</i> .....	89

---

4.3	<i>Pharmakologische Untersuchungen</i> .....	91
4.3.1	Der Effekt des D <sub>1/5</sub> -Dopamin-Rezeptor-Antagonisten SCH23390 auf die BOLD-Antworten während kurzer kontinuierlicher 100 Hz Stimulationen .....	91
4.3.2	Der Effekt des NMDA-Rezeptor-Antagonisten MK801 auf die BOLD-Antworten während kurzer kontinuierlicher 100 Hz Stimulationen.....	97
4.3.3	Der Effekt des Dopamin D <sub>1/5</sub> -Rezeptor-Antagonisten SCH23390 und des D <sub>1/5</sub> -Rezeptor-Agonist SKF83959 auf die BOLD-Antworten während diskontinuierlicher 100 Hz Stimulation mit 20 Pulsen je s .....	104
4.3.4	Der Effekt des NMDA-Rezeptor-Antagonisten MK801 auf die BOLD-Antworten während diskontinuierlicher 100 Hz Stimulation mit 20 Pulsen je Sekunde .....	107
<b>5</b>	<b>Diskussion</b> .....	<b>113</b>
5.1	<i>Der Einfluss der Stimulationseigenschaften auf die Signalverarbeitung im Hippocampus</i> .....	113
5.1.1	Verlängerung der Stimulationsdauer .....	114
5.1.2	Erhöhung der Stimulationsintensität.....	120
5.1.3	Erhöhung der Pulsanzahl bei gleichbleibender Dauer .....	121
5.2	<i>Einfluss der Stimulationseigenschaften auf die Aktivierung hippocampaler Zielregionen</i> .....	123
5.2.1	NMDA-Rezeptor-abhängige und NMDA-Rezeptor-unabhängige Signalverarbeitung im HC zur Aktivierung subcorticaler und corticaler Strukturen .....	124
5.2.2	Die polysynaptische Aktivierung des mesolimbischen dopaminergen Systems durch hippocampale Efferenzen .....	129
5.2.3	Die dopaminerge Modulation der BOLD-Antwort.....	132
<b>6</b>	<b>Ausblick</b> .....	<b>141</b>
<b>7</b>	<b>Abkürzungsverzeichnis</b> .....	<b>143</b>
<b>8</b>	<b>Literaturverzeichnis</b> .....	<b>146</b>
<b>9</b>	<b>Anhang</b> .....	<b>195</b>
9.1	<i>Stimulation des Tractus perforans mit 20 Pulsen je Sekunde</i> .....	195
9.2	<i>Stimulation des Tractus perforans mit 20 Pulsen je Sekunde bei doppelter Stimulationsintensität</i> .....	197
9.3	<i>Stimulation des Tractus perforans mit 50 Pulsen je Sekunde</i> .....	198
9.4	<i>Stimulation des Tractus perforans mit 100 Pulsen je Sekunde</i> .....	199
9.5	<i>Pharmakologische Untersuchungen</i> .....	200
9.5.1	Stimulation mit 20 Pulsen je Sekunde .....	200
9.5.2	Stimulation mit 100 Pulsen je Sekunde .....	204

## 1 Zusammenfassung

Eine charakteristische Eigenschaft des Hippocampus ist die Fähigkeit, eingehende Informationen kontext-spezifisch zu verarbeiten und diese an dessen Zielregionen weiter zu vermitteln. Durch die funktionelle Einbindung dieser Zielregionen entsteht ein engmaschiges globales neuronales Netzwerk, welches in der Lage ist, aktivitäts-abhängig miteinander zu interagieren. Diese Interaktion wurde in der vorliegenden Arbeit mit Hilfe der funktionellen Magnetresonanztomographie (fMRT) untersucht. Die Kombination aus hochfrequenter elektrischer Stimulation der afferenten Faserbahn des *Tractus perforans*, der elektrophysiologischer Ableitung im *Gyrus dentatus* und gleichzeitiger funktioneller Magnetresonanztomographie konnte so den Nachweis erbringen, dass verschiedene hochfrequente Stimulationsmuster unterschiedliche neuronale Aktivierungsmuster induzieren, die in Abhängigkeit von der Verarbeitung innerhalb des Hippocampus verschiedene globale Netzwerke aktivieren können. So wurde zunächst untersucht, wie sich zeitliche Variationen der hochfrequenten *Tractus perforans* Stimulationen sowohl auf hippocampale als auch corticale und subcorticale fMRT-Aktivierungsmuster auswirken. Als experimentelle Protokolle für die elektrische Stimulation des *Tractus perforans* während des fMRT-Experiments wurden ausschließlich hochfrequente Stimulationsmuster präsentiert, die sich entweder in der Stimulationslänge, der Stimulationsintensität oder in der präsentierten Pulsanzahl unterschieden. Dabei zeigte sich, dass die Aktivierung subcorticaler und corticaler Regionen nicht von der Stimulationsdauer eines Stimulationsmusters abhängig ist, sondern vielmehr von der durch die Anzahl der Pulse oder der erhöhten Stimulationsintensität ausgelösten neuronalen Aktivität der Hippocampus-Formation.

Die angewandten diskontinuierlichen und kontinuierlichen hochfrequenten Stimulationen des *Tractus perforans* generierten dabei zwei unterschiedliche BOLD-Aktivierungsmuster. Unter Einsatz des NMDA-Rezeptor-Antagonisten MK801 konnte demonstriert werden, dass die BOLD-Aktivierung im Nucleus accumbens, im medialen präfrontalen Cortex, der ventralen Tegmentums/Substantia nigra pars compacta-Region und der basolateralen Amygdala durch die kontinuierliche Stimulationen des *Tractus perforans* auf einer NMDA-Rezeptor-abhängigen

Verarbeitung innerhalb des Hippocampus basiert. Die Aktivierung des Nucleus accumbens und des medialen präfrontalen Cortex wurde auch durch die diskontinuierliche Stimulationen mit hoher Stimulationsintensität induziert, war hingegen unabhängig von der Verarbeitung hippocampaler NMDA-Rezeptoren.

Mit Hilfe der zyklischen Voltammetrie (*fast scan cyclic voltammetry* – FSCV) konnte gezeigt werden, dass die NMDA-Rezeptor-abhängige polysynaptische Aktivierung der VTA/Sn-Region eine Freisetzung von Dopamin im Nucleus accumbens induzierte. Eine vergleichbare Freisetzung des Katecholamins Dopamin wurde im Nucleus accumbens auch durch die optogenetische und elektrische Stimulation der VTA nachgewiesen. Im Gegensatz zur elektrischen Stimulation des TP oder der VTA war die optische Stimulation des dopaminergen Kerngebiets jedoch nicht in der Lage eine BOLD-Antwort in den dopaminergen Zielgebieten auszulösen. Damit konnte gezeigt werden, dass Dopamin allein nicht in der Lage sein kann eine BOLD-Antwort zu generieren. Die Blockade der  $D_{1/5}$ -Rezeptoren in einer weiteren fMRT Untersuchung verdeutlichte, dass die Interaktion zwischen glutamatergen Afferenzen des Hippocampus und des dopaminergen Systems zu nachweisbaren hämodynamischen Veränderungen der eingebundenen Regionen führen kann, welche pharmakologisch im fMRT nachgewiesen wurden. Sowohl der mPFC als auch die BLA zeigten dabei unter dem Einfluss des  $D_{1/5}$ -Antagonisten SCH23390 eine stark reduzierte BOLD-Antwort auf kontinuierliche Stimulationsphasen, aber eine normale Aktivierung innerhalb der Hippocampus Formation, was darauf hindeutet, dass die Signalverarbeitung im Hippocampus selbst intakt, die resultierende BOLD-Antwort in der Zielregion selber aber gestört ist.

Damit konnte der experimentelle Ansatz der Stimulation eines afferenten Faserbündels nachweisen, dass die Aktivität eines Hirnareals direkt genutzt werden kann, um das veränderte lokale neuronale Aktivierungsmuster als auch das resultierend veränderte globale neuronale Aktivierungsmuster durch Kombination von Elektrostimulation und fMRT zu charakterisieren. Dies ermöglicht es, die funktionelle Einbindung einer bestimmten Hirnstruktur für komplexe Vorgänge besser zu verstehen.



## 2 Einleitung

Als ein zentraler Bestandteil des limbischen Systems erhält der Hippocampus (HC) zumeist hochgradig vorverarbeitete Informationen aus allen Sinnesmodalitäten und kann durch seine Verbindungen zu subcorticalen Strukturen endokrine und emotionale Verarbeitung, wie Angst (Engin & Treit 2008; Bertoglio et al. 2006; Pentkowski et al. 2006) oder zielgerichtetes Verhalten (Pennartz et al. 2011; Gruber et al. 2009) entscheidend beeinflussen. Darüber hinaus bezieht der Hippocampus diese endokrine Anbindung zur Informationsverarbeitung mit ein (Humphries & Prescott 2010), um durch seine Verbindungen zu kognitiven Arealen verschiedene Arten des Lernens (Lisman & Grace 2005; Lisman & Otmakhova 2001; Lavenex & Amaral 2000; Guilherme Neves et al. 2008; Reymann & Frey 2007; Manahan-Vaughan & Braunewell 1999; Kemp & Manahan-Vaughan 2007; Kemp & Manahan-Vaughan 2004), räumliche Orientierung und Navigation (O'Keefe & Dostrovsky 1971; Morris et al. 1982; Hermer 1996) oder der Gedächtniskonsolidierung (Howard Eichenbaum 2000; Eichenbaum 2004; Squire 1992; Squire et al. 2004) zu koordinieren. Er fungiert damit nicht nur als „Prozessor“, sondern synchronisiert kontext-abhängig die Propagierung eingehender Information vergleichend mit bereits gespeicherten Fakten. Das setzt eine dynamische Anbindung an ein eng verschaltetes Netzwerk voraus. So wie andere Hirnregionen, ist auch die Hippocampus-Formation charakteristisch eingebunden in lokal und global verschaltete neuronale Netzwerke. Diese neuronalen Netzwerke sind dabei von entscheidender Bedeutung für die Prozessierung und Weiterverarbeitung von eingehenden Informationen (Lisman & Otmakhova 2001; Lisman & Grace 2005). Außer dem im Temporallappen gelegenen Hippocampus gehören zu den limbischen Strukturen u.a. auch das im Gyrus cinguli gelegene anteriore Cingulum (ACi), der in den subcorticalen Basalganglien gelegene Nucleus accumbens (NAcc), die basolaterale Amygdala (BLA) und der Substantia nigra (Sn) pars compacta/ventrales Tegmentum – Komplex (VTA/Sn). Während die Basalganglien und die basolaterale Amygdala eng mit der Steuerung von unbewussten, prozeduralen und konditionierten Abläufen assoziiert sind (Gale 2004; H Eichenbaum 2000; Jas et al. 2000; Schultz et al. 2009; Richter-Levin & Akirav 2001; Kim & Diamond 2002), hat der Hippocampus selbst eine zentrale Bedeutung für die explizite, also die bewusst steuerbare Informationsverarbeitung (Squire 1992; Squire et al. 2004). Erste

Erkenntnisse über die Funktion des Hippocampus wurden zunächst durch Untersuchungen des oft zitierten Epilepsie-Patienten „H.M.“ gewonnen. Dieser war nach einer bilateralen Entfernung des Hippocampus und der angrenzenden medialen Temporallappen-Strukturen nicht mehr in der Lage, neue bewusste Gedächtnisinhalte zu bilden, obwohl alte Erinnerungen erhalten blieben (Scoville & Milner 1957). Weitere Studien zeigten, dass auch Läsionen, die ausschließlich auf Regionen des Hippocampus begrenzt waren, bei den betroffenen Patienten entsprechende Defizite bei der Bildung von expliziten Gedächtnisinhalten verursachten (Zola-Morgan et al. 1986; Vargha-Khadem et al. 1997). Verschiedene Verhaltensexperimente an Nagetieren mit hippocampalen Läsionen zeigten zudem, dass der Hippocampus eine bedeutende Funktion bei episodischen Lern- und Gedächtnisprozessen einnimmt (Aggleton et al. 1986; Duva et al. 1997; Morris et al. 1982; O'Keefe 1979). Die „*multiple trace theory*“ von Moscovitch und Kollegen besagt dagegen, dass hippocampale Strukturen bei der Verarbeitung eingehender Information ein hippocampales-neocorticales Netzwerk bilden, so dass für das Wiederauffinden zumindest einiger Erinnerungen eine anhaltende Kommunikation zwischen dem Hippocampus und dem Cortex notwendig ist (Nadel & Moscovitch 1997; Moscovitch & Nadel 1998; Nadel & Moscovitch 1998).

Bereits Donald O. Hebb ging 1949 davon aus, dass sich Informationsübertragung in Abhängigkeit von der neuronalen Aktivität durch Anpassung der Synapse ändert (Hebb 1949). Den frühen Erkenntnissen von Läsions-Studien folgend, dass der Hippocampus essenziell für die Verarbeitung neuer Informationen ist, folgten elektrophysiologische Ableitungen, um die Funktion der Pyramidenzellen im Hippocampus zu spezifizieren (Kandel & Spencer 1961; Spencer 1961; Anderson et al. 1963). Bliss und Lømo bewiesen später durch ihre Stimulations-Experimente an einer der zentralen afferenten Faserbahnen zum Hippocampus des Kaninchens, dem *Tractus perforans*, dass kurze tetanische Stimulation zu lang anhaltenden Veränderungen der synaptischen Effizienz im *Gyrus dentatus* führt (Bliss & Lomo 1973; Bliss & Collingridge 1993; Douglas & Goddard 1975). Seit der ersten Demonstration im *Gyrus dentatus* des Hippocampus (Bliss & Gardner-Medwin 1973; Bliss & Lomo 1973; McNaughton et al. 1978) wurden darauffolgend ähnliche Phänomene in den hippocampalen Substrukturen der CA3 und CA1 Region (Alger & Teyler 1976) und in weiteren Hirnregionen des zentralen Nervensystems der

Säugetiere beobachtet, einschließlich der Amygdala (Clugnet & LeDoux 1990; Rogan et al. 1997; Sigurdsson et al. 2007), dem Cortex (Artola & Singer 1987; Bear & Kirkwood 1993; Fox 2002), dem Striatum (Calabresi et al. 1992; Charpier & Deniau 1997; Lovinger 2010), dem ventralen Tegmentum (Nugent et al. 2007; Nugent & Kauer 2008) und im Nucleus accumbens (Pennartz et al. 1994; Kombian & Malenka 1994; Schotanus & Chergui 2008). Die langanhaltende Modifikation der synaptischen Übertragungseffizienz, also eine dauerhafte Verstärkung (*long-term potentiation - LTP*) oder Verminderung (*long-term depression - LTD*), wird als synaptische Plastizität bezeichnet. Dasselbe Netzwerk kann demnach einen Stimulus in einem „Standard“-Modus oder, nach entsprechender vorheriger Aktivierung, in einem kontext-spezifischen Modus verarbeiten. Die Eigenschaft des neuronalen Netzwerks kann zum Beispiel durch eine Änderung der Erregbarkeit der beteiligten Neurone (Schulz 2006; Daoudal & Debanne 2003) oder durch Variationen der Wirksamkeit der synaptischen Übertragung verändert werden (Martin et al. 2000; Kemp & Manahan-Vaughan 2004; G. Neves et al. 2008).

Die Stabilität dieser modifizierten neuronalen Netzwerkeigenschaften, also der aktivitätsabhängigen Veränderungen der Verschaltungen und Funktionsabläufe, kann durch weitere Mechanismen beeinflusst werden. So können Neuromodulatoren wie Noradrenalin, Serotonin, Dopamin (DA) und Acetylcholin die Induktion der LTP oder die Dauer der synaptischen Übertragung beeinflussen. Der Hippocampus wird von noradrenergen (Izumi & Zorumski 1999; Abercrombie et al. 1988), cholinergen (Lewis et al. 1967; Amaral & Kurz 1985; Frotscher & Léránth 1985; Gaykema et al. 1990), dopaminergen (Gasbarri, Packard, et al. 1994; Goldsmith & Joyce 1994) und serotonergen (Storm-Mathisen & Guldberg 1974; Sprouse & Aghajanian 1988; Kemp & Manahan-Vaughan 2005) Nervenenden aus dem Locus coeruleus, der Substantia nigra - ventralen Tegmentum, den dorsal-medialen Raphe-Kernen und den mammillaren Kern des Hypothalamus innerviert. Die endogene Freisetzung von Neurotransmittern oder Modulatoren, die die Rezeptoren dieser Neurotransmitter-Systeme beeinflussen, haben das Potential die Induktion der synaptischen Wirksamkeit zu regulieren.

Doch trotz der Bedeutung dieses Phänomens für die Physiologie des Gehirns ist noch wenig darüber bekannt, **wie eine lokale Reorganisation der neuronalen Netzwerkaktivitäten im Hippocampus globale neuronale Netzwerke verändern**

**oder beeinflussen kann.** Ein verbessertes Verständnis der Kontrolle der funktionellen Schaltkreise des Hippocampus ist zudem eine wesentliche Voraussetzung, erweiterte Erkenntnisse auch über die Funktion und Entstehung krankhafter Veränderungen des Hippocampus zu erlangen.

## 2.1 Anatomische und physiologische Grundlagen

### 2.1.1 Struktureller Aufbau des Hippocampus und der intra-hippocampalen Netzwerke

Der Hippocampus umfasst die basomedial gelegenen Strukturen des Temporallappens und bildet den Hauptteil des Archicortex in der Großhirnrinde des Nager-Gehirns (Abbildung 2.1). Die anatomische Struktur des Hippocampus umfasst mehrere Teilgebiete, welche sich in ihrer Architektur und Funktion unterscheiden und die durch ein engmaschiges Netz von Nervenbahnen miteinander verbunden sind. So differenziert man zwischen *Gyrus dentatus* (engl. *dentate gyrus* - DG), Hippocampus proper (*Cornu Ammonis*, Ammonshorn - CA), dem Subiculum sowie dem entorhinalen Cortex (EC). Der Hippocampus proper untergliedert sich aufgrund seiner neuronalen Verschaltungen in CA1, CA2, CA3. Die sechs Schichten des entorhinalen Cortex bestehen aus vier zellulären (II, III, V und VI) und zwei weiteren Schichten ohne spezifische Zellstruktur (I und IV). So werden Ergebnisse assoziativer Prozesse des Neocortex über die Neurone der Schichten II und III des entorhinalen Cortex in den Hippocampus weitergeleitet (Steward & Scoville 1976; Witter & Groenewegen 1984; Burwell et al. 1995). Es wird angenommen, dass Schädigungen dieser Zellpopulation ursächlich für die Gedächtnisdefizite, als eine klinische Vorstufe der Alzheimer'schen Erkrankung, verantwortlich sind (Hyman et al. 1984; Braak & Braak 1995; Van Hoesen et al. 2000). Der *Tractus perforans* (TP) ist das zentrale Faserbündel, welches den entorhinalen Cortex funktionell mit dem Gyrus dentatus, CA1-CA3 und Subiculum verbindet (Lømo 1971; Lund 1972; Hjorth-Simonsen 1972; Hjorth-Simonsen & Jeune 1972). Corticale glutamaterge Efferenzen aus dem entorhinalen Cortex der Schicht II projizieren durch das Subiculum in die äußere Molekularschicht des Gyrus dentatus und CA3, wo sie an den Körnerzellen terminieren. Die Dendriten der Körnerzellen in der inneren Molekularschicht werden von glutamatergen Kommissuren- und Assoziationsfasern des Hilus aus dem

contra- bzw. ipsilateralen Hippocampus innerviert (Swanson & Cowan 1977), während die Zellfaserschicht III des EC in der CA1 und dem Subiculum terminiert (Steward 1976; Steward & Scoville 1976; Menno P Witter et al. 1990; Witter et al. 1989). Die unterschiedlichen hippocampalen Subareale, wie der DG, die CA3-Region, die CA1-Region und das Subiculum üben verschiedene Funktionen in der Informationsverarbeitung innerhalb des Hippocampus aus. Der DG übernimmt die Rolle der Separierung und Trennung eingehender Muster (Bartasaghi et al. 1995; Leutgeb et al. 2007; Jung et al. 1994). Zytoarchitektonisch ist der DG in drei histologische Schichten unterteilt: das relativ zellarme *Stratum moleculare*, das *Stratum granulosum*, welches von dicht gepackten Körnerzellen gebildet wird, und die polymorphe Schicht im *Hilus*, die einen hohen Anteil an Mooszellen und verschiedene Interneuron-Typen aufweist. In der Molekularschicht des DG befinden sich die Dendriten der Körnerzellen der *Stratum granulare*. Im inneren *Stratum moleculare* erreichen die Kommissuralfasern des contralateralen HC die ipsilateralen Dendriten der *Stratum granulare*. In der äußeren *Stratum moleculare* enden wiederum die Fasern des entorhinalen Cortex (Swanson & Cowan 1977; L. Seress & Ribak 1983).

Die als „trisynaptische Bahn“ bezeichnete Verknüpfung zwischen den anatomischen Strukturen setzt sich vom DG weiter fort. Die marklosen Axone der Körnerzellen (Moosfasern) projizieren vom DG durch die polymorphe Schicht des Hilus (Abbildung 2.1) zu Pyramidenzellen und Interneurone der CA3-Region des Hippocampus. Die Axone der CA3 Pyramidenzellen bilden mit zahlreichen anderen Pyramidenzellen der CA3 Region ein rekurrentes Netzwerk. Ein Hauptmerkmal dieses Netzwerks ist es rekurrente exzitatorische Kreisläufe zu induzieren, indem die CA3 Pyramidenzellen erregende synaptische Verbindungen untereinander bilden (Lee et al. 2004; Goodrich-Hunsaker et al. 2008). Die CA3 Pyramidenzellen besitzen weiterhin axonale Verzweigungen, die zum DG zurück projizieren (Ishizuka et al. 1990). Somit besitzt der Hippocampus zwei rekurrente Netzwerke, welche wechselseitig miteinander verbunden sind. Weitere Afferenzen bestehen zudem zwischen den CA3 Regionen beider Hemisphären, die im äußeren *Stratum radiatum* enden. Von den CA3 Pyramidenzellen entspringen wiederum glutamaterge Schaffer-Kollateralfasern, die die CA1 Pyramidenzellen innervieren. Im Gegensatz zur CA3 sind die Pyramidenzellen der CA1 Region nicht extensiv miteinander verbunden (Amaral 1993; Amaral & Witter 1989). Vielmehr wird angenommen, dass die CA1 Region

Informationen aus hippocampalen und corticalen Teilbereichen integriert (Lisman & Otmakhova 2001). Die Axone der CA1 Pyramidenzellen verlassen zum Teil den Hippocampus, andererseits ziehen kollaterale Fasern zu den Pyramidenzellen im Subiculum, deren Axone zusammen mit denen der CA1- und CA3-Pyramidenzellen ein Faserbündel bilden und den Hippocampus über die Fimbria-Fornix-Fasern verlassen und zurück zum entorhinalen Cortex ziehen. Im Hinblick auf seine bidirektionalen Verbindungen mit dem Hippocampus und den weit verzweigten Verbindungen mit dem Rest des Gehirns, scheint der entorhinale Cortex eine Schlüsselposition im limbischen System zu besetzen, weil er eingehende und ausgehende Informationen zwischen Hippocampus und anderen Hirnregionen reguliert (Chrobak et al. 2000). Eingehende Signale werden im entorhinalen Cortex integriert, durch die EC-Hippocampus-EC-Schleife verarbeitet und zurück zu den anderen Hirnregionen gesendet. Diese Verarbeitung der Signale entlang der entorhinalen-hippocampalen-entorhinalen Schleife kann daher für einige Hirnfunktionen oder Pathologien von Bedeutung sein, in die der Hippocampus involviert ist (Kim & Diamond 2002; Van Hoesen et al. 2000; Hyman et al. 1984; Braak & Braak 1995).

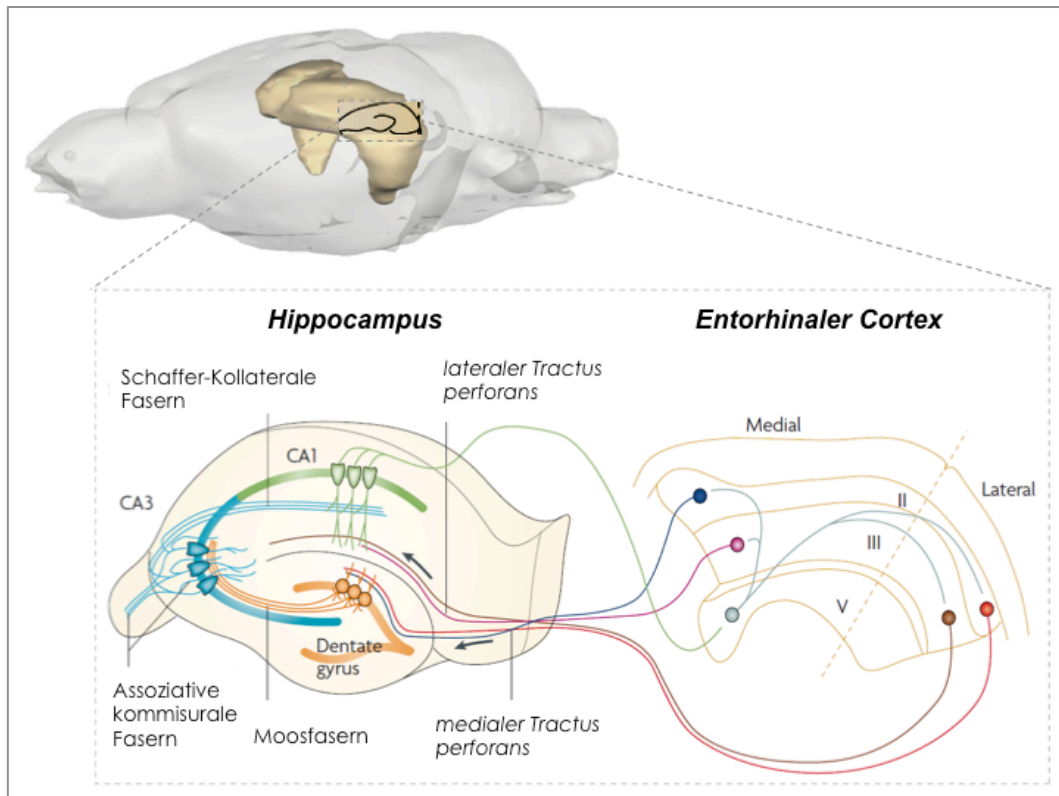


Abbildung 2.1 | Lage und Struktur des Hippocampus im 3D-Gehirn der Ratte modifiziert nach Neves et al. (2008).

Die Erregungsausbreitung innerhalb des Hippocampus durch die trisynaptische Verschaltung, in der (1) Afferenzen aus dem entorhinalen Cortex die Körnerzellen des Gyrus dentatus aktivieren; (2) die Körnerzellen über die unmyelierten Moosfasern die CA3 Pyramidenzellen innervieren; (3) CA3 Pyramidenzellen über Schaffer-Kollaterale Fasern, die CA1 Pyramidenzellen erregen.

### 2.1.2 Der Hippocampus als Bestandteil globaler neuronaler Netzwerke

Entsprechend ihres Aufbaus und ihrer Funktionalität ist die trisynaptische Bahn unidirektional und die exzitatorische Hauptkomponente der hippocampalen Formation (Henze et al. 2000). Die intra-hippocampalen Verbindungen, die von der CA1-Region des Hippocampus ausgehen sind hingegen bidirektional (Abbildung 2.1). Der entorhinale Cortex projiziert einerseits zu den Neuronen der CA1-Region, erhält aber auch Informationen aus diesem Gebiet. Die Fasern der CA1-Region leiten die Erregung weiter zum Subiculum (Cappaert et al. 2007), welches gleichzeitig bidirektionale Verbindung zum entorhinalen Cortex aufweist (Burwell et al. 1995).

Die CA1 projiziert zwar auch über einzelne efferente Faserbahnen zu corticalen Hirnregionen (Jay & Witter 1991), aber das dreischichtige Subiculum ist vielmehr die entscheidende Schnittstelle zwischen der hippocampalen Formation und subcorticalen Regionen, weil eine Vielzahl efferenter Faserbahnen an dieser Stelle ihren Ursprung haben (M. P. Witter et al. 1990; Floresco, Todd, et al. 2001; Groenewegen et al. 1987; Lisman & Grace 2005; Hampson et al. 2000; Deadwyler & Hampson 2004). Elektrische und chemische Stimulationen am Tiermodell der Ratte zeigten, dass neue Informationen nicht ohne intaktes Subiculum weiter verarbeitet werden können (Legault et al. 2000; Legault & Wise 2001a). Efferente Faserbahnen gehen vom proximalen, mittleren und distalen Teil des Subiculus hervor und projizieren zum NAcc, zum mPFC/ACi und zur BLA (Swanson & Cowan 1977; Menno P Witter et al. 1990). Das distale Drittel projiziert unter anderem zum sogenannten Mandelkern, der basolateralen Amygdala. Über die BLA aktiviert und moduliert der HC das Hormonsystem und innerviert nachgeschaltete corticale Speichersysteme (Pennartz et al. 2011; Floresco, Blaha, et al. 2001; Schultz et al. 2009). Durch die Zwischenschaltung der BLA erhalten die zu speichernden Informationen eine Wertigkeit hinsichtlich ihrer emotionalen Bedeutung (Schultz et al. 2009; Wolf 2009). So konnten mehrere Studien demonstrieren, dass axonale Projektionen vom Hippocampus zur basolateralen Amygdala eine Rolle bei Furchtkonditionierung in Bezug auf kontextbezogene Reize spielen (Maren & Fanselow 1995; Kim & Diamond 2002; Cooper 2002).

Die Faserbahnen des proximalen Subiculus projizieren zu Teilen des ventralen Striatums, insbesondere zu Teilen des anliegenden Nucleus accumbens (DeFrance & Yoshihara 1975; Gruber et al. 2009; Floresco, Todd, et al. 2001; Brog et al. 1993). Die Struktur des Nucleus accumbens wird durch exzitatorische, inhibitorische und modulierende Afferenzen innerviert, die ein neuronales Netzwerk bilden, das zur Steuerung von motivierten Verhaltensabläufen, Bewegungskoordination und Gedächtniskonsolidierung dient (Setlow 1997; Yang & Mogenson 1984; Sesack & Grace 2010; Wise 2004; Carelli & Wightman 2004; Stefani & Moghaddam 2006). Der NAcc ist in eine Schalen- und Kernregion unterteilt und erhält neben den glutamatergen Eingängen des Hippocampus weitere Afferenzen von limbischen Regionen, wie zum Beispiel der basolateralen Amygdala (Wright & Groenewegen 1996; Floresco, Blaha, et al. 2001; French & Totterdell 2003; French & Totterdell 2002) und dem präfrontalen *Cortex* (Wright & Groenewegen 1996; Berendse et al.



1992; French & Totterdell 2002). Wie andere striatale Regionen erhält der NAcc weitere exzitatorische Afferenzen vom zerebralen Cortex und dem Thalamus (Brog et al. 1993; Donnell & Grace 1995; Gruber et al. 2009). Gemeinsam mit den Projektionen zum ventralen Pallidum (VP) bilden der NAcc und die angebundenen Strukturen ein neuronales Netzwerk, welches Verhaltensreaktionen auf konditionierte Prozesse und Belohnung optimiert (Pennartz et al. 1994; Nicola et al. 2000; Zahm 2000; Zahm 2006; Wise 2004).

Des Weiteren verlaufen Faserbahnen vom proximalen Subiculum zur mittleren Transverse des präfrontalen Cortex (David B Carr & Sesack 1996). Der PFC der Ratte lässt sich strukturell in die Subareale des ventrolateralen präfrontalen Cortex, des medialen präfrontalen Cortex (mPFC) und der anterioren präfrontalen Cortex (Groenewegen et al. 1997; Öngür & Price 2000) einteilen. Die anatomischen Eingänge des PFC kommen aus den Assoziationsarealen sämtlicher sensorischer Systeme, wobei die so übertragenen Informationen bereits relativ komplex verarbeitet werden. Weitere wichtige Afferenzen erreichen den PFC aus der Amygdala und dem HC. Somit gelangen in den PFC entweder emotionsrelevante und/oder gedächtnisrelevante Informationen. Der PFC erhält neben den Basalganglien die stärksten dopaminergen Projektionen aus dem Mittelhirn, welche er durch eigene efferente Faserbahnen ansteuert. Dadurch ist es möglich, dass der PFC seine eigene dopaminerge Innervation kontrollieren kann (Groenewegen et al. 1997; French & Totterdell 2002). So kann der mediale PFC für ein sich an wechselnde Umweltbedingungen angepasstes Verhalten fungieren (Ragozzino, Detrick, et al. 1999; Ragozzino, Wilcox, et al. 1999; Birrell & Brown 2000; Stefani & Moghaddam 2006). Aber auch bei Arbeits- und Gedächtnisprozessen scheint die Beteiligung des PFC zwingend notwendig zu sein (Murphy et al. 1996; Zahrt et al. 1997; Kesner 2000; Floresco & Phillips 2001).

Neben den limbischen Afferenzen werden der NAcc als auch der mediale PFC zudem durch die gebündelten dopaminergen Fasern des *Fasciculus medialis telencephali* (engl. *medial forebrain bundle* - MFB) innerviert, die ihren Ursprung in Teilen der *Substantia nigra pars compacta* (Sn) und dem ventralen *Tegmentum* im Mittelhirn (*Area tegmentalis ventralis* - VTA) (Swanson 1982; Ferreira et al. 2008; Beckstead et al. 1979; Fallon & Moore 1978; Nauta et al. 1978) haben. Dabei überlappen dopaminerge und subiculare Afferenzen (Kelley & Domesick 1982), deren Faserbahnen innerhalb des medialen NAcc in einem Zellhaufen terminieren

(Groenewegen et al. 1987; Herkenham et al. 1984; Voorn et al. 1986). So befinden sich zum Teil VTA-Faser-Endigungen auf Synapsen von Projektionsneuronen im NAcc die gleichzeitig Afferenzen vom Hippocampus erhalten (French & Totterdell 2002). Die eingehenden Afferenzen vom PFC werden im NAcc wiederum durch VTA Aktivität moduliert (Brady & O'Donnell 2004). Somit koordiniert der NAcc durch seine zentrale Position unter anderem die eingehende Informationen des limbischen Systems zur zielgerichteten motorischen Steuerung des Verhaltens (Wright & Groenewegen 1996; Mogenson et al. 1980; Sesack & Grace 2010).

Sowohl die zentralen Zellkörper dopaminerge, glutamaterge und GABAerge Neurone (Yamaguchi et al. 2007; Geisler & Wise 2008; Sesack et al. 2003; Bockstaele & Pickel 1995) sind in der Substantia nigra pars compacta (Sn) bzw. des ventralen Tegmentums verankert. *In vivo* Studien belegten, dass bei stimulus-abhängiger Aktivierung der VTA/Sn sowohl glutamaterge, aber auch DA-freisetzende Neurone periodisch mit einem langsamen, tonischen Muster feuern (Yamaguchi et al. 2007; Ikemoto 2007). Dies führt innerhalb von Millisekunden zu einer Freisetzung von Dopamin im NAcc in relativ hohen Konzentration (Robinson et al. 2003; Sonders et al. 2009). In Verhaltens- und Belohnungsstudien an Ratten konnte *in vivo* solch ein periodisches Freisetzen von Dopamin nachgewiesen werden (Schultz 2001; Garris et al. 1999).

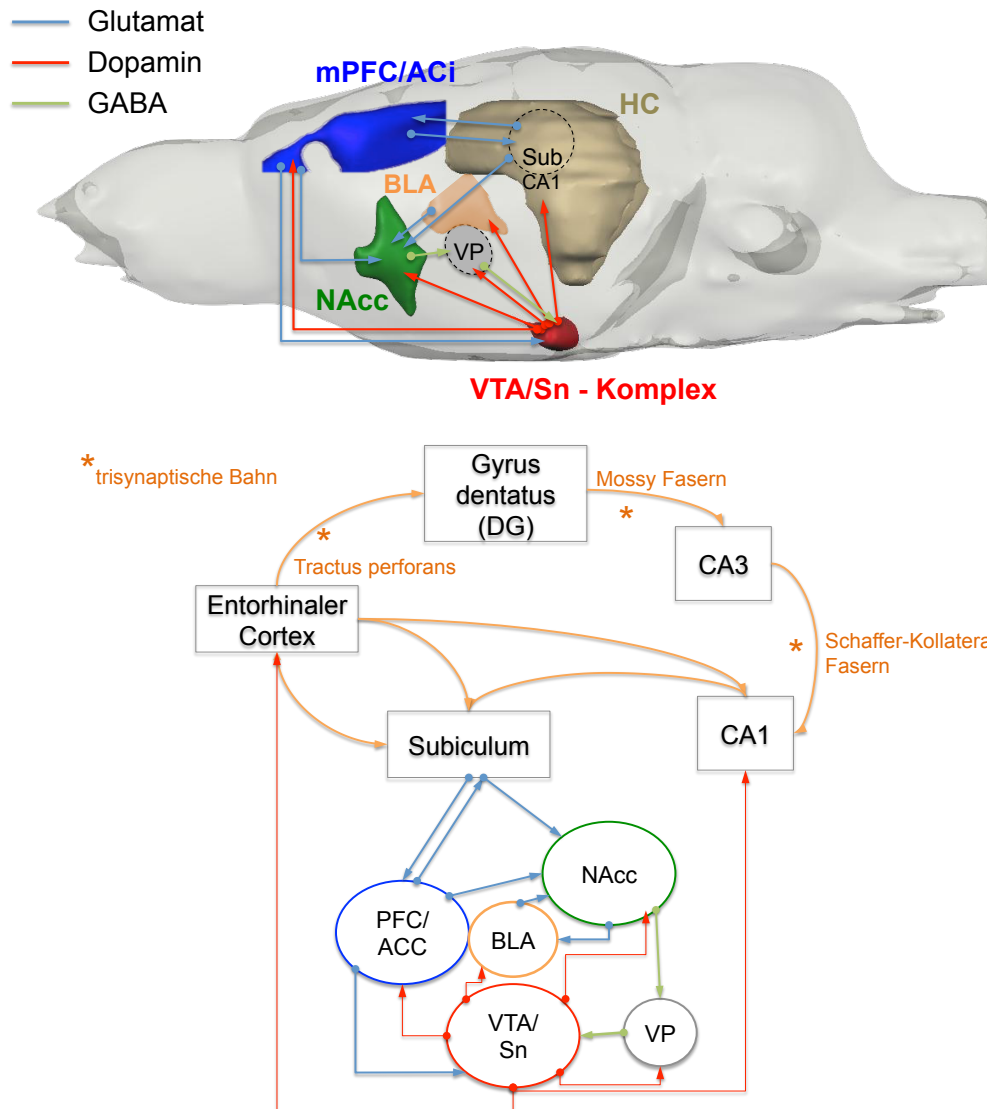


Abbildung 2.2 | Übersicht der anatomisch-funktionellen Verbindungen zwischen dem hippocampalen Strukturen (HC) und subcorticalen Strukturen des mesolimbischen Systems im 3D-Ratten-Model (oben) und als Übersichts-Schema (unten), modifiziert nach AMARAL und WITTER (1995) und LISMAN (2005). Die trisynaptische Bahn (orange Linie mit Stern) verbindet innerhalb des Hippocampus unidirektional den EC, DG, CA3 und CA1. Bidirektionale Verbindungen bestehen zwischen Subiculum, CA1 und EC. Glutamaterge, afferente Fasern projizieren vom Subiculum zum Teil zum Nucleus accumbens (NAcc) und dem anterioren Cingulum / medialen präfrontalen Cortex (mPFC/ACi). Von dort gehen polysynaptische Verschaltungen unter anderem zur basolateralen Amygdala (BLA), dem ventralen Pallidum (VP), dem Substantia nigra/ventralem Tegmentum-Komplex. Entsprechend ihrer anatomischen Einbindung können diese Schaltungen GABAerg (grüne Linie), glutamaterg (blaue Linie) oder dopaminerg (rote Linie) sein.

### *2.1.3 Regulationsmechanismen neuronaler Netzwerke, Neurotransmitter, Rezeptoren und Modulatoren*

Die grundlegende exzitatorische Transmission im Hippocampus wird durch die Aminosäure Glutamat vermittelt. Der Neurotransmitter diffundiert nach der präsynaptischen Freisetzung durch den synaptischen Spalt und bindet im Bereich der postsynaptischen Membran an ionotrope (iGluR) und metabotrope Glutamat-Rezeptoren (mGluR). Die iGluR zählen zu den exzitatorischen Aminosäure-Rezeptoren und werden, in Abhängigkeit von dem pharmakologischen Ligand der sie aktiviert, in drei Subtypen klassifiziert. Hierzu gehören der N-Methyl-D-Aspartat-Rezeptor (NMDAR), der  $\alpha$ -Amino-3-Hydroxy-5-Methyl-4-Isoxazol-Propionsäure-Rezeptor (AMPA), der Quisqualat- sowie der Kainat-Rezeptor (Mori & Mishina 1995; Dingledine et al. 1999; Wollmuth & Sobolevsky 2004; Wisden & Seeburg 1993; Mayer 2005; Asztély & Gustafsson 1996). Generell lassen sich die Quisqualat- und die Kainat-Rezeptoren strukturell nur schwer unterscheiden, daher werden sie gemeinsam als non-NMDA-Rezeptoren bezeichnet. Nach der synaptischen Freisetzung bindet Glutamat postsynaptisch sowohl an NMDA-, non-NMDA- als auch an AMPA-Rezeptoren (Collingridge, Kehl & McLennan 1983; Rao & Finkbeiner 2007; Gouaux 2004). Obwohl Glutamat an den NMDA-Rezeptor bindet, wird eine Erregung der postsynaptischen Zelle durch die an den Rezeptor angelagerten extrazellulären Magnesium-Ionen verhindert (Ascher & Nowak 1988; Mayer et al. 1984; Mayer & Westbrook 1987). Die Funktionalität der AMPA-Rezeptoren besteht daher insbesondere in einer Vermittlung der schnellen Komponente des postsynaptischen Stromes (Karnup & Stelzer 1999), da ihre Aktivierung eine Leitfähigkeitsänderung der postsynaptischen Membran von wenigen Millisekunden hervorruft. Im Gegensatz dazu ist die Vermittlung verzögerter exzitatorischer postsynaptischer Potentiale (EPSPs) durch NMDA-Rezeptoren langsamer, aber andauernder (Stark et al. 2000; Coan & Collingridge 1987). Im Vergleich zu den AMPA-Rezeptoren verändert die Aktivierung der NMDA-Rezeptoren die Leitfähigkeit für mehrere hundert Millisekunden. Damit ist deren Permeabilität für Kalzium-Ionen in etwa fünfzigmal höher als die der AMPA-Rezeptoren (Daw et al. 1993; Collingridge & Bliss 1988). Obwohl die postsynaptische Erregung primär durch AMPA-Rezeptoren gewährleistet wird, sichert zum Beispiel erst die durch NMDA-Rezeptoren vermittelte Erregung eine Induktion der LTP (Collingridge & Bliss 1988). NMDA-Rezeptoren zeigen eine

starke Spannungsabhängigkeit, sodass eine Reizweiterleitung erst durch eine bereits depolarisierte postsynaptische Membran gewährleistet wird (Mayer et al. 1984). Bei einer Hyperpolarisation der postsynaptischen Membran, begünstigen elektrische Kräfte die Bindung des zweiwertigen Magnesiums an den Ionenkanal. Bei einer depolarisierten postsynaptischen Membran sinkt damit die Wahrscheinlichkeit der Bindung von Magnesium-Ionen ( $Mg^{2+}$ ). Die durch die Depolarisation stark vergrößerte positive Ladung der post-synaptischen Zellmembran bewirkt die Abstoßung des  $Mg^{2+}$ -Ions auf dem NMDA-Rezeptor (Mayer et al. 1984; Mayer & Westbrook 1987). Durch den nun offenen Kanal des NMDA-Rezeptors strömt vermehrt  $Ca^{2+}$  in die Postsynapse. Die intrazelluläre Erhöhung der Konzentration von  $Ca^{2+}$  aktiviert in der Postsynapse unter anderem die Proteinkinase C sowie  $Ca^{2+}$ -Calmodulin-abhängige Proteinkinasen. Dies führt u.a. zu einem verstärkten Einbau von glutamatergen AMPA- und Kainat-Rezeptoren. Bereits existierende AMPA-Rezeptoren werden durch die  $Ca^{2+}$ -Calmodulin-abhängige Proteinkinase II phosphoryliert bzw. mobilisiert (Malenka & Nicoll 1999). Auf diese Weise wird die Leitfähigkeit erhöht und die postsynaptische Membran für Glutamat sensitiviert (Rao & Finkbeiner 2007; Bloodgood & Sabatini 2008). So kann neben der Erhöhung der intrazellulären  $Ca^{2+}$ -Konzentration durch den Einstrom über die geöffneten NMDA-Rezeptor Kanäle, die intrazelluläre Konzentration auch über spannungsabhängige  $Ca^{2+}$ -Kanäle und dem intrazellulären  $Ca^{2+}$ -Speicher erhöht werden. NMDA-Rezeptoren der postsynaptischen Membranen, die an solchen häufig genutzten Verbindungen liegen, können theoretisch durch die ständige Depolarisation der postsynaptischen Membran von den  $Mg^{2+}$ -Ionen deblockiert werden. Dadurch werden diese Schaltbahnen besser leitfähig als alternative Verschaltungen. Dieses charakteristische Merkmal des NMDA-Rezeptors könnte eines der wesentlichen Elemente für die Induktion synaptischer Plastizität sein und damit einen molekularen Mechanismus für Lern- und Gedächtnisprozesse darstellen (Coan & Collingridge 1987; Collingridge & Bliss 1988).

NMDA-Antagonisten, wie 4-Amino-5-Phosphonovalerat (AP5), verhindern die Induktion einer LTP durch hochfrequente, tetanische Stimulation (Collingridge, Kehl & McLennan 1983; Herron et al. 1986). Diese und andere spezifische NMDA-Blocker interagieren nicht mit non-NMDA und haben damit wenig Einfluss auf das EPSP. NMDA-Antagonisten, die nicht mit der Glutamat-bindenden Seite interagieren, wie

MK-801 (Huettner & Bean 1988), unterbinden ebenso die Induktion einer Langzeitpotenzierung (Coan & Collingridge 1987; Manahan-Vaughan et al. 2008).

Der Kainat-Rezeptor hat speziell eine große Bedeutung für die Induktion der Verstärkung der synaptischen Übertragung (Bortolotto et al. 1994). Diese Rezeptoren setzen sich aus vier oder fünf Rezeptoruntereinheiten GluR5 bis GluR7 sowie den Regionen KA1 und KA2 zusammen (Mellor 2006). Die Untereinheiten des Rezeptors differieren nicht nur in ihrem Aufbau, sondern auch in ihrer Funktionalität. So sind nur die Untereinheiten GluR5 bis GluR7 Ionenkanäle, welche ein langsames exzitatorisches postsynaptisches Potenzial (EPSP) vermitteln.

Im Gegensatz zu ionotropen Glutamat-Rezeptoren aktivieren metabotrope Glutamat-Rezeptoren (mGluR) Signaltransduktionswege, die über Guanosin triphosphat (GTP)-bindende Proteine und „second messenger“ Kaskaden vermittelt werden (Riedel & Reymann 1996; Manahan-Vaughan 1997; Popkirov & Manahan-Vaughan 2011; Neyman & Manahan-Vaughan 2008). Dadurch werden unter anderem Ionenströme begünstigt, die eine längere Latenz verursachen als durch ionotrope Glutamat-Rezeptoren. Insgesamt gibt es acht Unterklassen von metabotropen Glutamat-Rezeptoren (mGluR<sub>1-8</sub>). Durch das Vorkommen an der prä- als auch an der postsynaptischen Membran sind sie sowohl für die präsynaptische Neurotransmitterausschüttung mitverantwortlich als auch für eine Modifikation der postsynaptischen Antwort (Manahan-Vaughan 1997; Popkirov & Manahan-Vaughan 2011; Riedel & Reymann 1996).

Die neuronale Weiterverarbeitung im Hippocampus basiert auf den Wechselwirkungen zwischen einer Vielzahl von Pyramidenzellen und einer kleineren Anzahl von Interneuronen. Obwohl sie nur etwa 10 % der Neurone im Hippocampus und 15-20 % der Neuronenpopulation im Cortex einnehmen (Jessen et al. 2014; Freund & Buzsáki 1996; Kullmann 2011), weisen sie eine große anatomische und funktionelle Diversität auf (Miles et al. 1996; Klausberger & Somogyi 2008; Kullmann 2011; Buzsáki 2001). Eine Einteilung in verschiedene Subklassen erfolgt nach unterschiedlichen Kriterien, die ihre Morphologie, Physiologie und Verteilung einbeziehen (Freund & Buzsáki 1996; Kullmann 2011; Kullmann & Lamsa 2007; Klausberger & Somogyi 2008). Die Soma der diversen Interneurone sind im Hippocampus nicht in spezifischen Schichten angeordnet, wenn ihre Axone auch in den verschiedenen Kompartimenten der Pyramidenzellen enden (Miles et al. 1996).

Die axonalen Projektionen verschiedener Interneurone zeigen fundamentale Unterschiede zum hauptsächlich unidirektionalen exzitatorischen System der Gruppe der Pyramidenneurone. Die verschiedenen Arten von Interneuronen innervieren unterschiedliche subzelluläre Domänen. Zum Beispiel axo-axonische Interneurone innervieren ausschließlich das axonale Anfangsstück der Pyramidenzellen (Somogyi et al. 1982). Korbzellen innervieren hingegen nur die Zellkörper und den proximalen Dendriten. Die Oriens-Lacunosum-molekularen (O-LM) Interneurone terminieren auf den apikal-dendritischen Verzweigungen (Kullmann 2011). Dies sind nur vereinzelte Beispiele der vielfältigen Untergruppe der Interneurone und zeigen insbesondere, dass sie differentiell auf die Koordination der Pyramidenzellen einwirken können (Klausberger & Somogyi 2008). So kann es unter anderem zu Einflüssen auf die  $\text{Ca}^{2+}$ -abhängige Spike-Generierung oder auf die zeitlich-räumlich verteilte wiederkehrende Hemmung perisomatischer oder dendritischer Domänen der Pyramidenzellen kommen (Pouille & Scanziani 2004; Mody & Pearce 2004).

Nahezu alle Interneurone des Hippocampus benutzen  $\gamma$ -Aminobuttersäure (GABA) als primären Transmitter und kontrollieren die Entladungen der Neurone durch Mechanismen der Vorwärts- (*Feedforward*-) und Rückwärts- (*Feedback*-) Hemmung. Transmembranproteine von Nervenzellen, die eine Bindungsstelle für den Neurotransmitter GABA aufweisen, werden als GABA-Rezeptoren (GABAR) deklariert. Die Rezeptoren lassen sich in zwei Gruppen klassifizieren: ionotrope  $\text{GABA}_A$ -sowie metabotrope  $\text{GABA}_B$ -Rezeptoren. Die ionotropen  $\text{GABA}_A$ -Rezeptoren bilden mit etwa 40 % den größten Anteil von GABA-Rezeptoren im ZNS. Sie werden neben dem Hippocampus zu großen Teilen im frontalen Cortex, in den Körnerzellen des Cerebellums und im Thalamus der Ratte exprimiert (Bowery et al. 1987).

$\text{GABA}_A$ -Rezeptoren können in Synapsen oder Dendriten einen Anionen-Strom induzieren, der sowohl eine postsynaptische Hyperpolarisation (vermittelt durch  $\text{Cl}^-$  Einstrom) und ein Verlagern von exzitatorischen Strömen bewirken kann.

Die metabotropen, G-Protein-gekoppelten  $\text{GABA}_B$ -Rezeptoren sind zum Teil in der molekularen Zellschicht des Cerebellums und im frontalen Cortex vorhanden (Alger & Nicoll 1982; Pralong & Jones 1993). Generell werden für die GABA-Freisetzung zwei Arten inhibitorischer Antworten unterschieden, ein schnelles inhibitorisches postsynaptisches Potential (IPSP), welches durch die  $\text{GABA}_A$ -Rezeptoren und ein langsames IPSP, welches durch die präsynaptischen  $\text{GABA}_B$ -Rezeptoren vermittelt wird (Mody & Pearce 2004).

Zusätzlich zu den erregenden und inhibierenden Neurotransmittern Glutamat und GABA wird die Signalverarbeitung im Hippocampus und in corticalen Regionen durch heterosynaptische Einflüsse modulatorischer Neurotransmittersysteme, wie des dopaminergen System, reguliert (Frey & Morris 1997; Frey & Morris 1998; Kulla & Manahan-vaughan 2000; Hansen & Manahan-Vaughan 2012; Seamans & Yang 2004).

Dopamin (DA) ist das vorherrschende Katecholamin im Gehirn von Säugetieren, wo es eine Vielzahl von Funktionen übernimmt. Ein Defizit der Dopamin-Aktivität oder dessen Vermittlung beeinträchtigt nicht nur die normale Funktion der Zielregionen, sondern trägt zur Pathophysiologie einer Anzahl von neurologischen und psychischen Störungen bei, wie z.B. der Parkinson-Krankheit, der Schizophrenie und dem Drogenmissbrauch. Dopamin vermittelt auch eine Vielzahl von kognitiven Funktionen: es reguliert Gedächtnis, Motivation, Stimmung, Motorik und neuroendokrine Integration (Schultz 2001; Wise 2004; Surmeier et al. 2009; Goto & Grace 2008; Lisman & Otmakhova 2001; Stefani & Moghaddam 2006). Experimentelle Untersuchungen belegen, dass DA für die Vermittlung der Hippocampus-abhängigen synaptische Plastizität relevant ist (Hansen & Manahan-Vaughan 2012; Lemon & Manahan-Vaughan 2006; Gribkoff & Ashe 1984; Hamilton et al. 2010; Li et al. 2003; Ito & Schuman 2007). Studien zufolge moduliert DA im Hippocampus erregende und hemmende Neurotransmission (Gribkoff & Ashe 1984; Fitch et al. 2006; Sesack & Grace 2010), spannungsgesteuerte Ionen-Kanäle (Cantrell et al. 1997), und den Kalzium-abhängigen  $K^+$ -Strom (Bernado & Prince 1982).

Anatomische und biochemische Studien zeigten, dass die CA1 und das Subiculum dopaminerge Projektionen der VTA erhalten (Gasbarri, Packard, et al. 1994; Gasbarri et al. 1997; Gasbarri, Innocenzi, et al. 1994; Behr et al. 2000; Sesack & Grace 2010). Diese Effekte werden durch zwei verschiedene Gruppen von DA-Rezeptoren vermittelt: Die  $G_s\alpha$ -gekoppelten  $D_1$  und  $D_5$  Rezeptoren ( $D_1$ -ähnliche Gruppe) und die  $G_i\alpha$ -gekoppelten  $D_2$ ,  $D_3$  und  $D_4$  Rezeptoren ( $D_2$ -ähnliche Gruppe). Sowohl in der CA1 Region als auch im Subiculum wurden höhere Konzentrationen von  $D_1$ - und  $D_2$ -ähnlichen Rezeptoren nachgewiesen (Fremeau et al. 1991). Die heterosynaptische Aktivierungen der  $D_{1/5}$ -Rezeptoren im Hippocampus beeinflusst die Verstärkung einer NMDA-Rezeptor-abhängigen synaptischen Modifizierung, die



mittels einer Serie von kurzen hochfrequenten Stimulationen zu einer Erhöhung synaptischen Aktivität führt (Frey & Morris 1997; Frey & Morris 1998). Die D<sub>2</sub>-Rezeptoren scheinen im Gegensatz dazu weniger signifikant für eine Hippocampus-abhängige Informationsverarbeitung zu sein, sei es auf der Ebene der synaptischen Plastizität oder der Gedächtnisbildung (Kulla & Manahan-Vaughan 2000). Die D<sub>1</sub>-Rezeptor-Subtypen binden an den G-Protein-gekoppelten Rezeptor G<sub>s</sub> und aktivieren Adenylatcyclase. Das Membranprotein Adenylatcyclase katalysiert die Umwandlung von Adenosintriphosphat (ATP) zu cAMP, dabei ist die katalytische Untereinheit der Adenylatcyclase nur im Komplex mit dem G-Protein und GTP aktiv. G<sub>s</sub> wirkt in Verbindung mit der Cyclase als GTPase und katalysiert das gebundene GTP zu GDP, G<sub>s</sub> fällt von der Adenylatcyclase ab und die Synthese von cAMP-Molekülen wird gestoppt. Das frei gewordene G<sub>s</sub> kann nun erneut einen Transmitter-Rezeptor-Komplex bilden und wiederum erneut die Adenylatcyclase aktivieren. Dieser Prozess wiederholt sich dabei solange wie der Transmitter-Rezeptor-Komplex vorhanden ist. Synthetisierte cAMP-Moleküle aktivieren die Proteinkinase A (PKA), was eine notwendige Grundlage für die Verstärkung der synaptischen Plastizität darstellt (Huang et al. 1994; Abel et al. 1997; Nguyen & Kandel 1997). Die Aktivierung der PKA erfolgt, indem sich cAMP-Moleküle an die regulatorischen Untereinheiten der Kinase binden und die beiden katalytischen Untereinheiten freigegeben.

Elektrophysiologische Studien belegen, dass DA auch im mPFC NMDA-Rezeptor vermittelten Prozessen über D<sub>1/5</sub>-Rezeptor-abhängige Mechanismen modulieren kann (Wang & O'Donnell 2001; Gonzalez-Islas & Hablitz 2003; Chen et al. 2004; Tseng & O'Donnell 2004). Die Dopamin-D<sub>1</sub>-Rezeptoren können synergistisch die exzitatorischen Einflüsse des Glutamat auf die NMDA-Rezeptoren erhöhen und damit die Zeit der geöffneten NMDA-Kanäle verlängern und so die Stärke des Kalziumsignals vergrößern (Wirkner et al. 2004). Die Aktivierung des Dopamin-D<sub>1</sub>-Rezeptor-Proteinkinase A-Signalwegs vergrößert die Mobilisierung der AMPA- und NMDA-Rezeptoren zur Zelloberfläche (Dunah et al. 2004; Mangiavacchi & Wolf 2004; Wolf et al. 2004).

Die erläuterten biochemischen Abläufe zur Aktivierung der NMDA- und D<sub>1/5</sub>-Rezeptoren und der daraus folgenden Aktivierung intrazellulärer Signalkaskaden und deren Interaktion in den aktivierten Synapsen sind notwendige Vorgänge für die Ausprägung synaptischer Plastizität (Frey & Morris 1997; Frey & Morris 1998; Abel et

al. 1997; Swanson-Park et al. 1999; Carroll & Morris 2004). Eine Blockade durch den selektiven D<sub>1</sub>-Rezeptor-Antagonisten SCH23390 verhinderte die Stabilisierung der LTP im Hippocampus *in vivo* (Rossato et al. 2009; Neve et al. 2004; Bethus et al. 2010), verhindert aber selber nicht die Induktion der LTP (Kulla & Manahan-vanhan 2000). Auch werden plastizitätsrelevante Prozesse während Lernvorgängen durch die Aktivierung dopaminerger Neurone verstärkt (Kemp & Manahan-Vaughan 2004; Lemon & Manahan-Vaughan 2006).

Die physiologische Rolle der Dopamin-D<sub>1</sub>-Rezeptoren ist jedoch schwierig zu definieren, insbesondere in Folge von seiner komplexen prä- und postsynaptischen Lokalisierung in verschiedenen Hirnbereichen (Cameron & Williams 1993; Chesselet 1984). Mehrere Studien haben gezeigt, dass D<sub>1</sub>-Rezeptoren die Glutamat-Freisetzung in den verschiedenen Bereichen des Gehirns einschließlich die des Nucleus accumbens (Nicola et al. 1996; Pennartz et al. 1992), dem entorhinalen Cortex (Pralong & Jones 1993), des präfrontalen Cortex (Law-Tho et al. 2006; Krimer et al. 1998) und des basalen Vorderhirns (Momiya & Sim 1996) steuern können. Da jede dieser Strukturen dopaminerge Projektionen aus dem ventralen Tegmentum erhält, könnte man daraus folgern, dass das dopaminerge System die erregenden Neurotransmission durch D<sub>1</sub>-Rezeptoren steuert. Damit regulieren diese Rezeptoren nicht nur die Aktivität der zyklischen AMP (cAMP)-abhängige Proteinkinase (PKA) (Kebabian & Calne 1979), sondern könnten zudem Ca<sup>2+</sup>-Ströme beeinflussen (Surmeier et al. 1995).

Die Modulierung einer Information in einem globaleren Sinne kann ebenfalls indirekt durch DA vermittelt werden. So kann zum Beispiel die Aktivität des oszillierendes Netzwerks (Buzsáki & Draguhn 2004) beteiligter Hirnregionen beeinflusst werden. Eine D<sub>1/5</sub>-Rezeptor-Aktivierung kann beispielsweise Theta Pulsfolgen im medialen Septum modulieren, die wiederum zum Hippocampus projizieren (Fitch et al. 2006). Es wird zudem vermutet, dass DA insbesondere die Gamma- oder-Thetafrequenz-Muster der Neuronen ändert (Ito & Schuman 2007), die im enthorinalen Cortex während Verhaltensversuchen von Nagetieren beobachtet wurden (Chrobak et al. 2000), wodurch auch eingehende Informationen zum Hippocampus verändert werden.

## 2.2 Darstellung lokaler, globaler und modulatorischer neuronaler Aktivität

### 2.2.1 Lokale Feldpotentiale

In den vergangenen Jahrzehnten wurde das Konzept der funktionalen Konnektivität innerhalb neuronaler Netzwerke mit größter Sorgfalt durch die Analyse von lokalen elektrophysiologischen Ableitungen erbracht, die in verschiedenen Hirnarealen aufgezeichnet worden sind (Abraham & Mason 1988; Bartesaghi et al. 1995; Manahan-Vaughan 1997; Nicola et al. 1996; Otmakhova & Lisman 1996). Dabei ist es möglich, sowohl intrazelluläre als auch extrazelluläre Aufnahmen aufzuzeichnen. Die extrazelluläre Messung der neuronalen Aktivität kann so zum Beispiel durch die Erfassung der Feldpotentiale erfolgen. Die Reizung eines zentralen Faserbündels, wie dem *Tractus perforans*, erzeugt monosynaptisch evozierte Feldpotentiale im *Gyrus dentatus*. Das bedeutet, die glutamaterge Aktivierung der Körnerzellen im DG induziert eine Potentialänderung an der postsynaptischen Membran, welche das Öffnen von Kationen-Kanälen und dem damit stattfindenden Einstrom von Natriumionen in das Zellinnere zur Folge hat. Das Äußere der Zelle ist damit im Vergleich zum Zellinneren negativ geladen. Das extrazelluläre Potential im Bereich der Zellkörpers ist durch seine positive Polarität gekennzeichnet. Dieser passive, zell-auswärts gerichtete, Ausgleichstrom wird als „*source*“ bezeichnet. Bei ausreichend starker Stimulation, die die Entladungsschwelle der Neurone übersteigt, kommt es durch die erhöhte Leitfähigkeit der Natriumkanäle zum Einstrom von Natrium-Ionen ins Zell-Soma und folglich zur Depolarisation der Membran. Das Summenaktionspotenzial (*population spike - PS*) stellt somit die Summation synchron hervorgerufener Aktionspotentiale und damit die aktive Entladung der Neurone dar. Der Stromfluss erfolgt dabei im Bereich des Zellkörpers entgegengesetzt („*source*“) und ist damit positiv (im Gegensatz zu negativen Stromfluss („*sink*“) im Bereich der Dendriten-Schicht). Die Registrierung von Feldpotentialen, etwa im Bereich des hippocampalen Areals, beruht auf der Messung der Potentialdifferenz zwischen zwei Elektroden. Die Ableitelektrode befindet sich dabei in dem Gewebe, in der die Aufzeichnung der neuronalen Aktivität von Interesse ist. Die Referenzelektrode befindet sich hingegen außerhalb dieser Region. Die stellt dabei die Elektrode mit bekanntem Potential dar, da die Spannung dieser

Referenzelektrode mit 0 festgelegt wird. Während der neuronalen Aktivität erfolgt die Erzeugung einer Potentialdifferenz, welche durch den Stromfluss zwischen Ionenbewegungen und demzufolge durch den externen Widerstand hervorgerufen wird. Damit kann die Potentialänderung gegen die Zeit registriert werden. Die Darstellung einer extrazellulären Potentialdifferenz eines Neurons ist gering, daher erfolgt bei der Bestimmung des Feldpotentials eine Summation der Potentialänderungen mehrerer Neurone. Die spezielle Struktur des Hippocampus, mit seiner relativ großen Anzahl dicht gepackter Neurone in selber Orientierung, erlaubt damit die Registrierung der Potentialänderung aktivierter Neuronenpopulationen.

### 2.2.2 Funktionelle Bildgebung und neurovaskuläre Kopplung

Obwohl die elektrophysiologische Ableitung lokaler Feldpotentiale (LFP) eine hohe zeitliche Auflösung besitzt, ist die räumliche Auflösung dagegen sehr stark auf ein lokales Areal begrenzt. Diese Aufzeichnungsverfahren haben daher auch nur begrenzte Möglichkeiten, koordinierte Informationsverarbeitung über mehrere neuronale Netzwerke zu überwachen (Buzsáki & Draguhn 2004). Die funktionelle Magnetresonanztomographie (fMRT) hat sich wegen der guten, räumlichen Auflösung zu einem hilfreichen Instrument in den kognitiven Neurowissenschaften entwickelt, da es in der Lage ist, parallel-stattfindende neuronale Prozesse nicht-invasiv darzustellen. Da die fMRT lokalisierte Veränderungen der neuronalen Aktivität im gesamten Gehirn visualisieren kann, ist auch keine Vorauswahl der möglichen Zielregionen erforderlich.

Die fMRT visualisiert aber nur indirekt Veränderungen neuronaler Aktivität durch Messung aktivitäts-abhängiger Effekte auf lokale hämodynamische Parameter, wie den cerebralen Blutfluss (*cerebral blood flow* - CBF), das cerebrale Blutvolumen (*cerebral blood volume* - CBV) und die Blutsauerstoffsättigung (*blood oxygen level dependent* - BOLD) (Attwell & Iadecola 2002; Heeger & Ress 2002a; Attwell et al. 2010; Lauritzen 2005).

Zum einen initiiert eine neuronale synaptische Aktivität eine Erhöhung des CBF durch Freisetzung von vasoaktiven Substanzen, die die umgebenden Arteriolen weiten und zur funktionellen Hyperämie führen können (Lecrux et al. 2011; Iadecola & Nedergaard 2007; Zonta et al. 2003; Filosa et al. 2004; Drake & Iadecola 2007), und zum anderen steigt bei zunehmender Aktivität die neuronale metabolische Rate

des ATPs und Sauerstoffs (Shulman et al. 2004; Stefanovic et al. 2005). Das erhöhte Angebot überwiegt allerdings dem tatsächlichen Verbrauch, so dass mehr Sauerstoff in die aktivierte Region transportiert wird als eigentlich verwendet werden kann (Fox & Raichle 1986). Diese Diskrepanz zwischen Blutfluss und Sauerstoffverbrauch führt zur kurzfristigen Änderungen der Desoxyhämoglobin-Konzentration, was als Kontrastmittel ausgenutzt wird, um Änderungen in der Gehirnfunktion bildgebend darzustellen. Die biophysikalische Grundlage des BOLD-Signals bezieht sich auf die Konzentration von Desoxyhämoglobin der Blutgefäße im Gehirn (Heeger & Ress 2002b; Ogawa et al. 1990; Ogawa et al. 1993; Thulborn 2012). Wenn das diamagnetische Oxyhämoglobin Sauerstoff freigibt, entsteht paramagnetisches Desoxyhämoglobin. Die Stärke des gemessenen fMRT-Signals wird durch das paramagnetische Desoxyhämoglobin verringert, da es das Magnetfeld weniger homogen erscheinen lässt. Eine Verringerung der Desoxyhämoglobin-Konzentration (bzw. eine Erhöhung der Blutsauerstoffsättigung) bewirkt eine langsamere Dephasierung der Dipole (d.h. Protonen). Die aktivierten Regionen zeigen daher in  $T_2^*$ -gewichteten Sequenzen einen Signalanstieg gegenüber nicht aktivierten Regionen. Dieser Signalanstieg zeigt sich dann als Grauwertänderung in den funktionellen Bildern der MRT. Die Signaländerung im fMRT hängt primär von der Sauerstoffsättigung des Blutes ab, die wiederum abhängig vom Sauerstoffverbrauch des Gewebes ist (Ogawa et al. 1990; Attwell et al. 2010). Eine Erhöhung der Konzentration von Desoxyhämoglobin resultiert in einer negativen Signaländerung, während eine Abnahme in Desoxyhämoglobin zu einem positiven Signal führt. Idealerweise könnte man das negative Signal nutzen, um die neuronale Aktivität zu verzeichnen. Eine erhöhte neuronale Aktivität wird jedoch auch durch einen gesteigerten Blutfluss begleitet, was in Millisekunden das Desoxyhämoglobin wegschwemmt. Während das Hirnvenen-Blutvolumen als eine nichtlineare Funktion des Blutflusses zunimmt, beginnt die Konzentration des Desoxyhämoglobin während der Aktivierung zu fallen. Daher ist die typische Veränderung des BOLD-Kontrasts in bildgebenden Studien ein positives Signal, das auf dem Zusammenspiel von lokalem Sauerstoffverbrauch, Blutflussmenge und resultierendem Blutvolumen basiert.

Die Verbindung zwischen neuronaler Aktivierung und lokaler Hirndurchblutung wird als „neurovaskuläre Kopplung“ oder funktionelle Hyperämie bezeichnet (Abbildung 2.3). Die funktionelle Hyperämie ist ein wichtiger Autoregulationsmechanismus,

wodurch eine erhöhte neuronale Aktivität durch einen schnellen und regionalen Anstieg der Blutversorgung angepasst wird (Nielsen & Lauritzen 2001). Eine Vielzahl von Modellen wurde in den letzten Jahren aufgestellt, die die Dynamik des zerebralen Blutflusses und CBV in Reaktion auf veränderte neuronale Aktivität beschreibt. Dieser Mechanismus involviert ein kommunikatives Zusammenspiel von Neuronen, Astrozyten und Arteriolen (Attwell & Iadecola 2002; Yang & Iadecola 1998; Iadecola & Nedergaard 2007; Petzold & Murthy 2011; Carmignoto & Gómez-Gonzalo 2010; Lecrux & Hamel 2011; Filosa et al. 2004; Cauli & Hamel 2010; Koehler et al. 2009). Durch die Freisetzung metabolischer Intermediate bzw. Faktoren der neuronalen Aktivierung erfolgt eine Reaktion des vaskulären Systems durch eine Gefäßerweiterung bzw. Gefäßverengung (Abbildung 2.4). Neuronal freigesetzte Substanzen, wie Glutamat, GABA, Noradrenalin, Acetylcholin, Dopamin, ATP, und Stickstoffmonoxid steuern unter *in vitro* Bedingungen ein Kalziumanstieg in Astrozyten (Haydon & Carmignoto 2006; Volterra & Steinhäuser 2004; Girouard et al. 2010; Blanco et al. 2008; Metea & Newman 2006; Filosa et al. 2004; Dabertrand et al. 2013; Choi et al. 2006; Kocharyan et al. 2008; Girouard et al. 2007). Auch unter *in vivo* Bedingungen konnte eine relevante Astrozyten - Aktivierung durch Glutamat gezeigt werden (Wang et al. 2006; Xi et al. 2011; Leffler et al. 2006; Parfenova et al. 2012; Takano et al. 2006; de Labra et al. 2009).

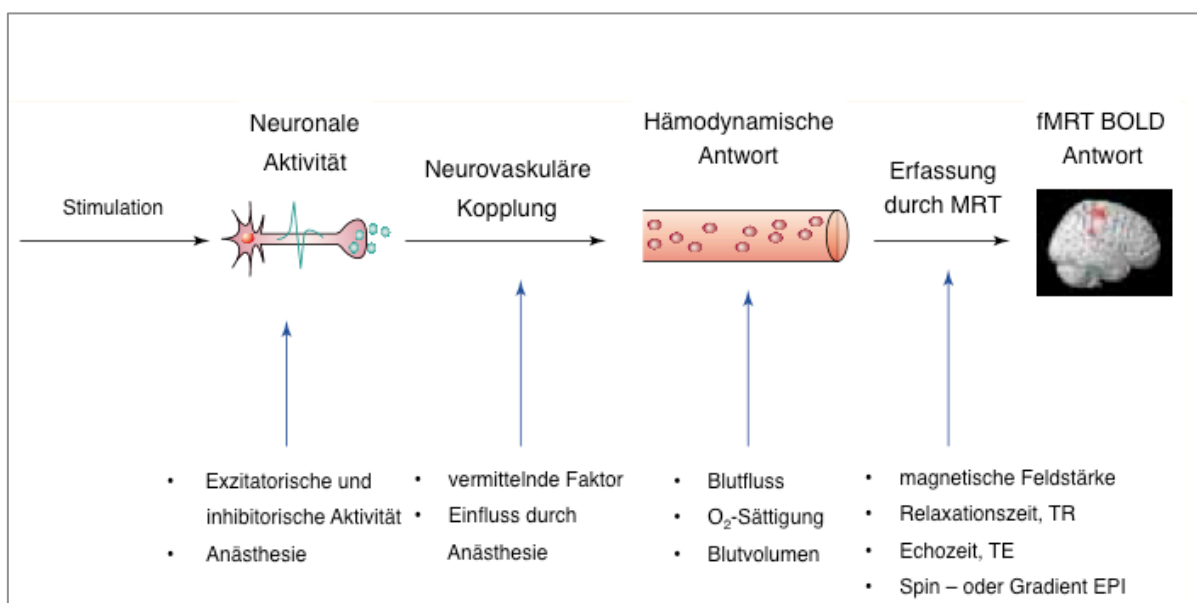


Abbildung 2.3 | Einflussfaktoren des BOLD-Signals (1) die neuronale Reaktion auf einen Reiz oder eine Hintergrundmodulation; (2) die komplexe Beziehung zwischen neuronaler Aktivität und dem Auslösen einer neurovaskuläre Kopplung; (3) die hämodynamische

Reaktion selbst; und (4) die Art und Weise, wie diese Reaktion durch den MRT -Scanner erfasst wird (Arthurs & Boniface 2002).



Die bereits beschriebenen exzitatorischen Synapsen dominieren im Hippocampus und sind durch die Glutamat-Freisetzung der Hauptenergie-verbrauchende Prozess im Gehirn (Attwell & Laughlin 2001). Glutamat ruft eine Erhöhung der cerebralen Durchblutung und BOLD-Signale hervor, wahrscheinlich durch Wechselwirkungen der Glutamat-Rezeptoren auf Astrozyten, Perizyten und Neurone (Attwell et al. 2010; Gsell et al. 2006; Nielsen & Lauritzen 2001; Lauritzen 2005; Hall et al. 2014; Peppiatt et al. 2006). Einer präsynaptischen Freisetzung folgend, bindet Glutamat an die bereits beschriebenen AMPA-, Kainat- und NMDA-Rezeptoren (Mayer 2005; Wollmuth & Sobolevsky 2004; Carroll & Zukin 2002). Diese Bindung führt zum Einstrom von  $\text{Ca}^{2+}$ -Ionen in Neuronen und zur Aktivierung der neuronalen Stickoxid-Synthase (nNOS) (Busija et al. 2008) und dem anschließenden Freisetzen von Stickoxid (NO). Durch NO wird unter anderem in der glatten Muskulatur ein zyklisches Guanosinmonophosphat (cGMP) aktiviert, was die Gefäßerweiterung einleitet (Garthwaite 2008; Filosa et al. 2015; Golding et al. 2001). Dadurch kann mehr Sauerstoff und Glucose zu den energieverbrauchenden Neuronen transportiert werden. Darüber hinaus ändert Glutamat durch Bindung an mGluR Rezeptoren die intrazelluläre  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration in Astrozyten (Abbildung 2.4). Darauf folgend werden Gefäß-regulierende Kaskaden mit Faktoren, wie Arachidonsäure (AA), Prostaglandin (PG) und Kalium ( $\text{K}^+$ ) in Gang gesetzt, die selber als Vasodilator oder Vasokonstriktur agieren oder solche Mechanismen weiter vermitteln (Pepicelli et al. 2005; Enager et al. 2009; Mulligan & MacVicar 2004; Haydon & Carmignoto 2006; Koehler et al. 2009; Metea & Newman 2006; Filosa et al. 2004; Filosa et al. 2015).

Der Einfluss glutamaterger Transmission auf die Hämodynamik ist vielfach belegt. So verursacht eine kombinierte Hemmung von AMPA- und NMDA-Rezeptor während einer infra-orbitalen Stimulation eine Reduktion des Blutflusses und die postsynaptische Aktivität im sensorischen Cortex der Ratte um 90% (Norup Nielsen & Lauritzen 2001; Gsell et al. 2006). Allerdings scheinen NMDA-vermittelte Mechanismen nicht direkt die Hämodynamik zu beeinflussen, sondern sie beeinflussen, zumindest im Hippocampus, die Hämodynamik nur indirekt durch Modifikation lokaler Verarbeitungsprozesse (Tiede et al. 2012).

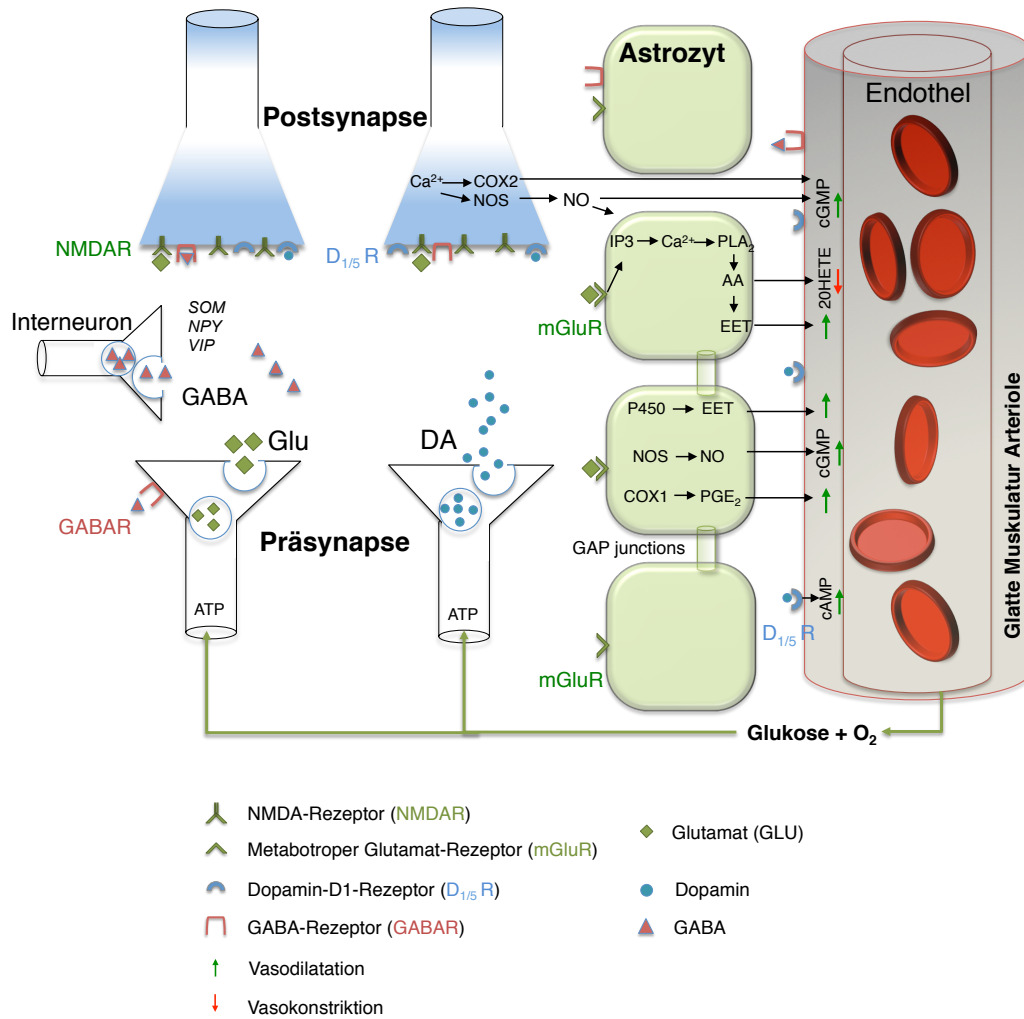


Abbildung 2.4 | Übersicht der Hauptsignalwege von Astrozyten und Neuronen, die den Glutamat-vermittelten zerebralen Blutfluss durch vasoaktive Faktoren steuern, um die glatten Muskelzellen zu regulieren (modifizierte Darstellung nach Attwell et al. 2010). Synaptisch freigesetztes Glutamat bindet an NMDAR der Neurone und induziert eine Ca<sup>2+</sup>-Erhöhung, wodurch die neuronale Stickstoffmonoxid-Synthase (nNOS) ausgeschüttet wird, um Stickoxid (NO) freizusetzen. Durch NO wird in der glatten Muskulatur Guanylatzyklase aktiviert, das erzeugt zyklisches Guanosinmonophosphat (cGMP), welches die Gefäßerweiterung induziert. Ein erhöhter Ca<sup>2+</sup>-Spiegel kann auch (gestrichelt) über Phospholipase A2 (PLA<sub>2</sub>) Arachidonsäure (AA) erzeugen, das von COX2 zu Prostaglandinen (PG) umgewandelt, die Gefäßerweiterung einleitet. Glutamat erhöht Ca<sup>2+</sup> in Astrozyten durch Aktivierung der metabotropen Glutamat-Rezeptoren (mGluR). Das erzeugt über Arachidonsäure drei Arten von Metaboliten: Prostaglandine (PG), EETs in Astrozyten, die Gefäße erweitern, und 20-HETE in der glatten Muskulatur, die Gefäße verengt. Ein Anstieg des Ca<sup>2+</sup> Titers in Astrozyten kann Ca<sup>2+</sup>-abhängige K<sup>+</sup>-Kanäle (g<sub>K(Ca)</sub>) aktivieren, die den Kalium-Einstrom regulieren und damit ebenfalls die Gefäße erweitert. Da die glutamaterge Neurotransmission nicht die einzige Determinante für die Mobilisierung astrozytärer und neuronaler Ca<sup>2+</sup>-Speicher ist, können weitere Neuromodulatoren und Hormone die Mikrozirkulation beeinflussen. Das aus Interneurone stammende vasoaktive intestinal Peptid (VIP) und NOS führen zur Dilatation der Gefäße. Die ebenfalls aus Interneuron freigesetzte Neuropeptid Y (NPY) und Somatostatin (SOM) induzieren eine Gefäßverengung.



Obwohl Glutamat als wichtigster Akteur für die neurovaskuläre Kopplung beschrieben wird (Takano et al. 2006; Winship et al. 2007; Schummers et al. 2008; Nimmerjahn 2009; Girouard et al. 2007; Girouard et al. 2010), können auch die GABAerge Interneurone durch ihre enge Anbindung zu Blutgefäßen vasoaktive Substanzen oder Transmitter freisetzen und dadurch fMRT-Signale modifizieren (Abbildung 2.4). Zum Beispiel beinhalten die axonalen Terminalien GABAerger Interneurone eine Reihe von vasoaktiven Neuropeptiden, wie das vasoaktive intestinale Peptid (VIP), Somatostatin (SOM) und Neuropeptid Y (NPY) aber auch die NO-Synthase, die wiederum das vasoaktive NO bildet (Paspalas & Papadopoulos 1998; Kocharyan et al. 2008; Cauli et al. 2004; Enager et al. 2009). Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass das freigesetzte GABA selbst hippocampale Arteriolen durch Aktivierung endothelialer GABA<sub>A</sub>R (Enager et al. 2009) weiten kann.

Auf der anderen Seite kann das durch Interneurone freigesetzte GABA durch Bindung an GABA<sub>B</sub> Rezeptoren der postsynaptischen Membran auch an Ligandengesteuerte Kalium-Kanäle binden (Thalmann & Ayala 1982; Gähwiler & Brown 1985; Newberry & Nicoll 1985). Dadurch gelangt Kalium in den extrazellulären Raum und kann durch die zunehmend intrazelluläre negative Ladung zur Hyperpolarisation der postsynaptischen Membran beitragen. Zahlreiche Studien haben dokumentiert, dass eine solche Erhöhung der extrazellulären Kaliumkonzentration ( $K^+$ ) zur Gefäßerweiterung führen kann (McCarron & Halpern 1990; Cameron & Caronna 1976; Golding et al. 2000; Chrissobolis et al. 2000; Nakahata et al. 2006; Dunn & Nelson 2010; Farr & David 2011).

Bildgebende Studien der letzten Jahrzehnte wiesen auch eine mikro-vaskuläre Wirkung von Dopamin nach (Edvinsson et al. 1985; Marota et al. 2000; Schwarz et al. 2004; Schwarz et al. 2007; Choi et al. 2006). Zuvor konnte bereits die Anwesenheit von Dopamin-Rezeptoren in zerebralen Arteriolen nachgewiesen werden (Krimer et al. 1998; Amenta et al. 1998). Insbesondere die D<sub>1/5</sub>-Rezeptorenvermittelten Mechanismen scheinen die zerebrale Mikrozirkulation zu beeinflussen (Edvinsson et al. 1985; Choi et al. 2006), auch wenn sie nur das vaskuläre System betreffen (Stamford et al. 1988).

### 2.2.3 Zyklische Voltammetrie und Dopamin-Freisetzung

Ein wesentlicher Nachteil elektrophysiologischer Studien ist, dass die Rolle spezifischer Neurotransmitter, wie Dopamin, bei der Signalverarbeitung nicht direkt untersucht werden kann. Im Gegensatz dazu können elektrochemische Techniken, wie die Mikrodialyse oder die Voltammetrie, genutzt werden, um die Freisetzung von Neurotransmittern innerhalb eines definierten Zeitraums in einem Hirnareal nachzuweisen (Brudzynski & Gibson 1997; Kalivas & Duffy 1997; Mitchell et al. 2000; Logman et al. 2000; Park et al. 2010; Robinson et al. 2003). Mikrodialyse ist die am häufigsten verwendete Methode, um die chemische Umgebung des Gehirns zu analysieren. Die freigesetzten Moleküle diffundieren in die Sonde und das aufgefangene Dialysat wird mit Hilfe einer Gaschromatographie bzw. HPLC analysiert. Obwohl es Bemühungen gibt, die zeitliche Auflösung der Mikrodialyse zu verbessern, werden die Proben in der Regel bei 1 bis 10-Minuten-Intervallen gesammelt. Daher ist die Mikrodialyse nur für die Messung von Veränderungen auf einer Zeitskala im Minuten-Bereich geeignet. Die Stimulus-induzierte neuronale Freisetzung von Dopamin erfolgt allerdings in einem Zeitfenster von Sekunden, bevor die Wiederaufnahme aus dem synaptischen Spalt eintritt (Kuhr & Wightman 1986; Wightman et al. 1988). Für den Nachweis von dynamisch freigesetztem Dopamin unter *in vivo* Bedingungen kann die zyklische Voltammetrie (*fast scan cyclic voltammetry* - FSCV) verwendet werden. Eine elektro-analytische Technik, die zur Detektion von elektrochemisch aktiven Substanzen im Subsekundenbereich (100 ms Auflösung) anhand von Mikro-Carbonfaser-Elektroden möglich ist. Katecholamine, wie Dopamin und Noradrenalin, können bei einem physiologischen pH-Wert leicht oxidiert und reduziert werden (Venton & Wightman 2003). Dopamin wird in Neuronen aus Tyrosin synthetisiert und in membrangebundene Vesikel verpackt. Durch ein ankommendes Aktionspotenzial wird der Vesikel-Inhalt in den synaptischen Spalt entlassen. Dopamin kann so entweder an den Dopamin-Rezeptor binden oder mit dem Dopamin-Transporter interagieren. Weil in den meisten Fällen nur niedrige Konzentrationen von Dopamin freigesetzt und wieder schnell aus dem extrazellulären Raum entfernt werden (Garris et al. 1994), muss die Messmethode schnell, sensitiv und selektiv sein. Die Anwendung von zylindrischen, etwa 5-7  $\mu\text{m}$  breiten und 100  $\mu\text{m}$  langen, Carbonfaser-Mikroelektroden ermöglicht es besonders nah an Zielregionen vorzudringen, ohne große Gewebeschäden zu verursachen. Die

Selektivität ist besonders essenziell, da weitere elektrochemisch-aktive Substrate im Gewebe vorhanden sind (zum Beispiel Stickstoffmonoxid, Serotonin, Ascorbinsäure u.v.m.) (Venton & Wightman 2003). Um eine möglichst gute zeitliche Auflösung zu erhalten, erfolgen wiederholte Messungen in zyklischen Intervallen. Für die Detektion von Dopamin wird die Spannung der Elektrode bei einer Stromstärke von etwa 400 Volt je Sekunde von einem Ruhepotential von -0,4 Volt bis auf 1,5 Volt erhöht. Die Frequenz des Ab tastens liegt idealerweise bei 10 Hz (alle 100 ms). Dopamin oxidiert dabei bei etwa +0,6 V und wird bei etwa -0,2 V reduziert. Der Verlauf der Freisetzung kann bildgebend in „*Pseudocolorplots*“ dargestellt werden. In Verhaltens- und in Belohnungs-Studien konnte damit in vivo die Fluktuation der Dopamin-Freisetzung nachgewiesen werden (Carelli & Wightman 2004; Day et al. 2007; Sombers et al. 2009; Saddoris et al. 2013). Auch fMRT-kombinierte Stimulations-Studien an dopaminergen Faserbahnen (MFB) konnten stimulus-abhängige Freisetzung des Katecholamins Dopamin im NAcc und mPFC/ACi am narkotisierten Tier nachweisen (Krautwald et al. 2013).

### 2.3 Simultane Messung elektrophysiologischer und fMRT Signale zur Darstellung veränderter lokaler und globaler neuronaler Netzwerkaktivität

Um zu untersuchen, wie Stimulus-induzierte Änderungen lokaler Netzwerk-Aktivitäten die Eigenschaften globaler Netzwerke beeinflussen können, müssen experimentelle Ansätze genutzt werden, die sowohl die lokale Signalverarbeitung als auch resultierende globale Aktivierungsmuster darstellen können. Für die lokale Signalverarbeitung eignet sich die elektrophysiologische Messung von Feldpotenzialen. Auf der anderen Seite kann die globale Signalverarbeitung zudem simultan mit Hilfe der fMRT dargestellt werden. Solch ein Ansatz wurde bereits entwickelt, um die neurophysiologischen Grundlagen der fMRT zu untersuchen (Angenstein et al. 2007; Canals et al. 2008a; Logothetis et al. 2001). Mit dem Ansatz der monosynaptischen Aktivierung der Körnerzellen des *Gyrus dentatus* durch die direkte Stimulation des *Tractus perforans* der narkotisierten Ratte konnte ein Zusammenhang zwischen der verwendeten Stimulationsintensität, der registrierten PS-Amplitude als auch der Erhöhung der induzierten BOLD-Antwort

verzeichnet werden (Angenstein et al. 2007; Canals et al. 2008a; Angenstein et al. 2010). Das Einbringen einer Stimulationselektrode in den TP ermöglicht zum einen die Kontrolle der elektrophysiologischen Stimulations-Parameter, wie Frequenz, Stimulations-Intensität und Stimulations-Muster. Die elektrophysiologische Ableitung im rechten *Gyrus dentatus* informiert gleichzeitig über die Qualität der Signalverarbeitung. Die lokale Signalverarbeitung einer Region kann grob als Beziehung zwischen Eingangs- und Ausgangsaktivität definiert werden. Die Eingangsaktivität des DG wird durch das Muster der Tractus perforans-Stimulation fest vorgegeben, während die Ausgangsaktivität der gemessenen Summenaktionspotentiale der Körnerzellen, also der Populationen-Spikes, entspricht. Das bedeutet, dass bei Präsentation des gleichen Stimulationsprotokolls die sich ändernde lokale Signalverarbeitung mit einem veränderten Populations-Spike-Muster einhergeht. Basierend auf der Zeitkonstanten der neuronalen Prozesse, wird ein nachfolgend gleicher Puls entweder eine ähnliche oder eine veränderte Reaktion hervorrufen. Bei wiederkehrendem Reiz werden sie sich gegenseitig beeinflussen, da die eingebundenen Neurone ein Bestandteil der lokalen neuronalen Verschaltungen sind.

Zudem zeigte sich, dass dieses Verfahren nicht nur geeignet ist, um Signalverarbeitung in hippocampaler Formation zu untersuchen, sondern auch um Signalweiterleitung in Zielregionen der HC-Formation, wie dem NAcc, dem Septum und dem mPFC darzustellen (Canals et al. 2009; Angenstein et al. 2013). Insbesondere wiederholt applizierte hochfrequente (100 Hz) Pulsfolgen verursachten Änderungen in lokalen Feldpotenzialen, die zum Teil mit veränderten fMRT Antworten einhergingen (Angenstein et al. 2007; Canals et al. 2008b; Krautwald et al. 2013; Canals et al. 2008a; Angenstein et al. 2013). Hochfrequente Stimulationen einer afferenten Faserbahn zum Hippocampus sind bekannt dafür, Änderungen der synaptischen Plastizität im DG und Hippocampus auszulösen (Bliss & Lomo 1973; Errington et al. 1987; Lynch et al. 1989; Alger & Teyler 1976; Alle et al. 2001). Daraus ergibt sich die erste Frage:

- 1) Wie verändern sich die Aktivitäten in lokalen (d.h. im Gyrus dentatus) und globalen neuronalen Netzwerken in Abhängigkeit von dem Muster der TP Stimulation? Dabei soll sowohl die Anzahl von hochfrequenten Pulsen je Sekunde (20, 50, 100 Pulse) als auch die Dauer der Gesamtstimulation (8 s bzw. 30 s) variiert werden.

Des Weiteren zeigten vorhergehende Arbeiten, dass hochfrequente elektrische Stimulationen des TP als bedingter Reiz für das Erlernen einer aktiven Vermeidungsreaktion genutzt werden kann und der gleiche Stimulus, nachdem er Verhaltensrelevant wurde (als Prädiktor für einen kommenden Fußschock), signifikante fMRT Signaländerungen in Zielregionen der hippocampalen Formation induziert, die in untrainierten Tieren nicht zu finden waren (Angenstein et al. 2013). Da alle im fMRT zusätzlich dargestellten Regionen auch Zielgebiete des mesolimbischen DA-Systems sind, ergaben sich folgende Fragestellungen:

- 2) Kann durch eine hochfrequente Stimulation des TP das mesolimbische DAerge System aktiviert werden? Genauer gesagt, kann durch eine Hochfrequenz-Stimulation des TP eine signifikante BOLD Antwort in der VTA/Sn Region und/oder eine durch *in vivo* FSCV nachweisbare DA-Freisetzung in einer Zielstruktur des mesolimbischen Systems (NAcc) induziert werden?
- 3) Welche Bedeutung hat das DA System für die Hippocampus-abhängige Aktivierung globaler neuronaler Netzwerke? Diese Frage soll mit Hilfe von DA-Rezeptor- Antagonist oder Agonist untersucht werden, der vor einer Hochfrequenz-Stimulation des TP appliziert werden soll.

### 3 Material und Methoden

#### 3.1 Herkunft, Zucht und Haltung

Für alle Experimente wurden ausschließlich männliche Versuchstiere genutzt, die aus der etablierten Zucht des Leibniz-Instituts für Neurobiologie in Magdeburg stammten. Verwendet wurden Wistar-Ratten des Stammes „Hannover“ der Firma „Charles River“ (Stammbezeichnung Crl:WiHan) und der Firma Janvier (Stammbezeichnung: RjHan:Wi). Die Haltung der Versuchstiere erfolgte unter Laborbedingungen bei  $24 \pm 2$  °C, 50-60 % Luftfeuchtigkeit und 12 L:12 D Licht-Regime (Licht an: 6.00 Uhr). Zunächst wurden die Tiere in Gruppe in Makrolon-Käfigen (M4, Bioscape; Castrop-Rauxel, Deutschland) gehalten. Mit Versuchsbeginn (Präparation) wurden die Ratten in Makrolon-Käfige (M3, Bioscape; Castrop-Rauxel, Deutschland) mit Metallgitter-Abdeckung untergebracht. Es standen sowohl Nahrung (Ssniff, R/M-H, Soest, Deutschland) als auch Wasser *ad libitum* zur Verfügung. Die Genehmigung zur Durchführung der Tierversuche wurde von der Landesbehörde des Bundeslandes Sachsen-Anhalt erteilt (Tierversuchs-Antrag-Nr.: 203.h.-42502-2-705lfN).

#### 3.2 Präparation und Elektrodenimplantation

Zum Zeitpunkt der Präparation waren die Versuchstiere 8 bis 9 Wochen alt und hatten ein Gewicht von 270 g bis 320 g. Für die Implantierung der Elektroden wurden die Ratte zunächst mit Pentobarbital (40 mg/kg i.p.) narkotisiert. In Abhängigkeit vom Wachzustand des Tieres wurde in variablen Zeitabständen die Narkose durch weitere Injektionen (40 mg/kg i.p.) aufrecht erhalten. Das Versuchstier befand sich für die gesamte Durchführung der Präparation in einer stereotaktischen Apparatur (TSE Systems, Bad Homburg, Deutschland bzw. STOELTING, Wood Dale, Vereinigte Staaten von Amerika). Zunächst wurde das Tier über Ohrenstifte fixiert und mit Einhaken der Schneidezähne im Zahnhalter stabilisiert. Anschließend wurden die Fellhaare an der Kopfoberseite zwischen beiden Ohren entfernt. Die Haut über dem Schädeldach wurde mittels eines Skalpells entlang der seitlichen Sagittallinie durchtrennt und leicht mit Arterienklemmen fixiert. Die Schädeloberfläche

wurde mit einem Heidemannspatel von der pergamentartigen Knochenhaut freigelegt und mit 3%-iger Wasserstoffperoxid-Lösung gereinigt und desinfiziert. Im Anschluss wurde der Abstand von Bregma und Lambda auf dem Schädel ermittelt und gegebenenfalls so korrigiert, dass Bregma und Lambda in derselben horizontalen Ebene lagen. Die Koordinaten für das Einsetzen der Stimulations- und Ableitelektrode (sowie Referenz- und Erdungselektroden; Abbildung 3.1) konnten mit Hilfe eines Mikromanipulators auf dem Schädeldach markiert werden. Die Wahl der Koordinaten für die gewählten Gehirnareale erfolgte unter Zuhilfenahme des stereotaktischen Atlas (Paxinos & Watson 1998). Als Koordinaten wurden für die Position der bipolaren Stimulationselektrode ( $\varnothing$  114  $\mu\text{m}$ , Wolfram Teflon-isoliert, A-M Systems, Inc., Carlsborg, Vereinigte Staaten von Amerika) im *Tractus perforans* (anterior-posterior (AP): -6,9 mm; medio-lateral (ML): 4,1 mm; dorso-ventral (DV): 2,2-2,6 mm; Abbildung 3.1) und der monopolaren Ableitelektrode ( $\varnothing$  114  $\mu\text{m}$ , Wolfram Teflon-isoliert, A-M Systems, Inc., Carlsborg, Vereinigte Staaten von Amerika) im *Stratum granulare* des *Gyrus dentatus* (anterior-posterior (AP): -2,8 mm; medio-lateral (ML): 1,8 mm; dorso-ventral (DV): 3,2-3,6 mm; Abbildung 3.1) festgelegt und markiert. Beide MRT-kompatiblen, Teflon-isolierten Wolfram-Elektroden wurden zuvor mit Hilfe eines vom Institut entwickelten Spannapparates so vorbereitet, dass sie ausreichend stabil für die Implantierung waren. Hierfür wurden sie an 5 x 5 mm großer Pappe mit Kleber (Araldit Rapid 2-Komponentenkleber; Roth) befestigt. An den gesetzten Markierungen wurden minimale Bohrungen mit einem Zahnbohrer (Eickemeyer, Tuttlingen, Deutschland; mit Rosenkopfböhrer-Aufsatz 1,2 mm, Meisinger, Neuss, Deutschland) auf dem Schädeldach durchgeführt. Zur besseren Stabilisierung des späteren Sockels wurden nahe der Elektrodenposition zusätzlich drei Löcher in den Schädelknochen gebohrt, um Plastikschraben (0,80 x 0,125 mm, Plastics One Inc, Roanoke; Vereinigte Staaten von Amerika) einzusetzen. Als Referenz- und Erdungselektroden wurden zwei hakige Silberdrähte mit kugelförmiger Spitze ( $\varnothing$  125  $\mu\text{m}$ , A-M Systems, Inc, Carlsborg, Vereinigte Staaten von Amerika) zwischen Schädel und Dura epidural platziert und zusammen mit einer der Plastikschraben mit Zahnzement (Paladur, Heraus Kulzer GmbH, Wehrheim, Deutschland) befestigt. Für die exakte Positionierung beider Elektroden wurden die zuvor gesetzten Markierungen auf der Mittellinie zwischen Bregma und Lambda verwendet. Die Dura-Oberfläche wurde leicht mit Hilfe einer Kanüle angeritzt, um das Einbringen der Elektroden zu

erleichtern und das darunter liegende Gewebe zu schonen. Die korrekte Tiefenposition der Reiz- als auch der Ableitelektrode wurde mit der schrittweisen Senkung der Elektroden mittels Test-Pulsen eines Stimulators (A-M Systems, Inc, Carlsborg, Vereinigte Staaten von Amerika) kontrolliert. Die Tiefenposition der Elektroden wurde anhand der abgeleiteten Feldpotentiale mit Hilfe des Feintriebs schrittweise optimiert. Die Drähte der Reizelektrode als auch der Ableit- und Referenzelektrode wurden jeweils mit kleinen Plastiksockeln (PVC-P, ThyssenKrupp Plastics GmbH, Garbsen, Deutschland) verbunden, die später als Kontaktstellen zur elektrischen Versuchsapparatur dienten. Nach abschließender Elektrodenausrichtung wurde ein Gesamtsockel aus Zahnzement gebildet und die Wundränder mit medizinischem Heilpuder (Chlorhexidin Heilpuder, RIEMSER Pharma GmbH, Greifswald, Deutschland) versorgt. Insgesamt entstanden so zwei Kontaktstellen zur elektrischen Apparatur, bestehend aus einer bipolaren Stimulationselektrode und einer monopolaren Ableitelektrode. Abschließend wurde dem Versuchstier zur schnelleren Genesung ein Schmerzmittel subcutan (2,5 mg/kg Resflor, Merck MSD Animal Health GmbH, Unterschleißheim, Deutschland) verabreicht und in einen Einzelkäfig gesetzt. Ein Zeitraum von sieben bis zehn Tagen zwischen der Implantation der Elektroden und ersten Versuchsabläufen wurde für die Wundheilung eingeräumt.



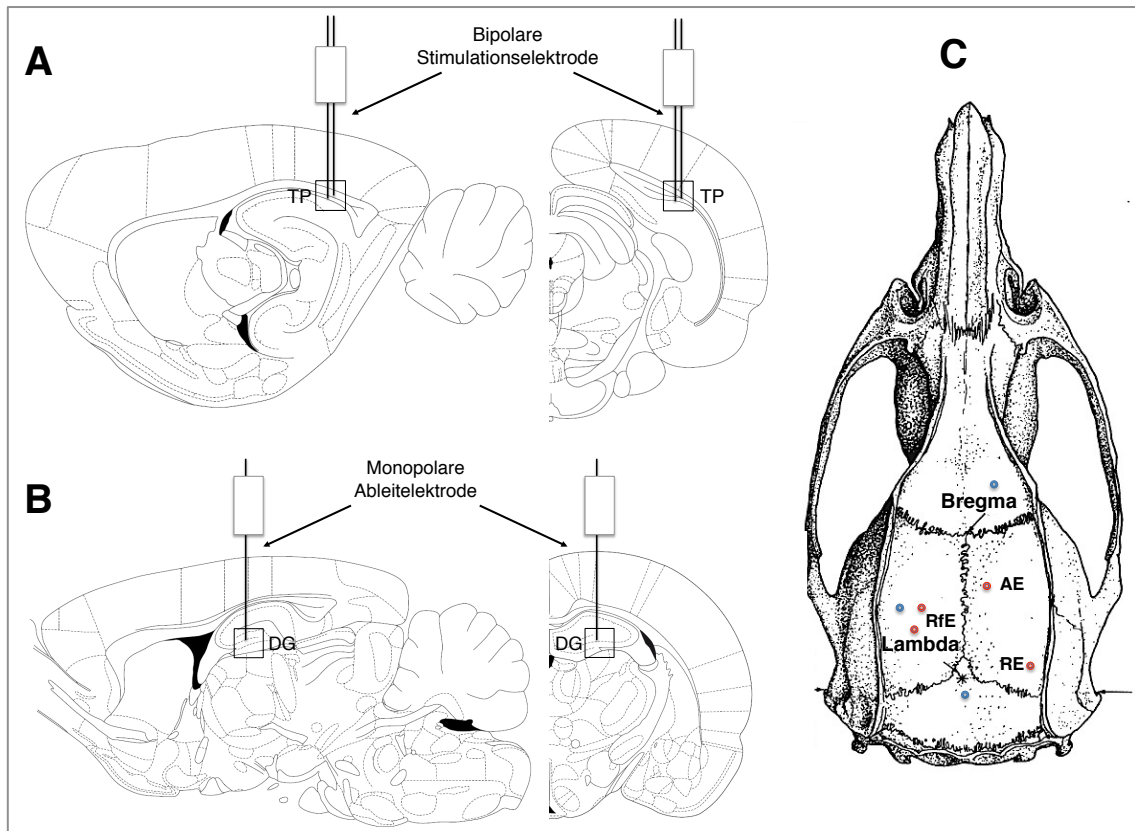


Abbildung 3.1 | Elektroden-Position für die kombinierte fMRT-Elektrophysiologie. Schematische Darstellung von Sagittal- und Frontalebene des Rattengehirns (Paxinos & Watson 1998). (A) zeigt die Position der bipolaren Stimulationselektrode im rechten Tractus perforans (TP), (B) zeigt die Position die Ableitelektrode im Gyrus dentatus (DG) und (C) die Position der Elektroden (rot) auf dem Schädeldach mit der Erde und Referenz (RfE). Zusätzlich sind die Platzierungen der Schrauben im Schädeldach markiert (blau).



### 3.3 Kombinierte fMRT und elektrophysiologische Aufzeichnung

#### 3.3.1 fMRT - Messung und Stimulationsprotokolle

Nach einem Zeitraum von mindestens 7 Tagen nach der Präparation wurden die Tiere für die anstehenden Versuche auf die Ableitbarkeit der Populations-Spike-Amplitude (PSA) überprüft. Dafür wurde das Tier am Versuchstag für die erste Immobilisierung mit Isofluran (1,5-1,8 % gemischt mit  $N_2O:O_2$ , 50:50 v:v) narkotisiert. Anschließend wurde die Ratte mit den oberen Vorderzähnen in der Zahnhalterung des kegelförmigen, schwenkbaren Kopfhalters fixiert. Die Steckvorrichtungen der Reiz- und Ableitelektrode am Rattenkopf wurden mit den jeweiligen Kabeln zu Stimulatoren und Verstärker verbunden (Abbildung 3.2). Bei den Versuchstieren, bei

denen die Registrierung der PSA durch eine Teststimulation (Impulsbreite 0,2 ms pro Halbwelle bei 400  $\mu$ A, A) möglich war, wurde die schwenkbare Kopfhalterung in die Spule gezogen. Ein MRT-kompatibler Sensor (Pulse Oxymeter, MouseOx TM, Star Life Sciences Corp. Pittsburgh PA, Vereinigte Staaten von Amerika) wurde am Fuß angebracht (Abbildung 3.2), welcher während des gesamten Experiments sowohl die Blut-Sauerstoffsättigung als auch die Atmungs- und Herzrate aufzeichnete. Für die fMRT-Messung wurde die initiale Isofluran-Narkose in eine tiefe Sedation überführt. Dafür wurde ein Anfangsbolus mit Medetomidin-hydrochlorid (Domitor ®, Pfizer GmbH, Karlsruhe, Deutschland; Bolus von 50  $\mu$ g/kg s.c.) injiziert und 15 min später vollständig auf die kontinuierliche Infusion von Medetomidin-Hydrochlorid (100  $\mu$ g/kg pro Stunde s.c.; Abbildung 3.2) umgestellt und die Isofluran-Inhalations-Narkose eingestellt (Weber et al. 2006). Die Körpertemperatur des Versuchstiers wurde durch eine ventrale Warmwasser Wärmeleitung (39-40 ° C) aufrecht gehalten.

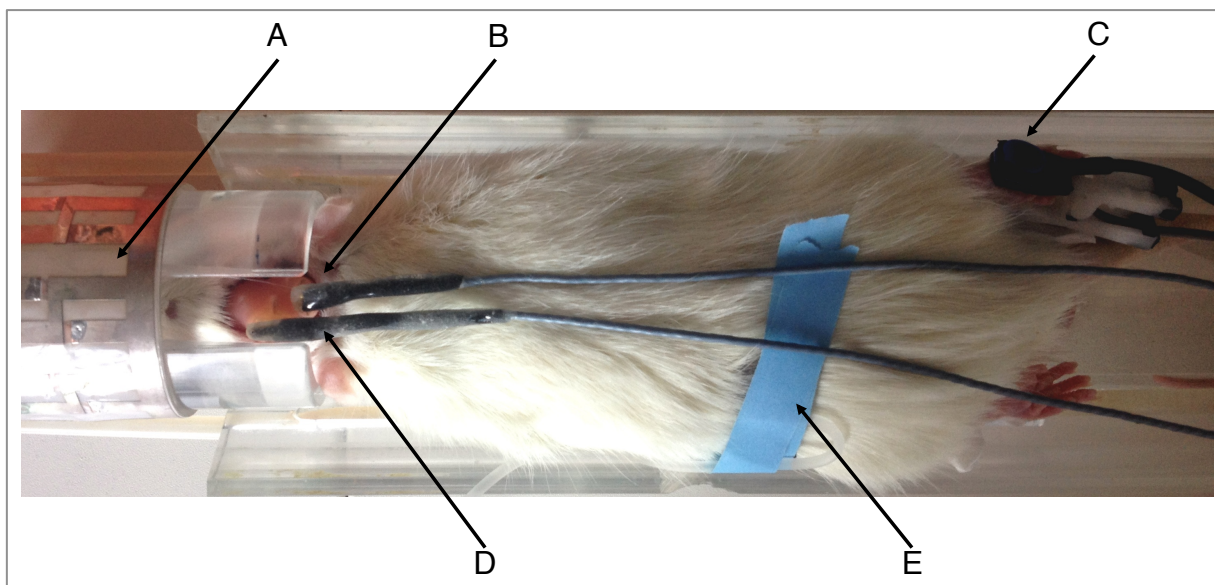


Abbildung 3.2 | Experimentaler Aufbau für die kombinierte fMRT-Elektrophysiologie mit Versuchstier. Ratte vor fMRT- Messung/Elektrostimulation außerhalb der Rattenspule (A) mit befestigtem Stimulations- (B) und Ableitkabel (D). Die Fuß-Halterung (C) diente der Aufzeichnung der physiologischen Parameter (Herzrate, Atemrate, Sauerstoffsättigung). Die angebrachte Kanüle (E) diente der Aufrechterhaltung der Sedierung während der fMRT-Messung.

Alle notwendigen MRT- und elektrophysiologischen Voreinstellungen wurden parallel vor Messbeginn des kombinierten fMRT-Elektrophysiologie Experiments durchgeführt.

Um die ausgelösten neurophysiologischen Signale (EPSP und PSA) im *Gyrus dentatus* aufzuzeichnen, bestand eine Verbindung von den Steckkontakten (Verbindung zur Stimulations- und Ableitelektrode; Abbildung 3.2 B und D) auf dem Schädel des Rattenhirns über flexible Kabel zu einem Verstärker (differential AC amplifier, Modell 1700, A-M System, Carlsborg, Vereinigte Staaten von Amerika), welcher die elektrophysiologischen Antworten für die Weiterverarbeitung verstärkte. Diese Signale wurden dann durch einen Analog/Digital-Wandler (CED 1401+; Cambridge Electronic Design, Cambridge, Großbritannien), in digitale Signal transformiert und letztendlich zu einem PC weitergeleitet. Auf dem PC wurden die Signale über eine spezielle Software (Intracell 1.5, Institut für Neurobiologie, Magdeburg, Deutschland) dargestellt und gespeichert. Diese aufgezeichneten Signale wurden zwischen 1 Hz und 5 kHz gefiltert und verstärkt. Für die ausschließlich verwendeten 100 Hz-Stimulationen wurde eine Aufzeichnungsrate von 5 kHz verwendet. Um zusätzlich eine EEG Kontrolle zu ermöglichen, bestand vom Verstärker aus eine weitere Verbindung zu einem Oszilloskop (HM 507, HAMAG Instruments, Mainhausen, Deutschland).

Für die Bestimmung der Stimulationsintensität des folgenden fMRT-Experiments erfolgte zunächst die Input/Output (I/O) Registrierung. Diese war zur Ermittlung der maximalen exzitatorischen, neuronalen Antwort auf die Reizstärken notwendig, um eine Kalkulation für die im eigentlichen Versuchsablauf notwendigen Stimulationsintensitäten zu ermöglichen (die eine spezifische prozentuelle Stärke des Antwortsignals darstellten). Für die Aufnahme der I/O-Kurve wurde der *Tractus perforans* der Versuchstiere mit biphasischen Impulsen stimuliert (0,2 ms pro Halbwelle), wobei aufsteigende Stimulationsintensitäten von 100 bis 600  $\mu\text{A}$  genutzt wurden. Bei jeder Stimulationsintensität wurden 3 Stimulationen mit einer Frequenz von 0,05 Hz durchgeführt, wobei das aufgezeichnete Potential (PS) unter Verwendung der Intracell Software gemittelt wurde. Zwischen den Stimulationsserien bei den unterschiedlichen Stimulationsintensitäten lag jeweils ein Zeitraum von 4 min. Aus der I/O Ermittlung wurden zum einen der 50%-Wert der Amplitude des Populationsspikes (PSA), sowie die entsprechenden Stimulationsintensitäten bestimmt.

Alle fMRT-Experimente wurden an einem 4,7 Tesla Bruker Biospec 47/20 Magnetresonanz-Scanner (Bruker Bio Spin MRI GmbH, Ettlingen, Deutschland) durchgeführt, der mit einem BGA09 (400 mT/m) Gradientensystem ausgerüstet ist.

Für die bildgebenden Verfahren wurde ein Kleintier-Spulensystems (50 mm, Doty Scientific Inc., Columbus, SC, Vereinigte Staaten von Amerika) mit einer Radiofrequenz (RF) Anregung und Signalaufnahme verwendet. Für die Erfassung und Verarbeitung der MRT-Daten diente die MRT-Software ParaVision 4.0 (Bruker Bio Spin MRI GmbH, Ettlingen, Deutschland). Die zehn horizontalen, anatomischen Spin-Echo-Aufnahmen (90°-180°-Pulsfolge, T<sub>2</sub>-gewichtet) wurden mit einer RARE-Sequenz (*rapid acquisition relaxation enhanced*) angefertigt (Hennig et al. 1986). Dafür wurden folgende Parameter verwendet: Repetitionszeit (*repetition time* - TR) 4000 ms, Echozeit (*echo time* - TE) 15 ms, Schichtdicke 0.8 mm, Sichtfeld (*Field of view* - FOV) 37 × 37 mm, Matrix 256 × 256, RARE-Faktor 8 mit 4 Mittellungen. Damit betrug die Messdauer für die anatomischen Aufnahmen insgesamt 8 min und 32 sec (Abbildung 3.4). Die funktionellen MRT (fMRT) Aufnahmen wurden unter Verwendung einer EPI (*echo planar imaging* - EPI) Sequenz mit folgenden Parametern aufgezeichnet: TR 2000, TE 24 ms, Schichtdicke 0.8 mm, FOV 37 × 37 mm, Matrix 92 × 92. Dabei wurde die Anzahl der aufgenommenen horizontalen Bildschichten (10 Schichten) an die der anatomischen Spin-Echo-Sequenz angepasst. Die funktionelle Aufnahme während der hochfrequenten Stimulation des *TP* dauerte insgesamt 18 min (Beispiel siehe Abbildung 3.4). Diese aufgezeichneten fMRT Messungen wurden nach Beendigung des Experiments exportiert.

Im Anschluss an die fMRT Messung wurde dem Versuchstier Atipamezoli-hydrochloridum (50 µg/kg s.c., Antisedan<sup>®</sup>, Provet AG, Lyssach, Schweiz) injiziert.

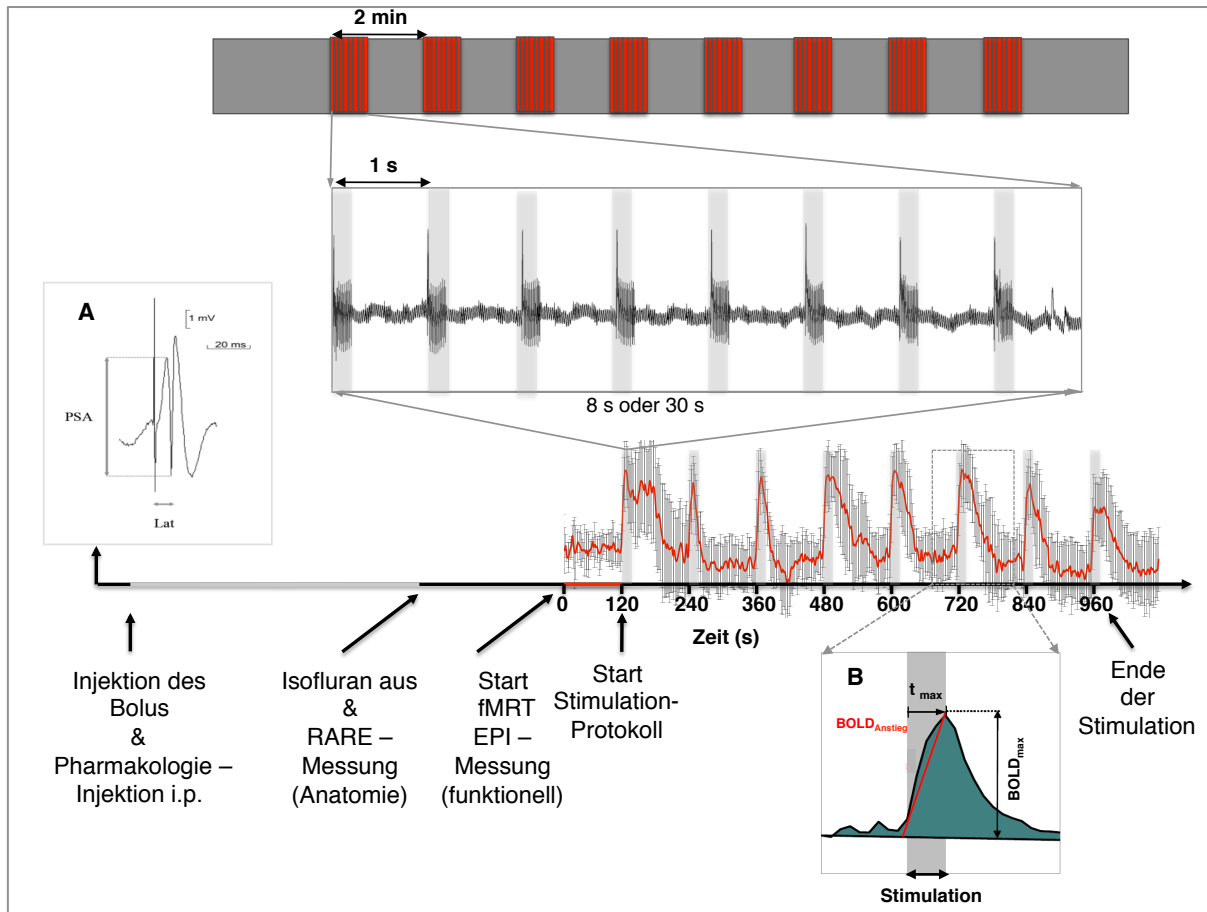


Abbildung 3.3 | Verlauf der fMRT-Messung und elektrophysiologischen Aufzeichnung. (A) Für die Stimulation während der fMRT-Messung wurden die elektrophysiologischen Antworten zunächst durch eine Teststimulation (biphasische, stromkonstante Impulse; 0,2 ms) nach Eintritt der Narkose geprüft. Dabei wurde, wie in allen neurophysiologischen Messungen, auch die Populations-Spike-Amplitude (PSA) und die Latenz (Lat) gemessen. Im Anschluss erfolgte die Injektion des Bolus für die Sedierung und die Registrierung der I/O. Nach Ende der anatomischen Messung (RARE-Sequenz) wurde die funktionelle MRT-Messung (EPI-Sequenz) gestartet. Der Start eines Stimulationsprotokolls (oberes Bild: 20 Pulse bei 100Hz) erfolgte 120 s nach Beginn der fMRT Messung. Im Abstand von 120 s erfolgte eine Stimulationsphase (graue Schraffur). Die rote Linie über der Zeitlinie stellt den Zeitverlauf der BOLD-Signalintensitäten dar. Die Änderung der Signalintensität während der Stimulation des TP wurde in mindestens 8 Stimulationsphasen gemessen. (B) Aus den erfassten, gemittelten BOLD-Signalintensitäten aller Phasen konnten Parameter, wie der BOLD Anstieg ( $BOLD_{Anstieg}$ ), die maximal generierte BOLD Antwort ( $BOLD_{max}$ ) und die Zeit bis zum erreichten Maximalwert ( $t_{max}$ ) für die jeweilige Hirnregion ermittelt werden.



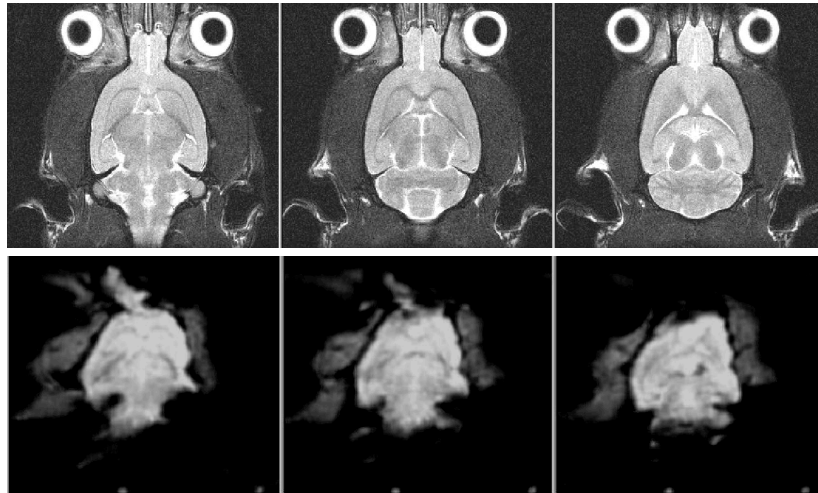


Abbildung 3.4 | Ausschnitt der anatomischen RARE-Messung (obere 3) im Vergleich zu den dazugehörigen Abbildungen der funktionellen EPI-Messung (untere 3 Bilder).

### 3.3.2 Stimulationsprotokolle

Für alle Untersuchungen wurde der *Tractus perforans* mit hochfrequenten, elektrischen Pulsfolgen stimuliert. Die oben beschriebenen Parameter für eine mehrschichtige funktionelle Aufnahme benötigen 2 s für einen Datensatz. Die im Millisekunden-Bereich stattfindenden elektrophysiologischen Prozesse sind für diese im Sekunden-Bereich messbaren funktionellen MRT Aufnahmen zu kurz, um sie bildgebend darstellen zu können. Daher wurden die präsentierten, hochfrequenten (100 Hz) elektrophysiologischen Stimulationsprotokolle an die funktionelle Bildgebung des MRTs angepasst. Durchgeführt wurde eine Blockstimulation (Stimulations-Abschnitt) mit einer Stimulationsphase und einer Ruhephase. Die neurophysiologische Antwort im *Gyrus dentatus* (DG) wurde ausschließlich in der Stimulationsphase aufgezeichnet. Insgesamt wurden mindestens 8 Stimulationsphasen mit nachfolgender Ruhephase aufgenommen und später ausgewertet (Abbildung 3.5). Der Abstand zwischen zwei Stimulationsphasen betrug in allen Experimenten konstant 120 s. Wie in Abbildung 3.3 dargestellt, wurde die fMRT Messung immer 120 s vor dem Beginn des Stimulationsprotokolls gestartet. Nach Beendigung des Stimulationsprotokolls wurde das fMRT Experiment für mindestens 60 s weitergeführt. Zum Teil bestand eine fMRT Untersuchung aus zwei Stimulations-Abschnitten (Abbildung 3.5), die am gleichen Versuchstier hintereinander durchgeführt wurden.

### *3.3.2.1 Hochfrequente elektrische Stimulation des TP mit 20 Pulsen*

Für die Untersuchung des Einflusses einer hochfrequenten Stimulation mit kurzer Pulsfolge auf die BOLD-Antwort und die neuronale Veränderung im Rattengehirn, erfolgte die Stimulation des TP mit einer Reizfolge von 20 Pulsen (oder 200 ms pro Sekunde), präsentiert mit einer Frequenz von 100 Hz und einer Impulsdauer von 0,2 ms und einer Interpulszeit von 10 ms. Für dieses Muster wurden 50 %ige Stimulationsintensitäten des maximalen PSA verwendet. Zunächst wurde der Einfluss der Stimulationslänge (8 s oder 30 s) in den Versuchen variiert. Um gleichzeitig den Einfluss der Stimulationsintensität auf die resultierende BOLD-Antwort zu untersuchen, wurde ein zweiter experimenteller Ansatz gewählt. Hierfür wurde der TP im ersten Versuchsabschnitt innerhalb eines fMRT-Experiments mit 50 %iger Intensität des maximal erreichten PSA-Werts stimuliert (bei etwa 200-300  $\mu$ A). Im zweiten Versuchsabschnitt des gleichen fMRT Experiments wurde die Stimulationsintensität verdoppelt.

In einer weiteren Teilversuchsreihe erfolgten ebenfalls pharmakologische Untersuchungen mit einem  $D_{1/5}$ -Rezeptor-Antagonisten (SCH23390), einem NMDA-Rezeptor-Antagonisten (MK801) und dem  $D_{1/5}$ -Rezeptor-Agonisten (SKF83959).

### *3.3.2.2 Hochfrequente elektrische Stimulation des TP mit 50 Pulsen*

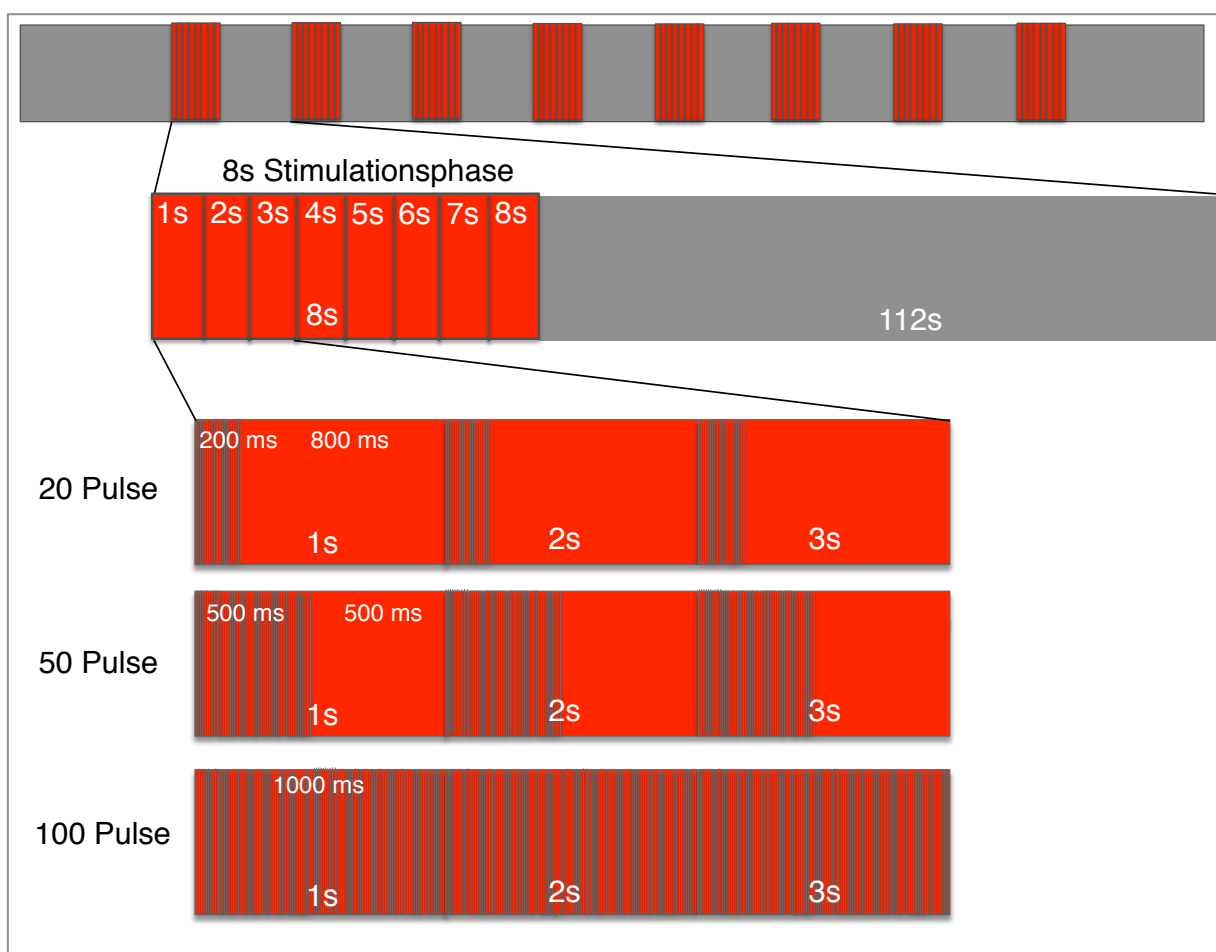
Zur Darstellung eines Übergangs zwischen diskontinuierlicher Stimulation mit kurzer Pulsdauer und kontinuierlicher Stimulation mit 100 Pulsen wurde eine Teilversuchsreihe mit der Pulsanzahl von 50 (oder 500 ms pro Sekunde) gewählt. Die Frequenz (100 Hz), die Impulslänge (0,2 ms), als auch die Interpulszeit (10 ms) wurden dabei gleich der Stimulation mit 20 Pulsen gewählt.

### *3.3.2.3 Hochfrequente elektrische Stimulation des TP mit 100 Pulsen*

Für eine weitere Teilversuchsreihe wurde der Einfluss der Aktivierung des TP mit einer kontinuierlichen Stimulation bei einer Frequenz von 100 Hz auf die BOLD-Antwort und die evozierten Signale im DG untersucht. Mit einer Pulsdauer von

0,2 ms pro Halbwelle und einer Interpulszeit von 10 ms wurden die Parameter im Vergleich zur Stimulation mit 20 Pulsen nicht verändert. Die Anzahl der Pulse wurde auf 100 Pulse (bzw. 1000 ms pro Sekunde) erhöht.

Um das Zusammenspiel von glutamaterger und dopaminerger Rezeptoraktivierung während der TP-Stimulation zu untersuchen, wurde auch für dieses Stimulationsmuster der Einfluss von  $D_{1/5}$ -Rezeptorantagonisten (SCH23390) und einem NMDA-Rezeptorblocker (MK801) sowie einer Kontrolle (NaCl) auf die elektrophysiologischen Antworten im DG und den BOLD-Signalintensitätsveränderungen geprüft.





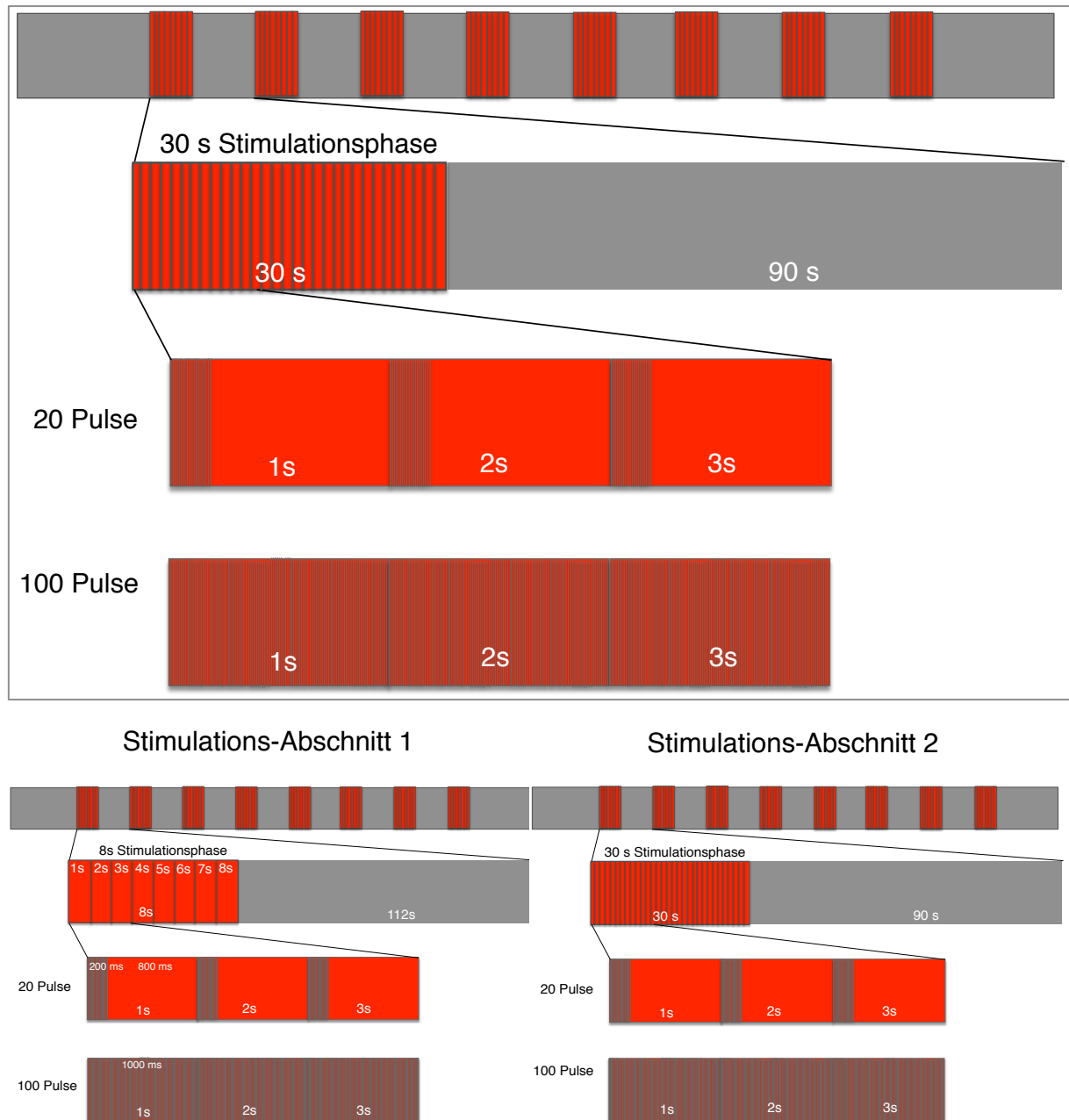


Abbildung 3.5 | Übersicht der Stimulationsparadigmen der fMRT-Elektrophysiologie-kombinierten Untersuchungen. (A) Der ipsilaterale TP wurde entweder in einem oder in zwei aufeinander folgenden Stimulations-Abschnitten (Block-Stimulation) stimuliert. Jeder dieser Stimulations-Abschnitte bestand aus mindestens 8 aufeinander folgenden Stimulationen. Jede Stimulationsphase dauerte entweder 8 s (kurz) oder 30 s (lange) Stimulation (rot) mit anschließend 112 s (bei kurzer Stimulation) oder 90 s (bei langer Stimulation) Ruhephase (grau). In Abhängigkeit vom gewählten Stimulationsmuster wurde innerhalb einer Stimulations-Sekunde der TP mit 20 Pulsen (200 ms Pulspräsenation, 800 ms Pause), 50 Pulsen (500 ms Pulspräsenation, 500 ms Pause) oder 100 Pulsen (1000 ms kontinuierliche Pulspräsenation) angeregt. Die Interpulszeit betrug bei jedem Stimulationsmuster 10 ms. Der Einfluss der Puls- oder Stimulationsdauer wurde zum Teil innerhalb eines fMRT Experiments mit 2 Stimulations-Abschnitten untersucht. Pharmakologische Untersuchungen wurden immer nur innerhalb eines Stimulations-Abschnitts durchgeführt.

### 3.3.3 *Pharmakologie*

Für die pharmakologischen Untersuchungen innerhalb der einzelnen experimentellen Messungen erfolgten generell intraperitoneale Applikationen mit einem Gesamtvolumen von 2000 µl, dies beinhaltete die wirksame Substanz mit dem entsprechenden Lösungsmittel. Dabei kamen für die einzelnen Versuchskomplexe folgende pharmakologische Substanzen mit den angegebenen spezifischen Konzentrationen zum Einsatz:

#### *Diskontinuierliche Stimulation (20 Pulse bei 100 Hz, 8s)*

- D<sub>1</sub>-Rezeptor-Agonist SKF83959 (2,0 mg/kg, Tocris, Bristol, Großbritannien)
- D<sub>1/5</sub>-Rezeptor-Antagonist SCH23390 (0,2 mg/kg, Sigma-Aldrich Steinheim, Deutschland)
- NMDA-Rezeptor-Antagonist MK801 (0,5 mg/kg, Tocris, Bristol, Großbritannien)
- 0,9% physiologische Kochsalzlösung (pharmakologische Kontrollgruppe)

#### *Kontinuierliche Stimulation (100 Pulse bei 100 Hz, 8 s)*

- D<sub>1/5</sub>-Rezeptor-Antagonist SCH23390 (0,2 mg/kg, Sigma-Aldrich Steinheim, Deutschland)
- NMDA-Rezeptor-Antagonist MK801 (0,5 mg/kg, Tocris, Bristol, Großbritannien)
- 0,9 % physiologische Kochsalzlösung (pharmakologische Kontrollgruppe)

### 3.3.4 *Datenanalyse und Auswertung fMRT-Elektrophysiologie*

#### *3.3.4.1 fMRT Datenverarbeitung und Auswertung*

Die Analyse der gemessenen funktionellen Daten erfolgte anhand der BrainVoyager QX Software Version 2.6 (Brain Innovation, Maastricht, Niederlande). Dafür wurden die anatomischen und funktionellen Datensätze zunächst aus dem Bruker MRT-Format in ein BrainVoyager kompatibles Format umgewandelt. Für die

anschließende Analyse wurden die erfassten Daten zunächst weiter vorbereitet. Hierfür wurde zunächst eine 3D-Bewegungskorrektur (trilineare Interpolation) und eine zeitliche Glättung durchgeführt (high pass GLM-Fourier: 3 Sinus/Kosinus und ein Gauss Filter; FWHM 3 Datenpunkte). Der Highpass-Filter wurde genutzt, um die verursachten kleineren Frequenz-Abweichungen vom (Voxel-) Zeitverlauf aufzuheben. Obwohl die Signale in einer 92 x 92 Matrix aufgenommen wurden, erfolgte die Rekonstruktion der funktionellen Daten durch ParaVision mit einer 128 x 128 Matrix. Daher wurde zusätzlich eine räumliche Filterung (Gauss Filter, 1,4 Voxel) durchgeführt. Für jedes Voxels wurde die Korrelation zwischen Signalintensitäts-Änderung und der von dem Stimulationsprotokoll gemessenen Vorhersage (HRF-Funktion) berechnet. Die Wahrscheinlichkeit für diese Korrelation wurde mit einer Aktivierungskarte erstellt. Zur Berechnung der Vorhersage (Prädiktor) wurde die Rechteckfunktion, die das An- und Ausschalten der Stimulus-Bedingungen simuliert und durch eine Gamma-Funktion der hämodynamischen Antwort (Beginn 0 s, Zeit bis Maximum 5 s, die Zeit bis unterschreiten des Maximums 15 s) ersetzt. Für die Darstellung der Stimulus-abhängigen Aktivität wurden nur die Voxel mit einem Signifikanzniveau von  $p \leq 3,6 \times 10^{-9}$  ( $t_{\min} = 6$ ) für die Analyse einbezogen, was deutlich über der Schwelle der durch die Berechnung der *False Discovery Rate* (FDR) mit einem Q-Wert von 0,05 (entspricht dem t-Wert von größer als 3 oder  $p < 0,005$ ) lag. Die zeitlichen Verläufe der BOLD-Antworten für die einzelnen Regionen stellen Variationen in den BOLD-Signalintensitäten aller signifikant aktivierten Voxel in der entsprechenden Region dar (*region of interest* - ROI). Die in allen Abbildungen dargestellten BOLD-Zeitreihen sind die gemittelten Durchschnittswerte aller gemessenen BOLD-Signalverläufe der einzelnen Versuchstiere mit den jeweils zugehörigen Standardabweichungen (Stabw).

Für die Darstellung einer mittleren BOLD (fMRT) Antwort wurden jeweils 10 Datenpunkte (1 Datenpunkt = 2 s) vor Beginn der Stimulationsphase, 4 bzw. 15 Datenpunkte während der Stimulation (Zeitintervall von 0 s bis 8 s bzw. 0 bis 30 s) und 46 bzw. 30 Datenpunkte nach Stimulationsende (10 s bis 100 s) gemittelt.

Für einen Überblick der dreidimensionalen Verteilung der signifikant aktivierten Voxel während der jeweiligen Stimulations-Kondition wurden fMRT Datensätze an ein 3D Rattenhirn mittels anatomischer Landmarken angepasst. Diese Datensätze wurden mit einer linearen Regressions-Analyse weiterverarbeitet (*general linear model* –

GLM, und *Multi-Subject Analyse* in BrainVoyager QX Software). Die Signifikanzschwelle wurde auf  $t_{\min} = 6$  ( $p < 3,6 \times 10^{-9}$ ) gesetzt. Alle signifikant aktivierten Voxel wurden in „*volumes of interest*“ (VOI) umgewandelt, aus denen die aktivierten Cluster hervorgingen.

Neben den zeitlichen Verläufen der BOLD-Signalintensitätsänderung in den einzelnen Hirnregionen (ROI) mit signifikanter BOLD-Aktivität, wurde auch die Größe der aktivierten Region bestimmt. Hierfür wurde für jedes einzelne ROI die signifikant aktivierten Voxel (bei dem jeweiligen Schwellenwert,  $p < 3,6 \times 10^{-9}$ ) ausgezählt. Der ausgegebene BOLD-Zeitverlauf für die spezifische ROI konnte zusätzlich als Textdatensatz gespeichert und später für weitere Auswertungen in Excel 2007 importiert werden. Folgende ROIs wurden analysiert: ipsilateral und contralateraler Hippocampus (HC), die entorhinalen Cortices (ipsilateral und contralateral, EC), der Nucleus accumbens (NAcc), des anterioren Cingulum / medialen präfrontalen Cortex (mPFC/ACi) und der ventrale Tegmentum/Substantia nigra - Region (VTA/Sn). Der Signal-Intensitäts-Verlauf der einzelnen Regionen wurde wiederum für jede Stimulationsphase einzeln kalkuliert, um eine mögliche Variation der BOLD-Signalintensität zwischen den Stimulationsphasen auszuschließen. Hierfür wurde der jeweilige Stimulationszeitraum (15 Datenpunkte bzw. 30 s vom Stimulationsanfang) mit dem dazugehörigen Zeitraum vor Stimulationsbeginn verglichen (10 Datenpunkte bzw. 20 s vor dem Stimulationsanfang). Für die statistische Auswertung wurde aus diesem Signal-Wert der maximale BOLD-Wert ( $BOLD_{\max}$ ), der Anstieg ( $BOLD_{\text{Anstieg}}$ ) als auch der Zeitpunkt des erreichten maximalen BOLD ( $t_{\max}$ ) bestimmt.

### 3.3.4.2 Auswertung der elektrophysiologischen Daten

Die elektrische Stimulation des rechten TP erfolgte mit 0,2 ms langen, bipolaren Pulsen. Für die extrazelluläre Ableitung der induzierten, neuronalen Aktivität wurden die Feldpotentiale im *Stratum granulare* im rechten *Gyrus dentatus* aufgezeichnet. Folgende Parameter wurden aus dem Kurvenverlauf der aufgezeichneten Feldpotenziale bestimmt: (1) Das exzitatorische post-synaptische Potential (EPSP) berechnet als Anstieg der aufsteigenden Flanke (Johnston & Wu 1995). (2) Die Amplitude des Summenaktionspotentials (*population spike amplitude* - PSA), also die gemeinsamen Entladungen der Körnerzellen, berechnet aus der Differenz zwischen Maximalwert der aufsteigenden Flanke und Minimalwert

der sinkenden Flanke. (3) Die Latenz des Summenaktionspotentials wurde als Intervall zwischen Stimulationsbeginn und Maximalwert gemessen (Abbildung 3.3 A). Für die durchgeführten und ausgewerteten Versuche waren jedoch ausschließlich die PS-Amplitude und die PS-Latenz von Bedeutung, da das EPSP aus dem gemessenen Signal vermutlich ein gemischtes Feldpotential darstellt, das sich aus synaptischer Aktivität und PSA zusammensetzt (Frey & Frey 2009). Als Konsequenz daraus wurden ausschließlich die Latenz (PSL) und die Populationsspike Amplitude (PSA) aus den Aufzeichnungen bestimmt. Die mit *Intracell* aufgezeichneten Daten wurden für die Kalkulation der elektrophysiologischen Daten in Excel 2007 exportiert und analysiert. Die neuronale Verarbeitung der Stimulationsmuster im Gyrus dentatus wurde ausschließlich auf die Spiking-Aktivität bezogen. Hierfür konnte, Stimulus-bedingt, in den meisten Fällen nur die erste PSA und die Latenz ausgewertet werden, da es bei einer 100 Hz Stimulation selten zur Entwicklung eines zweiten Summenaktionspotentials pro Sekunde kam.

### 3.4 Zyklische Voltammetrie – *Fast Scan Cyclic Voltammetry* (FSCV)

Für die elektrochemischen *in vivo* Experimente wurden aus technischen Gründen nur akute Untersuchungen an Versuchstieren durchgeführt. Hierfür wurde das Versuchstier, im Gegensatz zur Implantierung der chronischen Elektroden, mit dem Injektions-Narkotikum Urethan (1,5 g/kg) behandelt. Urethan ist ein bewährtes Narkotikum für elektrochemische *in vivo* Untersuchungen mittels der zyklischen Voltammetrie (*fast-scan cyclic voltammetry* - FSCV), im Gegensatz zu Pentobarbital beeinflusst es die Freisetzung von Katecholaminen (Noradrenalin und Dopamin) nicht (Sabeti et al. 2003).

Die Ratte wurde zunächst, genau wie bereits in 3.2 beschrieben, in der stereotaktischen Apparatur (STOELTING, Wood Dale, Vereinigte Staaten von Amerika) fixiert und die Schädeloberfläche freigelegt. Zunächst sollte die exakte Platzierung der Stimulationselektrode im *Tractus perforans* gewährleistet sein. Hierfür wurden die Koordinaten für die Stimulations- und Ableitelektrode mit Hilfe eines Mikromanipulators auf dem Schädel markiert. Die Position der bipolaren Stimulationselektrode (Ø127 µm Stahl Teflon-isoliert, A-M Systems, Inc., Carlsborg, Vereinigte Staaten von Amerika) im TP (anterior-posterior (AP): -6,9 mm; medio-lateral (ML): 4,1 mm; dorso-ventral (DV): 2,2-2,6 mm; Abbildung 3.6 A) und der

monopolaren Ableitelektrode ( $\varnothing 114 \mu\text{m}$ , Wolfram Teflon-isoliert, A-M Systems, Inc., Carlsborg, Vereinigte Staaten von Amerika) im Stratum granulare des Gyrus dentatus (anterior-posterior (AP): -2,8 mm; medio-lateral (ML): 1,8 mm; dorso-ventral (DV): 3,2-3,6 mm; Abbildung 3.6 A) entsprach der Position der Elektroden der fMRT-Elektrophysiologie-kombinierten Experimente. Zur Reduzierung der elektrischen Störungen während der zyklischen Voltammetrie wurde die Ableitelektrode nach Ausrichtung der Reizelektrode wieder entfernt. Für die elektrochemischen Untersuchungen im Nucleus accumbens (NAcc) wurden zusätzlich Löcher für die eigentliche Carbonfaser-Ableitelektrode (anterior-posterior (AP): +1,4 mm; medio-lateral (ML): 1,2 mm; dorso-ventral (DV): 7,0-7,8 mm; Abbildung 3.6 A) und für die Referenzelektrode (Ag/AgCl) im Schädeldach gebohrt (Abbildung 3.6 D). Die Ag/AgCl-Referenzelektrode wurde aus in 0,1 M HCl oxidierten Silberdraht (0,5 mm  $\varnothing$ , Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, Vereinigte Staaten von Amerika) angefertigt. Für eine gute elektrochemische Ableitung wurde diese Ag/AgCl-Referenzelektrode contralateral nahe der Ableitelektrode platziert (Abbildung 3.6 D).

Der elektrochemische Nachweis einer Dopamin-Freisetzung im NAcc wurde mit einer polymer-umhüllten Carbonfaser-Elektrode erfasst (7  $\mu\text{m}$   $\varnothing$ , ~ 100  $\mu\text{m}$  Länge; Toray Carbon Fibers America, Inc., Santa Ana, CA, Vereinigte Staaten von Amerika). Diese sensitiven Elektroden wurden nach einer Methode angefertigt, die vom „*Department for Physiology and Biomedical Engineering*“ der Mayo Clinic in Rochester entwickelt wurde (Min et al. 2012). Speziell die Isolierung und die Form der Spitze der Elektroden verbessern die Sensitivität zur Erfassung von freigesetzten Katecholaminen. Die Tiefe der Carbonfaser-Elektrode wurde mit Hilfe des Atlas (Paxinos & Watson 1998) bestimmt und mittels des stereotaktischen Mikromanipulators ausgerichtet. Beide positionierten Elektroden waren über eine kalibrierte 2-Elektroden-Head-stage (Invilog Research Ltd, Kuopio, Finnland) mit einem Potentiostaten (Invilog Research Ltd, Kuopio, Finnland) verbunden, der die abgeleiteten Spannungsströme misst. Die resultierenden Voltammogramme wurden durch einen triangulären Spannungsverlauf (Scan-Rate: 10 Hz, Ruhepotential: -0,4 V, Wechsellpotential: +1,5 V, 400 V/s, Abbildung 3.6 C), der durch ein zunächst ansteigendes und anschließend abfallendes Potential gekennzeichnet ist, angelegt. Die Generierung des wellenförmigen Spannungsverlaufs und die Datenaufzeichnung wurden durch eine Software (Acquisition & Stimulation A&S, Invilog Research Ltd, Kuopio, Finnland)

aufgezeichnet und anschließend durch FSV Analyse Software, welche die elektrochemischen Messungen durch die Verbindung zu einem Computer digitalisiert, analysiert (FSCV Analyse; Invilog Research Ltd, Kuopio, Finland).

Die elektrochemische Aufzeichnung erfolgte während der Stimulation des *Tractus perforans* (100 Pulse bei 100 Hz für 8 s, 50 % Pulsintensität: 200-300  $\mu$ A, Impulsbreite 0,2 ms). Die Konzentration jedes Stimulations-Experiments mit Dopamin-Freisetzung wurde anschließend in einer Post-Kalibrierungs-Messung mit der genutzten Carbonfaser-Elektrode anhand einer hergestellten Dopamin-Lösung (0,1 bis 2 M) bestimmt.

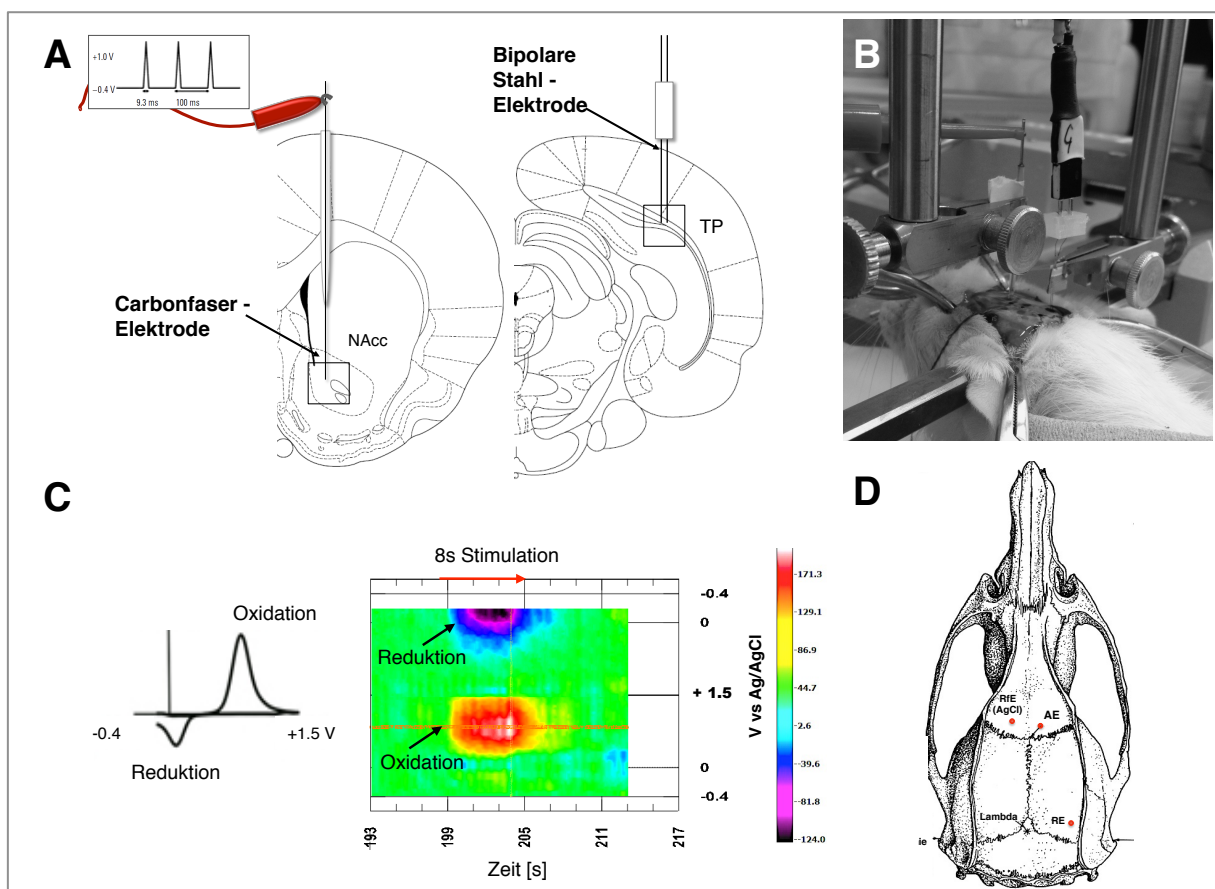


Abbildung 3.6 | Versuchsaufbau der akuten Präparation für die FSCV. (A) Dargestellt sind die Position der Stahl-Stimulationselektrode im rechten TP und die Platzierung der elektrochemischen Ableitelektrode im NAcc. (B) Versuchsaufbau der akuten Versuche mit fixiertem Versuchstier in Stereotaxie und den positionierten Elektroden. (C) Während der hochfrequenten Stimulation wurde das elektrochemische Signal in einem „Pseudocolorplot“ (rechtes Bild) visualisiert. Die durch die Stimulation freigesetzten Katecholamine (hier am Beispiel von Dopamin) besitzen spannungsabhängige Oxidations- und Reduktionspunkte (reduziert bei -0,2 V, oxidiert bei +0,6 V), hier im linken Graph dargestellt. (D) Die Position der Elektroden auf dem Schädeldach des Versuchstiers. Die Ag/AgCl-Referenzelektrode (RfE) wurde nahe der elektrochemischen Ableitelektrode (AE) platziert. Die Position der Stimulationselektrode (RE) wurde (wie in den fMRT Versuchen zuvor) im TP platziert.

### 3.5 Statistische Auswertung

Die Überprüfung auf Normalverteilung und die statistischen Datenanalysen (T-Test, Wilcoxon-Rang-Test, Mann-Whitney-Test, Pearson Korrelation) erfolgten mit dem Programm SPSS 19.0 für Windows. Alle Ergebnisse sind als Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung (MW  $\pm$  Stabw) angeben. Die Anzahl der Testtiere (n) wurde beim statistischen Vergleich von zwei Gruppen als Individuenanzahl je Gruppe und Test gekennzeichnet. Für die statistische Absicherung der Versuchsdaten kam zum Vergleich innerhalb der einzelnen Gruppen der parameterfreie Wilcoxon-Rang-Test zum Einsatz und zum Vergleich zwischen den Gruppen wurde der parameterfreie Mann-Whitney-Test eingesetzt. Demnach wurde für die Voxelanzahl, die maximale BOLD Antwort (BOLD<sub>max</sub>) und den Anstieg der hämodynamischen Antwort (BOLD<sub>Anstieg</sub>) zwischen den verschiedenen Stimulationsmustern und den pharmakologischen Versuchen ein Mann-Whitney-Test (nicht-parametrischer Mann-Whitney—Test) angewandt. Zusätzlich wurden die BOLD<sub>max</sub>, der BOLD<sub>Anstieg</sub> und t<sub>max</sub> der individuellen Stimulationsphasen innerhalb eines Stimulations-Abschnitts mit dem parameterfreien Wilcoxon-Rang-Test geprüft. Als Signifikanzniveau wurde  $p \leq 0,05$  festgelegt.



## 4 Ergebnisse

Die funktionelle Verbindung des Hippocampus (HC) zu den afferenten Zielregionen Nucleus accumbens (NAcc), medialer präfrontaler Cortex (mPFC/ACi) und der basolateralen Amygdala (BLA) sind von entscheidender Bedeutung für verschiedene kognitive Funktionen. In der vorliegenden Studie wurde untersucht, wie und unter welchen Bedingungen diese Strukturen gleichzeitig durch eine hochfrequente Stimulation (100 Hz) des ipsilateralen *Tractus perforans* (TP) aktiviert werden können. Mit Hilfe der funktionellen Magnetresonanztomographie (fMRT) und der gleichzeitigen elektrophysiologischen Ableitung im *Gyrus dentatus* (DG) wurde überprüft, auf welche Weise die Aktivität des Hippocampus und dessen Zielregionen während der Präsentation von drei verschiedenen hochfrequenten Stimulationsprotokollen des TP beeinflusst wird.

Um die Auswirkungen zeitlich variierender Hochfrequenz-Stimulationsmuster (100 Hz) des TP auf neuronale Schaltkreise im HC und resultierende BOLD (*blood oxygenation level dependent*) Antworten darzustellen, wurden fMRT, Mikrostimulation des TP und elektrophysiologische Ableitung im DG kombiniert. Elektrische Stimulation des rechten TP führt zu einer monosynaptischen Aktivierung von Neuronen im rechten DG, CA3, CA1 und *Subiculum* (Sub) sowie zu einer heterosynaptischen Aktivierung von Neuronen in der CA3-CA1 und Sub-Region. Somit eignet sich nur der DG für Untersuchungen über den Zusammenhang zwischen neuronaler Aktivität und der resultierenden BOLD-Antwort während zeitlich variierender Hochfrequenzstimulation.

### 4.1 Einfluss von Stimulationsdauer, Stimulationsintensität und Pulsanzahl auf die induzierte BOLD-Antwort in der hippocampalen Formation und deren Zielgebiete

In der ersten Studie sollte überprüft werden, wie zeitliche Veränderungen des Stimulationsprotokolls des ipsilateralen TP die Signalverarbeitung im HC beeinflussen und, ob eine Aktivierung afferenter Zielregionen des HC induziert werden kann. Zunächst wurden drei Modifikationen näher betrachtet: (i) Eine Verlängerung der Stimulationszeit bei gleichem Stimulationsmuster könnte so

zusätzliche Projektions-Neurone aktivieren. Hierfür wurden hochfrequente Stimulationsphasen bei gleichbleibendem Stimulationsmuster von 8 s und 30 s getestet. (ii) Eine Erhöhung der Stimulationsintensität bei gleichbleibendem Stimulationsmuster und gleicher Länge der Stimulationsphase (8 s) aktiviert mehr Fasern und könnte somit auch zusätzliche Projektionsneurone aktivieren. Daher wurde der TP bei gleichbleibendem Stimulationsmuster (20 Pulse bei 100 Hz) und gleichbleibender Länge der Stimulationsphase zunächst bei Standard-Stimulationsintensität (50 % der maximalen PSA  $\sim 250 \mu\text{A}$ ) und dann bei doppelter Stimulationsintensität ( $\sim 500 \mu\text{A}$ ) gereizt. (iii) Eine Verlängerung der Pulsfolge bei gleichbleibender Dauer der Stimulationsphase und gleicher Stimulationsintensität verändert das Eingangsmuster zu den DG Neuronen und kann somit die Aktivität neuronaler Kreisläufe beeinflussen. Hierfür wurden drei verschiedene 100 Hz-Stimulationsmuster, 20 Pulse (200 ms), 50 Pulse (500 ms) und 100 Pulse (1000 ms) angewendet. Zur vereinfachten Darstellung wurde hierbei für 100 Hz 20 Pulse die Bezeichnung „diskontinuierliche Stimulation“ und „kontinuierliche Stimulation“ für 100 Hz 100 Pulse gewählt. Falls nicht spezifisch angegeben, blieben die Parameter Puls-Intensität (50 % der maximalen PSA), Puls-Intervall (10 ms) und die Anzahl der Stimulationsphasen pro Stimulationsabschnitt in allen Versuchen unverändert.

#### 4.1.1 Stimulation des Tractus perforans mit 20 Pulsen je Sekunde

##### 4.1.1.1 Hämodynamische Effekte

Die Effekte kurzer (8 s) und langer (30 s) Stimulation des rechten *Tractus perforans* (TP) mit 20 Pulsen je Sekunde wurden an insgesamt 16 Versuchstieren getestet. Dafür wurden zwei experimentelle Ansätze verwendet. Zum einen wurden am gleichen Versuchstier die Effekte beider Stimulationszeiten nacheinander getestet (Abbildung 2.5), zum anderen wurde der Effekt der langen Stimulationszeit auf das BOLD-Aktivierungsmuster an einer separaten Gruppe untersucht. Der erste Ansatz hat den Vorteil, dass am gleichen Tier, d.h. unter exakt identischen Parametern (d.h. identische Elektrodenlokalisation, Sedationstiefe, Stimulationsintensität, Anatomie und Position im MRT) die Auswirkungen beider Stimulationsprotokolle untersucht werden konnte. Der Nachteil dieses

experimentellen Ansatzes besteht darin, dass eine Stimulationsphase durch die starke Aktivität zu funktioneller Reorganisation und damit funktionellen Veränderungen des HC führen kann, die nachfolgende Messungen mit einem veränderten Stimulationsprotokoll beeinflusst. Das könnte bedeuten, dass nachfolgend eingehende Stimulationen von einem funktional veränderten HC verarbeitet bzw. weitergeleitet werden. Der zweite experimentelle Ansatz kann diesen Effekt ausschließen.

Die BOLD-Antwort kann zum einen durch die Art der räumlichen Verteilung (aktivierte Voxel) definiert werden und zum anderen durch die Parameter der hämodynamischen Antwortfunktion (*hemodynamic response function* - HRF), wie der maximal generierten BOLD-Signalintensität ( $BOLD_{max}$ ), des erreichten Anstiegs der BOLD-Antwort ( $BOLD_{Anstieg}$ ) oder die damit verbundene Zeit zwischen Stimulationsbeginn und maximaler BOLD-Signalintensität ( $t_{max}$ ).

Die fMRT-Aufnahmen während der kurzen Stimulation des TP ergaben ein charakteristisches BOLD-Aktivierungsmuster im Rattenhirn, welches bereits in vorhergehenden Studien nachgewiesen werden konnte (Angenstein et al. 2007; Angenstein et al. 2010). So wie in den Studien zuvor, induzierte die wiederholte Stimulation des *Tractus perforans* mit 20 Pulsen eine signifikante Erhöhung der BOLD Signalintensität in der ipsilateralen (rechten) hippocampalen Formation (*Gyrus dentatus*, *Hippocampus proper*, *Subiculum*, *entorhinaler Cortex*) als auch im contralateralen (linken) *entorhinalen Cortex*.

Obwohl die Stimulationsparameter während der einzelnen Stimulationsphasen konstant gehalten wurden, unterschieden sich die maximalen BOLD-Antworten der einzelnen Stimulationsphasen im ipsilateralen Hippocampus (HCi) signifikant voneinander (Wilcoxon-Rang-Test:  $Z = -3,21$ ;  $p < 0,001$ ;  $n_{Ratten} = 8$ ; Abbildung 4.1) Die erste Stimulationsphase induzierte die stärkste BOLD-Signalintensitätsänderung, (Tabelle 4.1), die zudem charakterisiert war durch anhaltend erhöhte BOLD-Signalintensitäten auch nach Beendigung der Stimulation. Die anschließend zweite Stimulationsphase führte hingegen zur schwächsten Aktivierung im ipsilateralen Hippocampus (Tabelle 4.1).

Die gleichzeitig aufgezeichneten elektrophysiologischen Antworten im DG zeigten während und nach der ersten Stimulationsphase in 6 von 8 untersuchten Versuchstieren langanhaltende Nachentladungen (Helbing et al. 2013). Diese registrierten Nachentladungen waren ausschließlich nach der ersten

Stimulationsphase zu beobachten. Folglich könnten diese anhaltenden Entladungen der Projektions-Neurone die Ursache für die verstärkte BOLD-Antwort im ipsilateralen Hippocampus sein. Im Gegensatz dazu wies der contralaterale Hippocampus (HCc) nur bei zwei Versuchstieren eine erhöhte BOLD-Antwort auf, was sich in den gemittelten Daten aller Versuchstiere nicht nachweisen ließ.

Der Faktor Stimulationslänge (8 s vs. 30 s) hatte keinen signifikanten Einfluss auf das generierte BOLD-Aktivierungsmuster, wenn in den nachfolgenden Stimulationsphasen die Stimulationszeit von 8 s auf 30 s verlängert wurde (Abbildung 4.1 A). Obwohl sich die Verteilungscharakteristik der BOLD-Antwort im Gehirn durch die Verlängerung der Stimulationszeit nicht veränderte, kam es, gekennzeichnet durch die gestiegene Anzahl der signifikant aktivierten Voxel (Abbildung 4.3), zur Ausbreitung der BOLD-Antwort im ipsilateralen HC (Mann-Whitney-Test:  $U = 18$ ;  $Z = -1,98$ ;  $p < 0,05$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 8$ ). Im zeitlichen Verlauf der hämodynamischen Antwort (HRF) konnte kein Unterschied im Vergleich zur kurzen Stimulationsphase festgestellt werden. Die erste lange Stimulationsphase konnte im ipsilateralen HC nur noch einen Anstieg induzieren, welcher bereits in den vorhergehenden kurzen Stimulationsphasen (Tabelle 4.1) erfasst werden konnte (Wilcoxon-Rang-Test:  $p = 0,32$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 8$ ). Allerdings wurden auch unter diesen Stimulationsbedingungen hohe und lang anhaltende BOLD-Signalintensitätsänderungen nach der ersten Stimulationsphase registriert, die mit langanhaltenden Nachentladungen einhergingen (Abbildung 4.1 A). Die maximal generierte BOLD-Antwort der ersten Stimulationsphase unterschied sich signifikant im Vergleich zur ersten Stimulationsphase der kurzen Stimulation (Mann-Whitney-Test:  $U = 7$ ;  $Z = -2,61$ ;  $p = 0,004$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 8$ ). Somit unterschied sich ausschließlich die erste lange Stimulationsphase von den vorhergehenden gemittelten BOLD-Antwort kurzer Stimulationsphasen (Mann-Whitney-Test:  $U = 3$ ;  $Z = -2,98$ ;  $p < 0,001$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 8$ ). Auch die BOLD-Antwort im ipsilateralen EC ( $\text{BOLD}_{\text{max}} 2,96 \pm 0,19 \%$ ) sank im Vergleich zur vorhergehenden kurzen Stimulationsphase (Mann-Whitney-Test:  $U = 8$ ;  $Z = -2,52$ ;  $p = 0,006$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 8$ ). Ähnlich dem Verlauf der BOLD-Antwort im ipsilateralen HC wurde auch im ipsilateralen EC ein geringerer BOLD-Anstieg im Vergleich zu kurzen Stimulationsphase verzeichnet (Mann-Whitney-Test:  $U = 12$ ;  $Z = -2,17$ ;  $p = 0,017$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 8$ ; Abbildung 4.1 B).

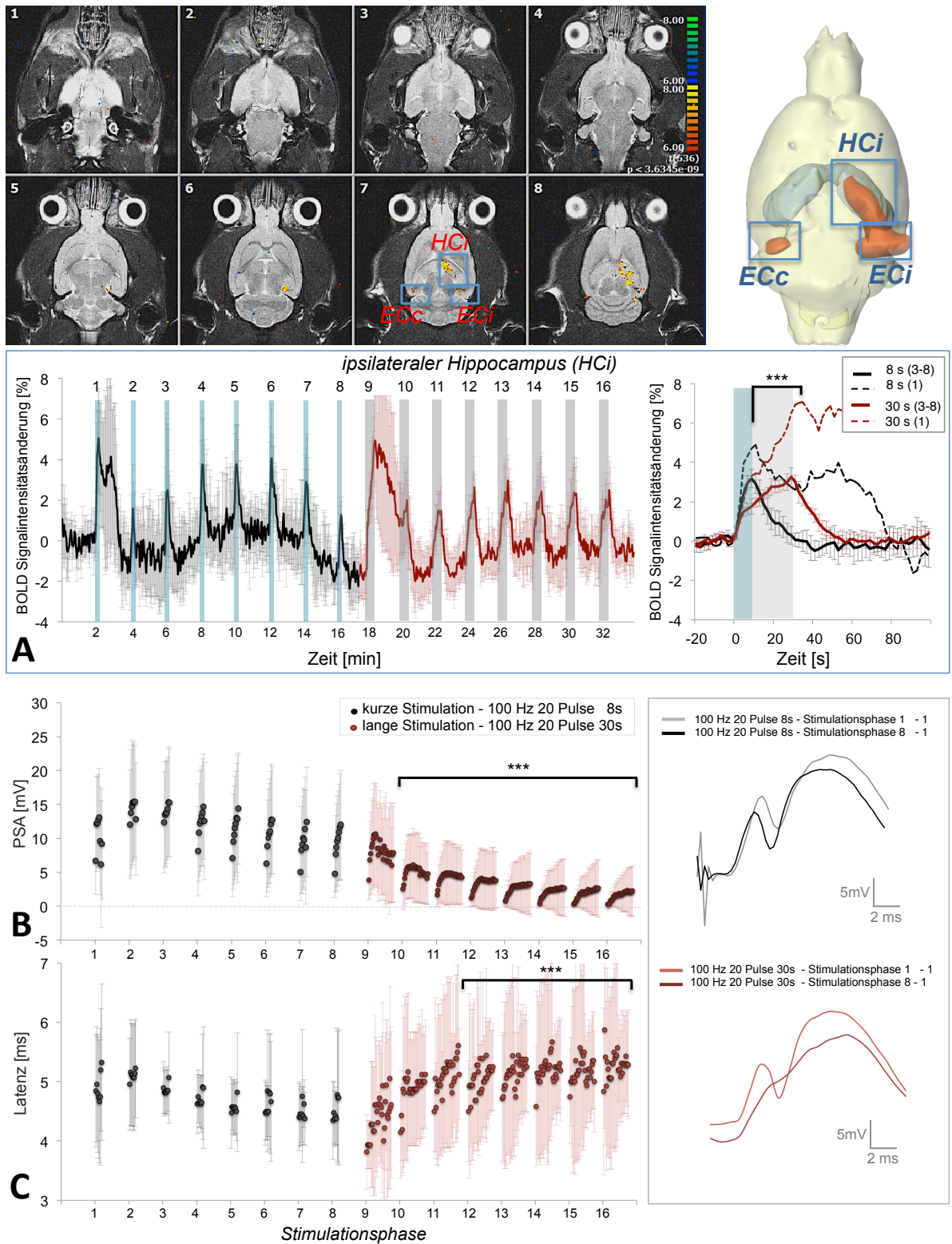


Abbildung 4.1 | Vergleich der gleichzeitigen aufgezeichneten fMRT-Daten und Feldpotentiale im *Gyrus dentatus* der Ratte während der kurzen und langen diskontinuierlichen Stimulation des *Tractus perforans*. (Oben) Aktivierungsbeispiel kurzer und langer hochfrequenter Stimulationsphasen des TP mit 20 Pulsen in den in 8 von 10 gemessenen Schichten (links) im Vergleich zum gemittelten 3D-Modell der registrierten BOLD-Signalintensitäten aller Versuchstiere (n = 8). In kurzen und langen Stimulations-Abschnitten wurden eine BOLD-Antwort im gesamten ipsilateralen Hippocampus und der Region des entorhinalen Cortex ausgelöst. Signifikant aktivierte Voxel ( $p < 0,05$ ) sind auf

einer logarithmischen Farbskala von gelb nach rot codiert und dargestellt. (A) Die hochfrequente Stimulation des TP induzierte eine robuste BOLD-Antwort im ipsilateralen HC. (A, rechte Seite) Die HRF stellt den Verlauf der gemittelten BOLD-Antwort dar ( $MW \pm$  Stabw der Stimulationsphasen 3-8). Lange Stimulationen mit 20 Pulsen führten zu keinem signifikanten Unterschied der maximal generierten BOLD-Antwort im ipsilateralen HC im Vergleich zur BOLD-Antwort kurzer Stimulationsphasen des 1. Stimulations-Abschnitts. Ein signifikanter Unterschied konnte nur zwischen den ersten Stimulationsphasen verzeichnet werden (gestrichelte Linie). (B) Die im Anschluss an die kurze Stimulation präsentierten langen Stimulationsphasen wiesen signifikant niedrigere PSA und eine (C) höhere Latenz mit zunehmender Anzahl der Stimulationsphasen vor (dunkelrot). Ein Beispiel der elektrophysiologischen Antwort der Körnerzellen des DG auf den ersten Puls der ersten und letzten Stimulationsphase der kurzen Stimulation (schwarz/grau) und der langen Stimulation (hellrot/rot) wird auf der rechten Seite dargestellt. Angegeben ist das Signifikanzniveau durch das sich die Simulationsprotokolle unterschieden mit \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$ .



Da die vorhergehenden kurzen Stimulationsphasen die funktionelle Charakteristik des HC beeinflussten, wurde nachfolgend die Stimulation des TP mit langen Stimulationsphasen an naiven Versuchstieren untersucht. Hämodynamisch unterschied sich das generierte BOLD-Muster auch nicht von den zuvor gezeigten Resultaten (Abbildung 4.2 oben). Dabei wurde während der hochfrequenten Stimulation des rechten TP naiver Versuchstiere mit 20 Pulsen für 30 s wieder im ipsilateralen HC eine BOLD-Antwort induziert. Hierbei entsprach der Verlauf der BOLD-Antwort der ersten Stimulationsphase jedoch eher dem der kurzen Stimulationsphasen, und war somit ebenfalls größer als die BOLD-Antworten während der nachfolgenden langen Stimulationsphasen (Mann-Whitney-Test:  $U = 2$ ;  $Z = -3,01$ ;  $p < 0,001$ ;  $n_{\text{Phasen}} = 8$ ; Abbildung 4.2 A). Auch hier beeinflussten starke Nachentladungen im DG nach der ersten hochfrequenten Pulsfolge die BOLD-Antwort. Im Gegensatz zum vorherigen Experiment, unterschied sich die maximal generierte BOLD-Antwort der ersten Stimulationsphase nicht von der BOLD-Antwort der ersten Stimulationsphase der kurzen Stimulation (Mann-Whitney-Test:  $U = 24$ ;  $Z = -0,94$ ;  $p = 0,20$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 8$ ). Im Vergleich zur BOLD-Antwort der langen Stimulation mit 20 Pulsen des vorherigen Experiments, stieg auch die Anzahl der signifikant aktivierten Voxel im ipsilateralen Hippocampus nicht an (Mann-Whitney-Test:  $U = 22$ ;  $Z = -1,01$ ;  $p = 0,15$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 8$ ; Abbildung 4.3). Unbeeinflusst von der Stimulationslänge blieb die BOLD-Antwort im rechten entorhinalen Cortex ( $BOLD_{\text{max}} = 3,85 \pm 0,65 \%$ ;  $BOLD_{\text{Anstieg}} = 0,44 \pm 0,19$ ), der vergleichsweise weder durch die kurze noch durch die längere Stimulation eine signifikant größere BOLD-Antwort aufwies (Mann-Whitney-Test:  $U = 23$ ;  $Z = -0,94$ ;  $p = 0,17$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 8$ ).

Im Gegensatz dazu, wurden im contralateralen EC während langer Stimulationsphasen ( $\text{BOLD}_{\max} = 3,78 \pm 0,49 \%$ ) signifikant stärkere BOLD-Antworten (Mann-Whitney-Test:  $U = 10$ ;  $Z = -2,31$ ;  $p = 0,011$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 8$ ) als während kurzer Stimulationsphasen verzeichnet ( $\text{BOLD}_{\max} = 2,33 \pm 0,59 \%$ ).

Unabhängig von der Länge der Stimulationszeit, konnte auch in zwei Versuchstieren eine signifikante BOLD-Antwort im präfrontalen Cortex/anterioreen Cingulum (mPFC/ACi) registriert werden. Obwohl diese BOLD-Antworten nicht signifikant in den gemittelten Daten erscheinen, deuten sie jedoch an, dass dieses Stimulationsmuster auch die neuronale Aktivität im mPFC/ACi beeinflussen kann. Allerdings scheint die Schwelle für den Nachweis im fMRT bei diesen Stimulationsparametern zu gering zu sein.

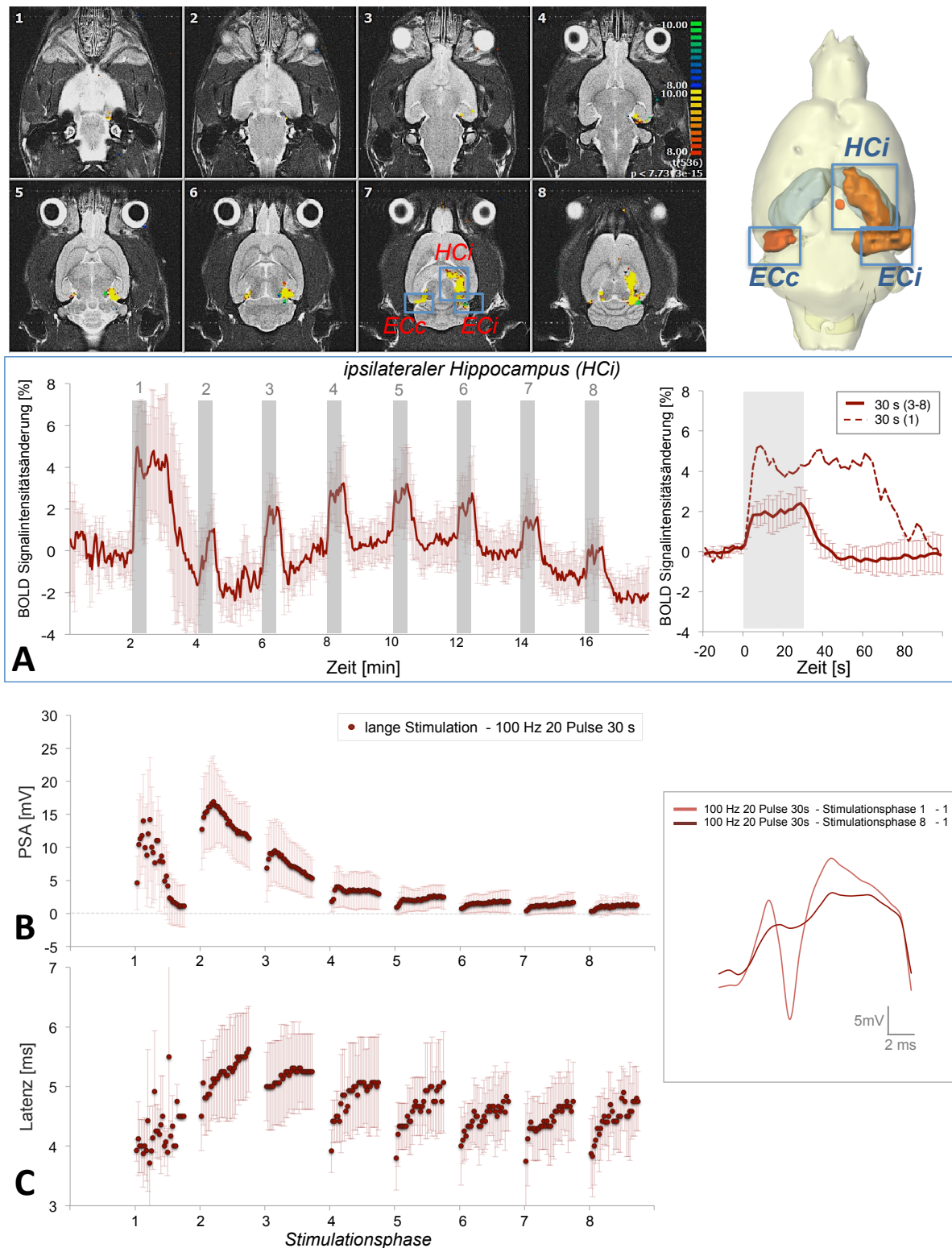


Abbildung 4.2 | Vergleich der gleichzeitig aufgezeichneten fMRT-Daten und der Feldpotentiale im *Gyrus dentatus* der Ratte während der langen diskontinuierlichen hochfrequenten Stimulation des *Tractus perforans*. (Oben) Aktivierungsbeispiel langer Stimulationsphasen des TP mit 20 Pulsen in den gemessenen Schichten (links) im Vergleich zum gemittelten 3D-Modell der registrierten BOLD-Signale aller Versuchstiere (n = 8; rechts). Signifikant aktivierte Voxel ( $p < 0,05$ ) sind auf einer logarithmischen Farbskala von gelb nach rot codiert und in 8 von 10 gemessenen Schichten dargestellt. In diesem Stimulations-Abschnitt mit langen Stimulationsphasen wurde eine BOLD-Antwort im gesamten ipsilateralen



Hippocampus und der Region des entorhinalen Cortex ausgelöst. (A) Der zeitliche Verlauf der BOLD-Antwort des HCi entspricht dem in Abbildung 4.1 A dargestellten Verlauf während der langen diskontinuierlichen Stimulation des TP. (A, rechte Seite) Die HRF stellt den Verlauf der gemittelten BOLD-Antwort dar (MW  $\pm$  Stabw; Stimulationsphasen 3-8). Die Entwicklung des Summenaktionspotenzials (PSA) wird an einem Beispiel auf der rechten Seite gezeigt.

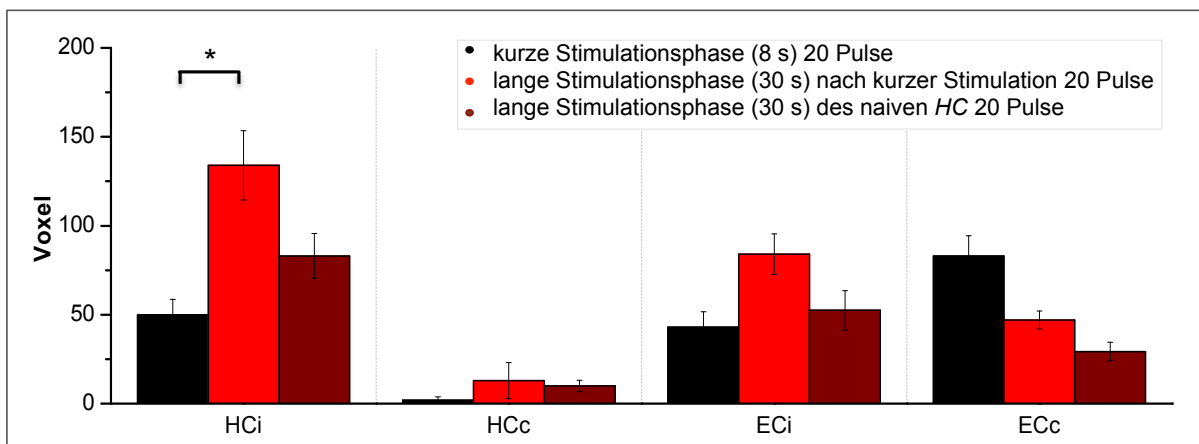


Abbildung 4.3 | Vergleich der aktivierten Voxel der hippocampalen Regionen (HCi, HCc, ECi, ECc) während kurzer (schwarz) und langer (rot) diskontinuierlicher Stimulationsphasen des *Tractus perforans*. Kurze und lange Stimulationsphasen erzeugten das gleiche BOLD-Aktivierungsmuster. Die BOLD-Ausbreitung im HCi steigt im Laufe des fMRT-Experiments durch die Präsentation langer Stimulationsphasen signifikant an. Statistisch angegeben ist das Signifikanzniveau, auf dem sich die Voxelanzahl der Stimulationsprotokolle unterscheiden mit \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$ .

#### 4.1.1.2 Neurophysiologische Effekte im DG

Die kurze hochfrequente Stimulation des rechten TP induzierte nur ein Summenaktionspotential (*population spike* - PS) als Antwort zum ersten Puls, alle folgenden 19 Pulse erzeugten nur exzitatorische postsynaptische Potentiale (*field excitatory postsynaptic potential* - fEPSP). Folglich konnte nur ein PS pro Stimulationssekunde hervorgerufen werden, was zu insgesamt 8 PS-Amplituden (8 s Stimulation) bzw. 30 PSA (30 s Stimulation) pro Stimulationsphase führte. Dabei konnte man einen individuellen Verlauf innerhalb der Stimulationsphase (1-8) und innerhalb eines Stimulations-Abschnitts beobachten (Abbildung 4.1 B). Betrachtet man zunächst die gemittelten Werte der gemessenen PS-Amplitude innerhalb einer Stimulationsphase, so sinkt diese nach einem zunächst signifikanten Anstieg während der zweiten Stimulationsphase (Wilcoxon-Rang-Test:  $p < 0,05$ ;  $n_{\text{Phasen}} = 8$ ) mit steigender Anzahl der Stimulationsphasen (Abbildung 4.1 B). In der nachfolgenden Stimulationsfolge war damit die maximale gemittelte PSA innerhalb des Versuchs erreicht. Einen ähnlichen Verlauf zeigte auch die aufgezeichnete PS-Latenz (Abbildung 4.1 C), die während der zweiten Stimulationsphase zunächst anstieg, dann aber von der dritten bis zur letzten Stimulationsphase auf einen konstant anhaltenden Wert absanken. Damit unterschied sich die durchschnittliche PS-Latenz während der zweiten Stimulationsphase signifikant von allen anderen Werten (Wilcoxon-Rang-Test:  $p < 0,005$ ;  $n_{\text{Phasen}} = 8$ ). Beginnend ab der dritten Stimulationsphase stiegen im Gegensatz dazu die PS-Amplituden von Sekunde zu Sekunde innerhalb der Stimulationsphase kontinuierlich an.

Erfolgte im Anschluss an kurze Stimulationsphasen ein zweiter Abschnitt mit langen Stimulationsphasen, dann konnte ebenfalls eine Erhöhung der PS-Amplitude innerhalb des ersten Drittels der ersten Stimulationsphase verzeichnet werden. Mit zunehmender Stimulationsdauer sank die PSA jedoch auf einen Plateau-Wert ab. Innerhalb aller folgenden Stimulationsphasen war die initiale Vergrößerung der PSA nicht mehr zu verzeichnen (Abbildung 4.1 B rote Markierung). Im direkten Vergleich zu den kurzen hochfrequenten Stimulationsphasen sank der gemittelte Wert der PSA wesentlich früher und mit zunehmender Anzahl der Stimulationsphasen signifikant ab (Mann-Whitney-Test:  $U = 3$ ;  $Z = -2,61$ ;  $p = 0,004$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 8$ ). Bedingt durch die vorhergehende Stimulation mit insgesamt 1280 Pulsen in 8 Stimulationsphasen,

erhöhte sich die PS-Latenz signifikant während der späten langen Stimulation mit 20 Pulsen (Mann-Whitney-Test:  $U = 7$ ;  $Z = -2,10$ ;  $p = 0,017$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 8$ ; Abbildung 4.1 C) Wurde der TP ausschließlich mit langen Stimulationsphasen gereizt, dann konnten ähnlich Verläufe verzeichnet werden (Abbildung 4.2 B, C). Die erste Stimulationsphase war gekennzeichnet durch variierende Populations-Spike Amplituden mit zunehmend sinkenden Werten am Ende der langen Stimulationsphase. Während der folgenden Stimulationsphasen stieg die PS-Amplitude zunächst deutlich an, sank dann ab der 9. Stimulationssekunde bis zum Ende deutlich ab. Alle folgenden Stimulationsphasen induzierten ein ähnliches Muster. Jedoch sank der gemittelte Wert der Amplitude ab der 3. Stimulationsphase signifikant ab (Wilcoxon-Rang-Test:  $p < 0,005$ ;  $n_{\text{Phasen}} = 8$ ). Der gemittelte Wert der PS-Latenz der einzelnen Stimulationsphasen zeigte hingegen zunächst einen signifikanten Anstieg während der zweiten Stimulationsphase (Wilcoxon-Rang-Test:  $p < 0,005$ ;  $n = 8$ ). Im Verlauf der nachfolgenden Stimulationsphasen sank der gemessene Wert ab, sodass nahezu der Ausgangswert erreicht wurde (Tabelle 4.1).

Vergleicht man nun die neurophysiologische Antwort im *Gyrus dentatus* beider Experimente, so wurde der Effekt der ersten Stimulationsphase auf anschließende Stimulationen deutlich. Im Gegensatz zu dem stetigen Anstieg der PSA der ersten langen Stimulationsphase der dem Abschnitt der kurzer Stimulationsphase folgte, variierte die PS-Amplitude während des ersten langen Stimulationsphase in naiven Versuchstieren. Sowohl die kurze als auch die lange Stimulation erzeugte dabei eine signifikante Potenzierung der PSA in der zweiten Stimulationsphase. Dieser Effekt konnte nur in naiven Tieren beobachtet werden und wurde nicht registriert, wenn der TP bereits zuvor in kurzen Stimulationsphasen stimuliert wurde. Im direkten Vergleich der verzeichneten Resultate waren die PS-Amplituden während der kurzen Stimulationsphasen signifikant höher, sowohl im Vergleich zur langen Stimulationsphasen des naiven TP (Mann-Whitney-Test:  $U = 6$ ;  $Z = -2,10$ ;  $p = 0,004$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 8$ ; Tabelle 4.1) als auch im Vergleich zur langen Stimulationsphasen des zweiten Stimulations-Abschnitts (Mann-Whitney-Test:  $U = 1$ ;  $Z = -3,34$ ;  $p < 0,001$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 8$ ).

Der Einfluss einer Vorstimulation durch einen vorherigen Stimulationsabschnitt zeigte sich auch im Vergleich der PS-Latenzen. Die mittlere PS-Latenz während langer

Stimulationsphasen in naiven Versuchstieren blieb in den letzten Stimulationsphasen signifikant niedriger im Vergleich zu den mittleren PS-Latenzen während langer Stimulationsphasen, die auf kurze Stimulationsphasen folgten (Mann-Whitney-Test:  $U = 3$ ;  $Z = -2,61$ ;  $p = 0,004$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 8$ ). Da die PS-Latenzen der kurzen und langen Stimulationen des naiven TP nicht signifikant voneinander abwichen (Mann-Whitney-Test:  $U = 24$ ;  $Z = -0,8$ ;  $p = 0,2$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 8$ ; Tabelle 4.1), unterschied sich damit auch die PS-Latenz beider langer Stimulationen signifikant (Mann-Whitney-Test:  $U = 4$ ;  $Z = -2,41$ ;  $p = 0,005$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 8$ ) voneinander.

Stellt man die resultierende BOLD-Antwort im Hippocampus den elektrophysiologisch gemessenen neuronalen Antworten im *Gyrus dentatus* gegenüber, konnte weder für die kurze noch für die lange Stimulation mit 20 Pulsen eine direkte Korrelation zwischen beiden Parametern ermittelt werden (Korrelation nach PEARSON; Tabelle 4.1 rechte Spalte). Somit stehen die Summenaktionspotenziale der Projektionsneurone im DG nicht im direkten Bezug zur Größe oder Form der BOLD-Antwort. Ändert sich jedoch das neuronale Antwortverhalten (PS-Amplitude oder Latenz), so erfolgt auch eine Modifikation der BOLD-Antwort. Die Größe der BOLD-Antwort liefert demnach keine eindeutigen Informationen über die Größe der neuronalen Aktivität, sondern signifikante Änderungen der BOLD-Antwort spiegeln nur eine signifikante Änderung der neuronalen Antwort wider.

Tabelle 4.1 | Elektrophysiologisch gemessene Parameter der Aktivität der Körnerzellen im DG und den dazugehörigen maximalen BOLD-Antworten in sich wiederholenden hochfrequenten Stimulationen des *Tractus perforans* mit 20 Pulsen.

		Gyrus dentatus (DG)		ipsilateraler Hippocampus (HCi)		Statistik			
		PSA [mV]	Latenz [ms]	BOLD Anstieg	BOLD max [%]	PEARSON [r]			
<b>kurze diskontinuierliche Stimulation</b>	<b>100 Hz 20 Pulse 8s</b>	Stimulationsphase 1	10,24	4,90	0,67	4,86	BOLD <sub>max</sub> -PSA	-0,15	
		Stimulationsphase 2	14,34	5,10	0,27	2,66	BOLD <sub>max</sub> -PSL	0,27	
		Stimulationsphase 3	13,54	4,85	0,49	3,28			
		Stimulationsphase 4	12,26	4,72	0,49	3,82			
		Stimulationsphase 5	11,38	4,57	0,36	2,86			
		Stimulationsphase 6	10,57	4,63	0,56	3,60			
		Stimulationsphase 7	9,34	4,48	0,27	2,72			
		Stimulationsphase 8	9,41	4,50	0,36	2,88			
		MW [1-8]	<b>11,39</b>	<b>4,63</b>	MW [3-8]	<b>0,42</b>	<b>3,19</b>		
		Stabw	<b>1,86</b>	<b>0,22</b>	Stabw	<b>0,11</b>	<b>0,45</b>		
<b>lange diskontinuierliche Stimulation</b>	<b>100 Hz 20 Pulse 30 s</b>	Stimulationsphase 1	8,12	4,40	0,46	<b>7,07</b>	BOLD <sub>max</sub> -PSA	0,46	
		Stimulationsphase 2	5,13	4,88	0,07	<b>0,42</b>	BOLD <sub>max</sub> -PSL	-0,56	
		Stimulationsphase 3	4,37	5,10	0,13	3,05			
		Stimulationsphase 4	3,51	5,04	0,21	3,93			
		Stimulationsphase 5	2,74	5,14	0,26	3,83			
		Stimulationsphase 6	2,22	5,20	0,24	2,93			
		Stimulationsphase 7	1,93	5,17	0,11	3,15			
		Stimulationsphase 8	1,64	5,27	0,26	3,22			
		MW [1-8]	<b>3,71</b>	<b>5,03</b>	MW [3-8]	<b>0,20</b>	<b>3,35</b>		
		Stabw	<b>1,04</b>	<b>0,28</b>	Stabw	<b>0,07</b>	<b>0,42</b>		
<b>lange diskontinuierliche Stimulation</b>	<b>100 Hz 20 Pulse 30 s ohne Vorstimulation</b>	Stimulationsphase 1	6,68	4,24	0,82	5,25	BOLD <sub>max</sub> -PSA	0,25	
		Stimulationsphase 2	14,11	5,21	0,17	2,00	BOLD <sub>max</sub> -PSL	-0,14	
		Stimulationsphase 3	7,37	5,15	0,27	3,51			
		Stimulationsphase 4	3,36	4,83	0,37	3,17			
		Stimulationsphase 5	2,13	4,63	0,33	2,58			
		Stimulationsphase 6	1,54	4,48	0,26	2,21			
		Stimulationsphase 7	1,24	4,44	0,22	1,65			
		Stimulationsphase 8	1,06	4,46	0,12	1,56			
		MW [1-8]	<b>4,69</b>	<b>4,68</b>	MW [3-8]	<b>0,26</b>	<b>2,45</b>		
		Stabw	<b>4,52</b>	<b>0,35</b>	Stabw	<b>0,09</b>	<b>0,79</b>		

Zusammengefasst sind die aufgezeichneten Durchschnittswerte der experimentellen fMRT-Untersuchungen (n = 8 Tiere pro Gruppe). Die BOLD<sub>max</sub>-Werte stellen den prozentualen Anstieg der BOLD-Signalintensität und der BOLD<sub>Anstieg</sub> repräsentiert die Steigung zwischen Stimulationsbeginn und der maximal generierten BOLD-Signalintensität. Alle elektrophysiologischen Daten sind Mittelwerte der gemessenen Versuchstiere. Die statistische Korrelation (rechte Spalte) stellt den Zusammenhang zwischen neurophysiologischen Antworten der Stimulationsphasen im DG und der BOLD Antwort im ipsilateralen Hippocampus dar.

#### 4.1.2 Stimulation des Tractus perforans mit 20 Pulsen je Sekunde mit doppelter Stimulationsintensität

Die wiederholte Stimulation des TP mit 20 Pulsen je Sekunde für 8 s induzierte in 2 von 8 Tieren signifikante BOLD-Antworten außerhalb der hippocampalen Formation, so dass das Ausmaß möglicher neuronaler Aktivierungen in Zielgebieten der hippocampalen Formation möglicherweise zu gering war, um sie mit fMRT darzustellen. Um diese Hypothese belegen zu können, wurde in einem zweiten experimentellen Ansatz die Stimulationsintensität verdoppelt. Durch eine Erhöhung der Stimulationsintensität wird die Anzahl der stimulierten Fasern erhöht, sodass gleichzeitig eine erhöhte Anzahl von Neuronen im HCl aktiviert wird. Im ersten Teil des experimentellen Ansatz wurde wieder eine Stimulationsintensität genutzt, die 50 % der maximalen PS-Amplitude auf einen Testpuls auslöste, wohingegen im zweiten Teil des Stimulationsexperimentes Pulse mit der doppelten Intensität verwendet wurden. Das Stimulationsmuster, d.h. ein hochfrequente Stimulation mit kurzen (8 s) Stimulationsphasen mit 20 Pulse je Sekunde, blieb gleich.

##### 4.1.2.1 Hämodynamische Effekte

Der erste Abschnitt der Stimulation entsprach den unter 4.1.1.1 beschriebenen Ergebnissen. Neben der signifikanten Aktivierung des Hippocampus konnte damit bereits bei 50%iger Stimulationsintensität eine leichte BOLD Antwort im mPFC/ACi ( $BOLD_{max} = 1,03 \pm 0,2 \%$ ;  $n_{Ratten} = 5$ ; Abbildung 4.5 B) nachgewiesen werden. Eine Verdopplung der Pulsintensität während der Stimulationsphasen 11-20 führte neben einer Zunahme der maximalen BOLD-Antwort im ipsilateralen HC (Mann-Whitney-Test:  $U = 13$ ;  $Z = -1,99$ ;  $p < 0,001$ ;  $n_{Ratten} = 5$ ) zu einer signifikanten BOLD-Signalintensitätserhöhung im mPFC/ACi (Mann-Whitney-Test:  $U = 1$ ;  $Z = -3,36$ ;  $p < 0,001$ ;  $n_{Ratten} = 5$ ) und einer signifikanten Verstärkung der BOLD-Antwort im NAcc (Mann-Whitney-Test:  $U = 2$ ;  $Z = -3,30$ ;  $p < 0,001$ ;  $n_{Ratten} = 5$ ). Zusätzlich wurde durch eine Signalintensitätserhöhung auch im contralateralen Hippocampus eine BOLD-Antwort generiert ( $BOLD_{max} = 1,78 \pm 0,37 \%$ ;  $n_{Ratten} = 5$ ), die sich signifikant von der BOLD-Antwort der niedrigeren Stimulationsintensität (Mann-Whitney-Test:  $U = 10$ ;  $Z = -2,31$ ;  $p = 0,01$ ;  $n_{Ratten} = 5$ ) unterschied. Aus diesen

Ergebnissen lässt sich schlussfolgern, dass wiederholte kurze Folgen von 20 Pulsen sowohl die hippocampale Formation als auch Zielgebiete hippocampaler Projektionen, wie der NAcc und die mPFC/ACi, aktiviert. Der Nachweis durch fMRT ist aber durch die Menge der durch TP Stimulation aktivierter Neurone im Hippocampus limitiert.

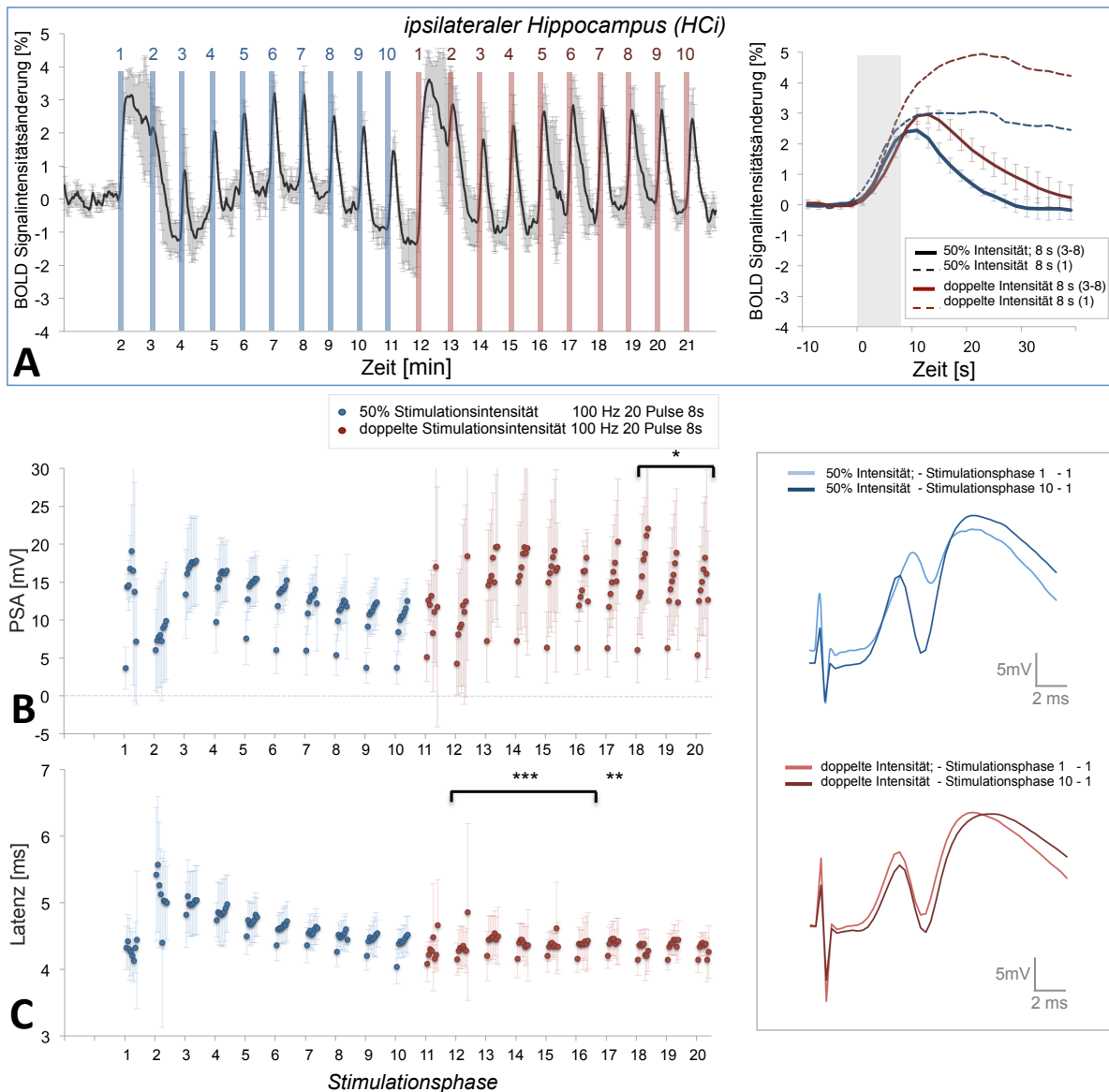


Abbildung 4.4 | Vergleich der gleichzeitig aufgezeichneten fMRT-Daten und der Feldpotentiale im *Gyrus dentatus* der Ratte während der diskontinuierlichen hochfrequenten Stimulation des *Tractus perforans* mit 50% und doppelter Stimmulationsintensität. (A) Die im ipsilateralen Hippocampus generierte durchschnittliche BOLD-Antwort zeigte keinen signifikanten Unterschied zwischen beiden Stimmulationsintensitäten (rechte Seite). (B) Die neurophysiologische Antwort der Körnerzellen im DG war bei doppelter Stimmulationsintensität (rot) im Vergleich zu generierten Summenaktionspotenzial-Amplituden (PSA) bei 50%iger Stimmulationsintensität (blau) signifikant größer. (C) Die zunächst signifikant erhöhten Latenzen der ersten Stimulationsphasen bei 50 % Stimmulationsintensität

sanken mit zunehmender Dauer des Experiments ab. Während der Präsentation der hohen Intensitäten im zweiten Stimulations-Abschnitt veränderten sich die aufgezeichneten Latenzen nicht mehr im Vergleich zu den späten Stimulationsphasen der 50 % Intensität. Damit unterschieden sich die höheren PS Latenzen der Stimulationsphasen 2-6 niedriger Intensität signifikant von den Stimulationsphasen 2-6 mit höherer Intensität des zweiten Stimulations-Abschnitts. Statistisch angegeben ist das Signifikanzniveau, auf dem sich die PSA und Latenz der Stimulationsprotokolle unterscheiden mit \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$ .

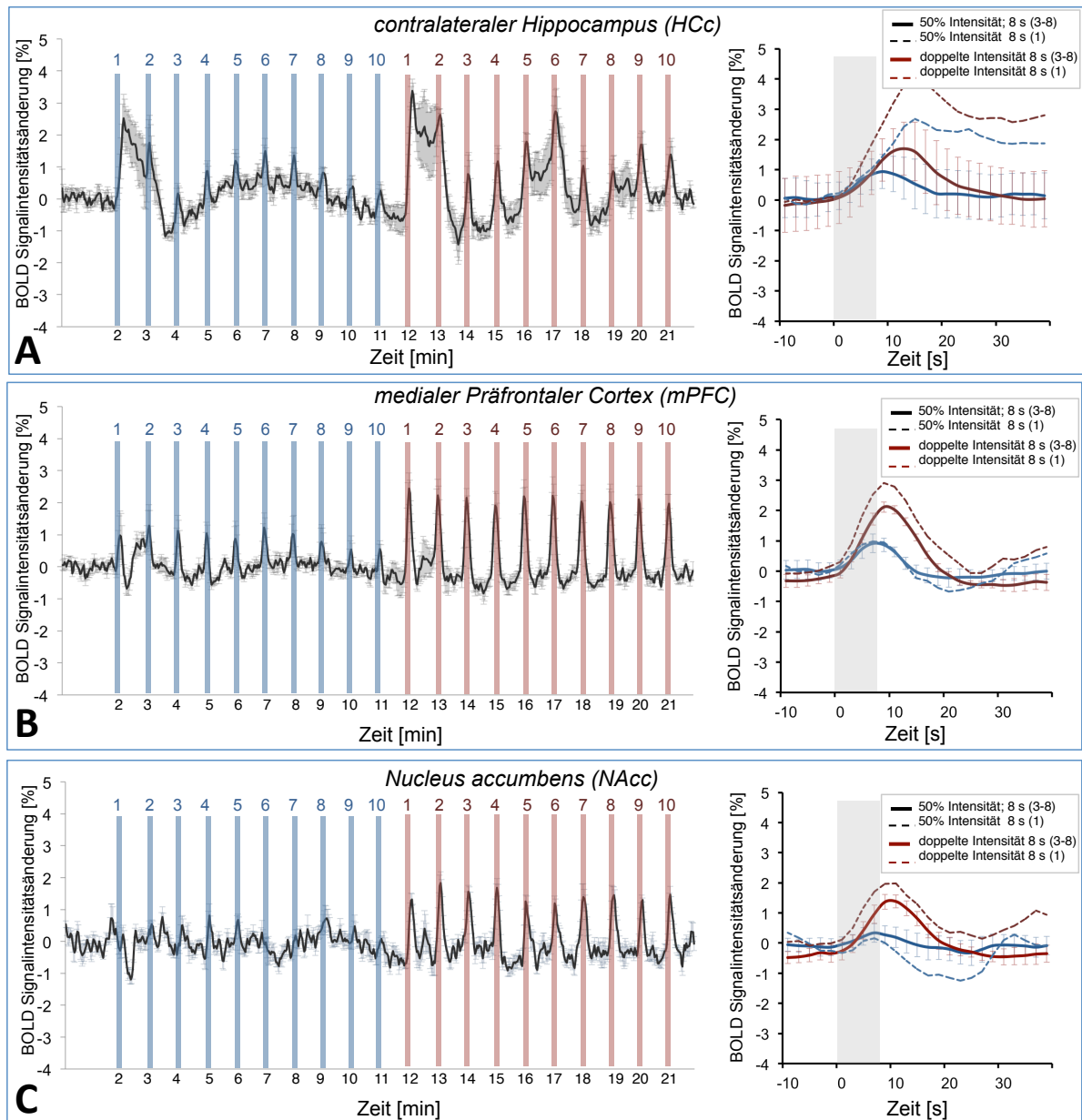


Abbildung 4.5 | Vergleich der zeitlichen Verläufe der Stimulationsphasen mit 50 % Stimulationsintensität (Phase 1-10, blaue Markierung) und doppelter Stimulationsintensität (Phase 11-20) der hochfrequenten Stimulation des *Tractus perforans* mit 20 Pulsen. Die HRFs der aktivierten Regionen (rechte Seite) zeigen signifikante Unterschiede der BOLD-Signalintensität der gemittelten BOLD-Antwort mit erhöhter Stimulationsintensität



(glatte rote Linie) im NAcc (C) und mPFC/ACi (D) im Vergleich zur niedrigeren Stimulationsintensität (glatte blaue Linie).



#### 4.1.2.2 Neurophysiologische Effekte im Gyrus dentatus

Die elektrophysiologisch aufgezeichnete Antwort der Körnerzellen im DG während Stimulationsphasen mit Standard-Stimulationsintensität (50 %) entspricht dem in 4.1.1.2 verzeichneten Verlauf: die zunächst stark variierenden PS Amplituden und Latenzen während der ersten Stimulationsphase stabilisieren sich mit Zunahme der Stimulationsphasen innerhalb eines Stimulations-Abschnitts (Abbildung 4.4 B, C). Von der ersten zur zweiten Stimulationsphase nimmt die PS-Latenz bei niedriger Intensität zu, welche mit zunehmenden Stimulationsphasen auf einen Plateauwert absank. Gleichzeitig reduzierte sich die PS-Amplitude im zeitlichen Verlauf des Experiments. Die im Anschluss präsentierten Stimulationsphasen 11-20 mit hohen Intensitäten verzeichneten die PS-Latenz, die am Ende des Versuchsabschnitts mit niedrigeren Stimulationsintensitäten erhalten wurde. Damit waren nur die PS-Latenzen der ersten Stimulationsphasen mit niedrigerer Stimulationsintensität höher im Vergleich zu den ersten Stimulationsphasen mit doppelter Intensität (Mann-Whitney-Test:  $U = 2$ ;  $Z = -3,17$ ;  $p < 0,001$ ,  $n_{\text{Ratten}} = 5$ ; Abbildung 4.4 C). Im Gegensatz zur gemessenen PS Amplitude niedrigerer Stimulationsintensitäten, sank der Wert im Laufe der späten Stimulationsphasen des Abschnitts nicht ab und war damit signifikant höher im Vergleich zum Wert später Stimulationsphasen niedriger Stimulationsintensitäten (Mann-Whitney-Test:  $U = 7$ ;  $Z = -2,97$ ;  $p = 0,013$ ,  $n_{\text{Ratten}} = 5$ ; Abbildung 4.4 B)

Generell führte eine hochfrequente Stimulation mit 20 Pulsen pro Sekunde also zu einer signifikanten BOLD-Aktivierung in der hippocampalen Formation (HCi, ECi, ECc). Im ipsilateralen HC blieben die BOLD-Signalintensitäten nach Beendigung der ersten Stimulationsfolge erhöht. Gleichzeitig aufgenommene elektrophysiologische Antworten im DG zeigten das Auftreten von langen und schweren neuronalen Nachentladungen nach der ersten Stimulationsphase. Daher sind diese Nachentladungen wahrscheinlich die Ursache für die anhaltend hohen BOLD-Signalintensitäten nach der ersten Stimulationsphase. Obwohl es im Laufe des Versuchsverlauf zu einer veränderten hippocampalen Signalverarbeitung

nachfolgender Reize kommt, führt dies nicht zu einer mit fMRT-BOLD nachweisbaren Aktivierung weiterer Zielregionen des HC. Die Verlängerung der Stimulationszeit führt zu einer Ausbreitung der BOLD-Antwort in der ipsilateralen HC-Formation, aber ebenfalls nicht zu einer mit fMRT-BOLD nachweisbaren Aktivierung zusätzlicher Zielregionen. Eine messbare BOLD-Signalintensitätsänderung in den Zielregionen des HC (d.h. mPFC, NAcc) erfolgt erst durch eine höhere Stimulationsintensität. Die Signalverarbeitung im HC ändert sich durch hohe Stimulationsintensitäten nur im Hinblick auf die höheren Amplituden der PS zum Ende des Stimulationsabschnitts hoher Intensitäten, während die BOLD-Signalintensität im ipsilateralen Hippocampus gleichbleibend ist.

#### *4.1.3 Stimulation des Tractus perforans mit 50 Pulsen je Sekunde*

Eine Verdopplung der Stimulationsintensität, nicht aber eine Verlängerung der Stimulationszeit, führte bei einer Stimulation mit 20 Pulsen je Sekunde zu einer im fMRT nachweisbaren Aktivierung von Zielregionen der hippocampalen Region. Eine Verlängerung der Stimulationszeit von 8 s auf 30 s führte lediglich zu einer Ausbreitung der BOLD Antwort in der hippocampalen Formation. Somit ist nicht die Länge der Stimulationszeit, sondern das Ausmaß der neuronalen Aktivität entscheidend für eine Weiterleitung der Aktivität. Um bei konstanter Stimulationsintensität das Ausmaß und die Qualität der neuronalen Aktivität im Hippocampus zu verändern, wurden in einer weiteren Versuchsreihe die Anzahl der Pulse je Sekunde von 20 auf 50 erhöht.

##### *4.1.3.1 Hämodynamische Effekte*

Eine wiederholte Stimulation des rechten TP mit 50 Pulsen und 50 % Stimulationsintensität generierte, wie bereits bei der Stimulation mit 20 Pulsen in der ipsilateralen Hippocampus ( $BOLD_{max} = 4,39 \pm 0,37 \%$ ;  $n_{Ratten} = 6$ ; Abbildung 4.7 A) und dem entorhinalen Cortex (ECi:  $BOLD_{max} = 3,73 \pm 0,21 \%$ ;  $n_{Ratten} = 6$ ; ECc:  $BOLD_{max} = 4,41 \pm 0,66 \%$ ;  $n_{Ratten} = 6$ ) signifikante BOLD-Antworten. Auch durch dieses Stimulationsprotokoll wurden nach Ende der ersten Stimulationsfolge anhaltend erhöhte BOLD-Werte verzeichnet. Gleichzeitig wurden auch im EEG langanhaltende Nachentladungen registriert. Diese blieben nur in der folgenden zweiten Stimulationsphase aus, traten aber in allen anschließenden

Stimulationsphasen nach Ende der Stimulationsfolgen erneut auf (Stimulationsphase 3-8). Zusätzlich zur BOLD-Antwort im HCl konnte eine BOLD-Signalintensitätsänderung auch im contralateralen HC ( $BOLD_{max} = 4,39 \pm 0,40 \%$ ;  $n_{Ratten} = 6$ ) verzeichnet werden. Unter den vorliegenden Bedingungen begrenzte sich die signifikante Aktivierung nicht nur auf hippocampale Region (d.h. HCl, HCc, ECi; ECc), sondern es konnten auch signifikante BOLD-Signalintensitätsänderungen in Zielregionen des HC, wie im mPFC/ACi ( $BOLD_{max} = 2,12 \pm 0,47 \%$ ;  $n_{Ratten} = 6$ ; Abbildung 4.7 A), im NAcc ( $BOLD_{max} = 2,18 \pm 0,37 \%$ ;  $n_{Ratten} = 6$ ; Abbildung 4.7 B) sowie wie der VTA/Sn-Region ( $BOLD_{max} = 2,48 \pm 0,39 \%$ ;  $n_{Ratten} = 6$ ; Abbildung 4.7 C) registriert werden. Im Vergleich zum ipsilateralen Hippocampus wiesen alle außerhalb der HC-Formation liegenden aktivierten Regionen signifikant höhere BOLD-Signalintensitäten nach der zweiten Stimulationsphase auf (Abbildung 4.7).

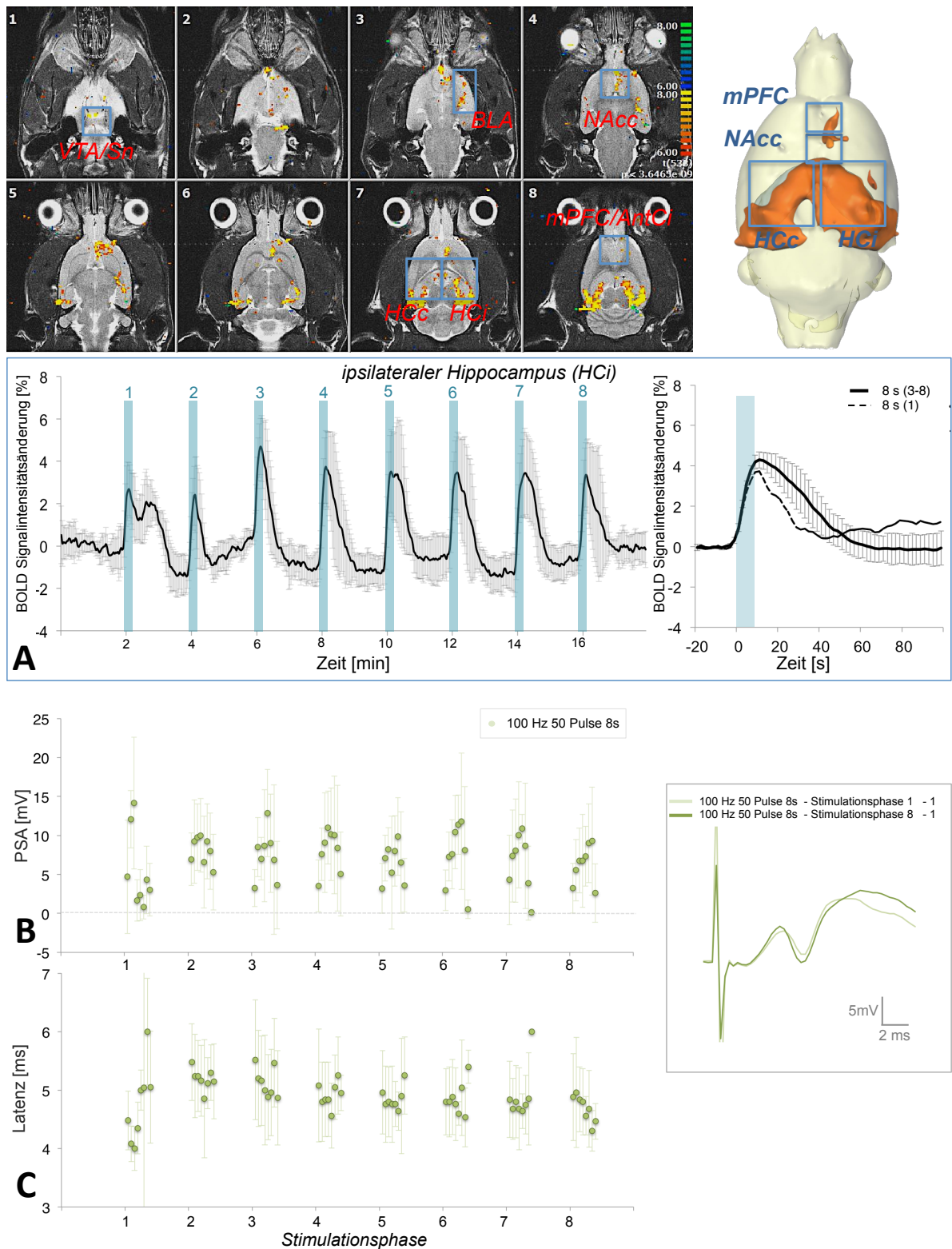


Abbildung 4.6 | Vergleich der gleichzeitig aufgezeichneten fMRT-Daten und Feldpotentiale im *Gyrus dentatus* der Ratte während der hochfrequenten Stimulation des *Tractus perforans* mit 50 Pulsen. (Oben) Aktivierungsbeispiel kurzer Stimulationsphasen des TP mit 50 Pulsen in 8 von 10 gemessenen Schichten (links) im Vergleich zum gemittelten 3D-Modell der registrierten BOLD-Signale aller Versuchstiere (n = 6; rechts). Signifikant aktivierte Voxel ( $p < 0,05$ ) sind auf einer logarithmischen Farbskala von gelb nach rot codiert dargestellt. (A) Die hochfrequente Stimulation des TP induzierte eine robuste BOLD-Antwort im ipsilateralen HC. (B) Die gleichzeitig gemessenen Feldpotentiale im *Gyrus dentatus* ergab keine

signifikante Reduktion der PSA während aller aufeinanderfolgenden Stimulationsphasen. (C) Innerhalb der einzelnen Stimulationsphasen sank die Latenz mit zunehmender Anzahl der Pulse ab.

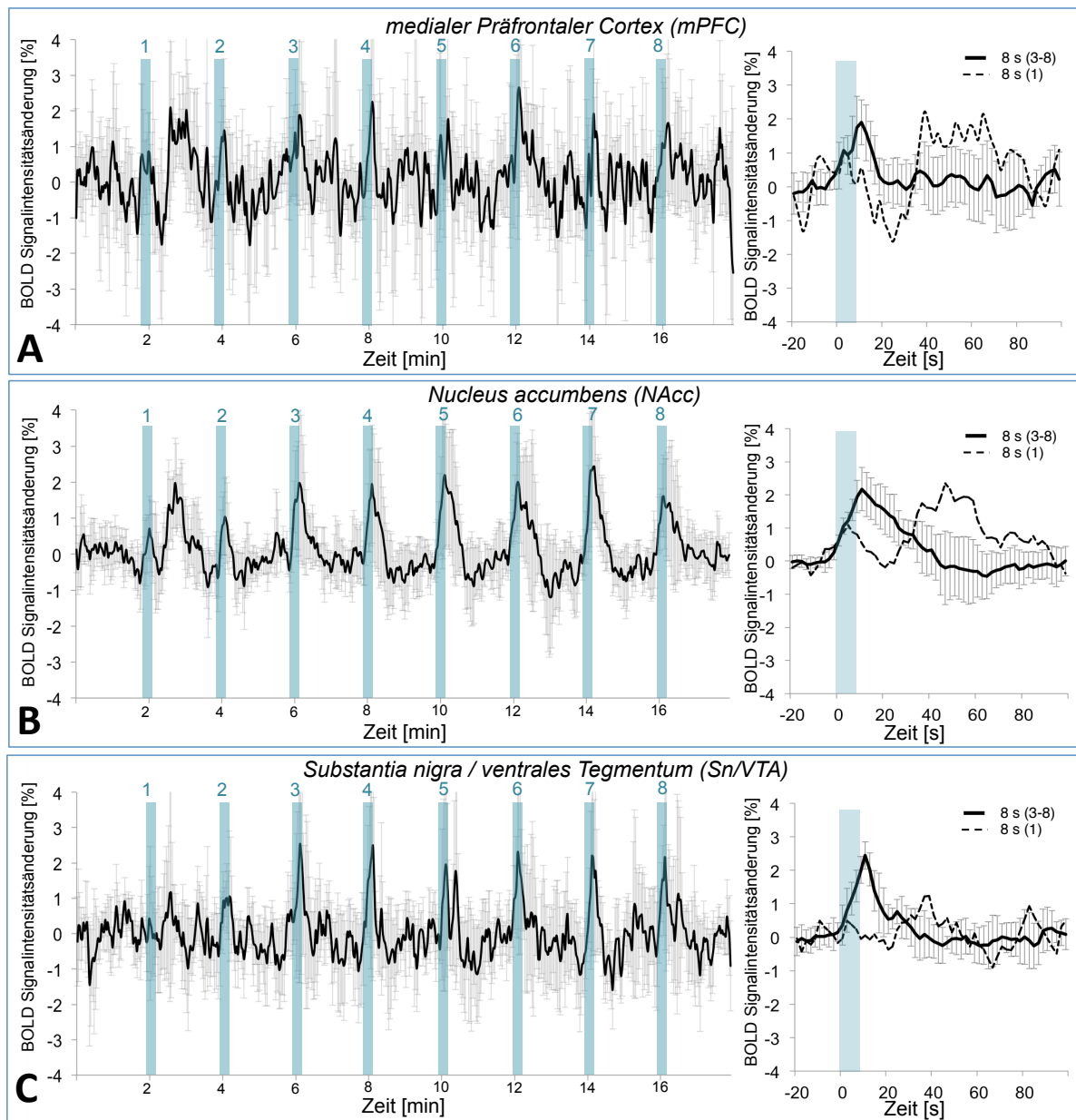


Abbildung 4.7 | Vergleich der zeitlichen Verläufe der BOLD-Antwort signifikant aktivierter Regionen außerhalb des Hippocampus während kurzer Stimulations des *Tractus perforans* mit 50 Pulsen. BOLD-Signalintensitäten wurden im (A) medialen präfrontalen Cortex, (B) im Nucleus accumbens und (C) im ventralen Tegmentum registriert. Die auf der rechten Seite dargestellten HRFs der aktivierten Regionen entsprechen der gemittelten BOLD-Antwort aller gemessener Versuchstiere ( $n = 6$ ) der Stimulationsphase 3-8 (glatte Linie) im Vergleich zur ersten Stimulationsphase (gestrichelte Linie). Signifikante BOLD-Signalintensitäten wurden in allen drei mesolimbischen Strukturen erst nach der ersten Stimulationsphase generiert.

#### 4.1.3.2 Neurophysiologische Effekte im DG

Auch bei der hochfrequenten Stimulation des *Tractus perforans* mit 50 Pulsen je Sekunde, induzierte wiederum nur der erste Puls pro Stimulationssekunde ein Summenaktionspotenzial. Dementsprechend wurden in den acht Sekunden Stimulationszeit auch nur acht Populations-Spikes generiert, die ausgewertet wurden. Im zeitlichen Verlauf der Stimulationen potenzierten sich die gemittelten PS Amplituden von der ersten zur zweiten Stimulationsphase. In den nachfolgenden Stimulationsphasen sanken die gemittelten PS Amplituden gering ab und erreichten einen Plateauwert, der über dem gemittelten PSA-Wert der ersten Stimulationsphase lag (Tabelle 4.2).

Betrachtet man den Verlauf innerhalb einer Stimulationsphase, dann unterschied sich das neuronale Antwortverhalten während der Stimulation mit 50 Pulsen je Sekunde von dem neuronalen Antwortverhalten während der Stimulation mit 20 Pulsen je Sekunde. Zunächst konnte eine Potenzierung der PSA innerhalb der ersten Stimulationssekunden verzeichnet werden (Abbildung 4.6 B). Die gemessene PS-Amplitude sank jedoch innerhalb der anschließenden Stimulationssekunden während der Stimulation mit 50 Pulsen stark ab, sodass sie unterhalb des Ausgangswertes lag. Im Vergleich zur Stimulation des *Tractus perforans* mit 20 Pulsen war die PS-Amplitude am Ende einer Stimulationsphase mit 20 Pulsen je Sekunde größer als am Beginn der Stimulationsphase. Nach einem zunächst signifikanten Anstieg der Latenz von der ersten zur zweiten Stimulationsphase (Wilcoxon-Rang-Test:  $p < 0,05$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 5$ ; Tabelle 4.2), sank diese mit zunehmenden Stimulationsphasen auf einem Plateau-Wert ab (Abbildung 4.6 C).

Tabelle 4.2 | Elektrophysiologisch gemessene Parameter der Aktivität der Körnerzellen im DG und den dazugehörigen maximalen BOLD-Antworten in sich wiederholenden hochfrequenten Stimulationen des *Tractus perforans* mit 50 Pulsen.

		<b>Gyrus dentatus (DG)</b>		<b>ipsilateraler Hippocampus (HCi)</b>		<b>Statistik</b>
		<i>PSA [mV]</i>	<i>Latenz [ms]</i>	<i>BOLD Anstieg</i>	<i>BOLD max [%]</i>	<i>PEARSON [r]</i>
<b>50 Puls - Stimulation 100 Hz 50 Pulse 8s</b>	Stimulationsphase 1	4,60	4,55	0,35	3,02	BOLD <sub>max</sub> -PSA -0,46
	Stimulationsphase 2	7,40	5,12	0,23	1,79	BOLD <sub>max</sub> -PSL -0,23
	Stimulationsphase 3	6,75	5,06	0,39	3,10	
	Stimulationsphase 4	6,17	4,86	0,40	3,31	
	Stimulationsphase 5	6,00	4,84	0,39	3,14	
	Stimulationsphase 6	7,12	4,81	0,31	2,74	
	Stimulationsphase 7	6,06	4,77	0,28	2,39	
	Stimulationsphase 8	6,09	4,61	0,23	2,44	
	<i>MW [1-8]</i>	<b>6,27</b>	<b>4,83</b>	<i>MW [3-8]</i>	<b>0,33</b>	<b>2,85</b>
	<i>Stabw</i>	<b>0,86</b>	<b>0,20</b>	<i>Stabw</i>	<b>0,07</b>	<b>0,39</b>

Zusammengefasst sind die aufgezeichneten Durchschnittswerte der experimentellen fMRT-Untersuchung (n = 6 Tiere pro Gruppe). Die BOLD<sub>max</sub>-Werte stellen den prozentualen Anstieg der BOLD-Signalintensität und der BOLD<sub>Anstieg</sub> repräsentiert die Steigung zwischen Stimulationsbeginn und der maximal generierten BOLD-Signalintensität. Alle elektrophysiologischen Daten sind Mittelwerte der gemessenen Versuchstiere. Die statistische Korrelation (rechte Spalte) stellt den Zusammenhang zwischen neurophysiologischen Antworten der Stimulationsphasen im DG und der BOLD-Antwort im ipsilateralen Hippocampus dar.

#### 4.1.4 Stimulation des *Tractus perforans* mit 100 Pulsen je Sekunde

Eine Erhöhung der Pulszahl von 20 auf 50 Pulse je Sekunde führte zu einer qualitativen und quantitativen Veränderung der hippocampalen Signalverarbeitung und zu einer nachweisbaren BOLD-Antwort in Zielregionen des HC. Beide Stimulationsmuster sind durch kurze diskontinuierliche Pulsfolgen mit einer Dauer von 200 oder 500 ms charakterisiert. Um zu testen, wie eine kontinuierliche Pulsfolge hippocampal verarbeitet und weitergeleitet wird, wurde in einem dritten experimentellen Ansatz der rechte *Tractus perforans* während einer Stimulationsphase kontinuierlich mit 100 Pulse pro Sekunde (d.h. 100 Hz) stimuliert. Analog zur Stimulation mit 20 Pulsen je Sekunde wurden zum einen in einem Experiment der Effekt kurzer (8 s) und langer (30 s) Stimulationsphasen auf das BOLD-Aktivierungsmuster am selben Tier untersucht, zum anderen wurde der Effekt der langen Stimulationszeit auf das BOLD-Aktivierungsmuster an einer separaten Gruppe getestet.

#### 4.1.4.1 Hämodynamische Effekte

Der Einfluss der höheren Pulsanzahl im Vergleich zur Stimulation mit 50 Pulsen je Sekunde wird vor allem im generierten BOLD-Aktivierungsmuster deutlich (Abbildung 4.8, oben). In den 8 getesteten Versuchstieren wurde eine BOLD-Antwort im ipsilateralen HC erfasst, deren Maximalwert sich während der langen kontinuierlichen Stimulation gering vergrößerte (Mann-Whitney-Test:  $U = 14$ ;  $Z = -1,89$ ;  $p = 0,029$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 8$ ; Abbildung 4.8 A). Kennzeichnend für dieses Stimulationsmuster, sowohl für die kurze als auch die lange Stimulationszeit, waren die Nachentladungen nach nahezu jeder Stimulationsphase. Einzig in der zweiten und dritten Stimulationsphase konnte dieses synchronisierte Feuern der Neurone im DG nicht beobachtet werden. Dementsprechend kleiner war auch die maximale BOLD-Antwort, die sich zwischen kurzer und langer Stimulation mit 100 Pulsen nicht unterschied (Wilcoxon-Rang-Test: Stimulationsphase 2:  $p = 0,535$ , Stimulationsphase 3:  $p = 0,325$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 8$ ). Zusätzlich zum ipsilateralen HC konnte eine BOLD-Antwort im contralateralen HC erfasst werden, welche sich in Abhängigkeit von der Länge der Stimulation (Mann-Whitney-Test:  $U = 9$ ;  $Z = -2,41$ ;  $p = 0,007$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 8$ ) verstärkte. Im Gegensatz zur Stimulation mit 20 Pulsen war die maximale BOLD-Antwort während kurzer und langer Stimulation mit 100 Pulsen der ersten Stimulationsphase nicht signifikant größer als der gemittelte Wert der nachfolgenden Stimulationsphasen (Wilcoxon-Rang-Test: kurze Stimulation:  $p = 0,36$ ; lange Stimulation:  $p = 0,563$ ;  $n_{\text{Phasen}} = 8$ ). Der zeitliche Verlauf der generierten BOLD-Antwort in beiden entorhinalen Cortices entspricht dem des ipsilateralen und contralateralen Hippocampus. Im Gegensatz zum ipsilateralen EC unterschied sich auch im contralateralen EC die erfasste BOLD-Antwort in Abhängigkeit von der Länge der Stimulation (Mann-Whitney-Test: ECc:  $U = 14$ ;  $Z = -1,89$ ;  $p < 0,03$ , ECi:  $U = 19$ ;  $Z = -1,32$ ;  $p = 0,086$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 8$ ).



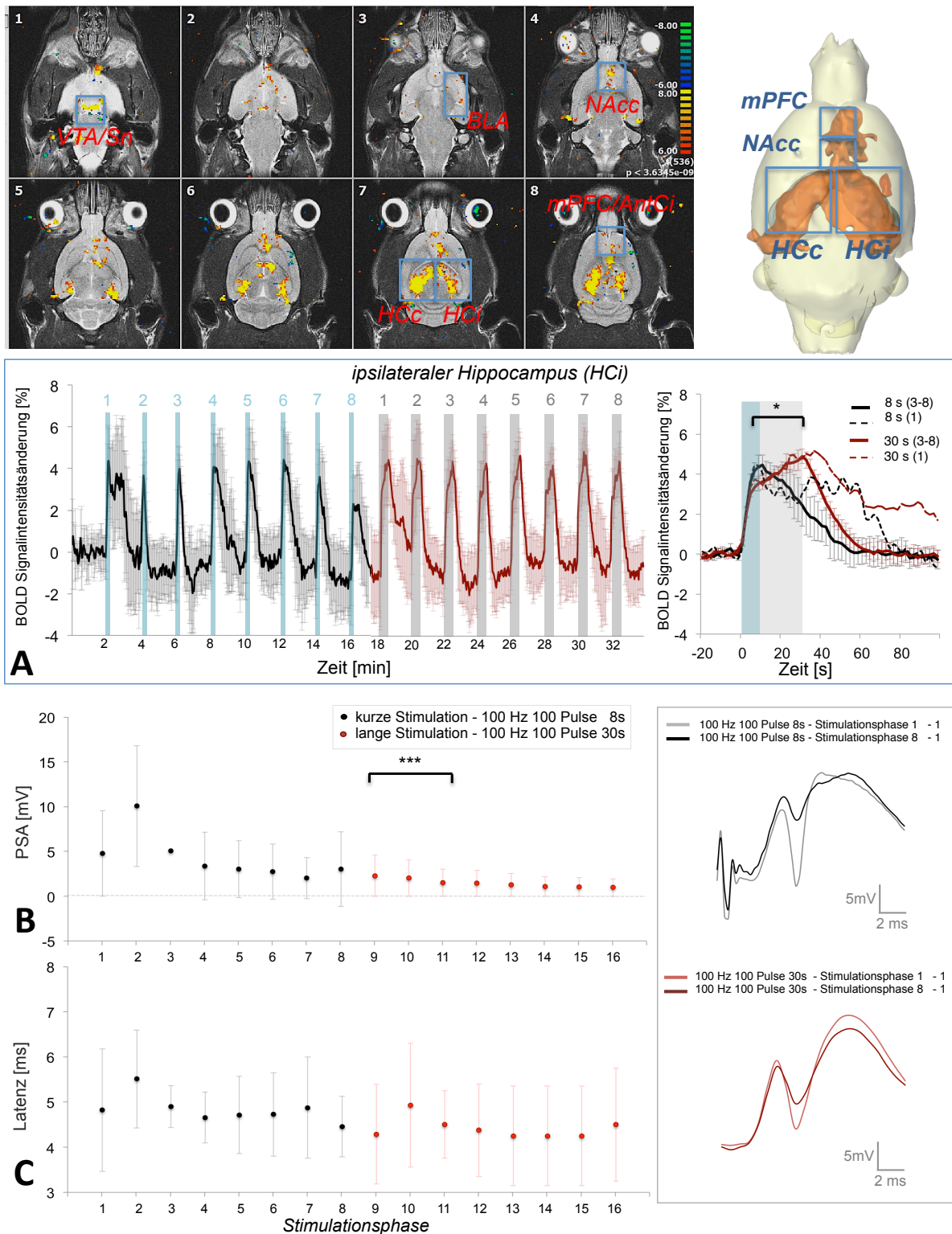


Abbildung 4.8 | Vergleich der gleichzeitig aufgezeichneten fMRT-Daten und Feldpotentiale im *Gyrus dentatus* der Ratte während der kontinuierlichen hochfrequenten Stimulation des *Tractus perforans*. (Oben) Aktivierungsbeispiel kurzer und langer kontinuierlicher Stimulation des TP mit 100 Pulsen in in 8 von 10 gemessenen Schichten (links) und im gemittelten 3D-Modell der registrierten BOLD-Signalintensitäten aller Versuchstiere (n = 8). Signifikant aktivierte Voxel ( $p < 0,05$ ) sind auf einer log. Farbskala von gelb nach rot codiert und dargestellt. (A) Die hochfrequente Stimulation des TP induzierte eine starke BOLD-Antwort im ipsilateralen HC während kurzer und langer Stimulationsphasen. (A, rechte Seite) Die

HRF stellt den Verlauf der gemittelten BOLD-Antwort der Versuchstiere dar ( $MW \pm Stabw$ ; Stimulationsphasen 3-8). Lange Stimulationen mit 100 Pulsen (rot) führten zu einem signifikanten Anstieg der maximal erreichten BOLD-Antwort im ipsilateralen HC im Vergleich zur BOLD-Antwort kurzer Stimulationsphasen des 1. Stimulations-Abschnitts (schwarz). (B) Die gleichzeitig gemessenen Feldpotentiale im *Gyrus dentatus* zeigten eine signifikante Reduktion der PSA bei aufeinanderfolgenden Stimulationsphasen während der beiden Stimulationsbedingungen. (C) Während der beiden Stimulationsbedingungen ging die durchschnittliche Latenzzeit während aufeinanderfolgender Stimulationsphasen deutlich zurück. Ein repräsentatives Beispiel der elektrophysiologischen Antwort des DG auf den ersten Puls der jeweils ersten und letzten Stimulationsphase der kurzen kontinuierlichen Stimulation (schwarz/grau) und der langen kontinuierlichen Stimulation (hellrot/rot) wird auf der rechten Seite dargestellt.



Durch die Stimulation mit 100 Pulsen wurden auch außerhalb der hippocampalen Formation signifikante BOLD-Antworten generiert. Kurze Stimulationsphasen erzeugten dabei eine BOLD-Antwort mPFC/ACi (Abbildung 4.9 A), im NAcc (Abbildung 4.9 B), in der VTA/Sn-Region (Abbildung 4.9 C) als auch der BLA (Abbildung 4.9 D). Entgegen dem Verlauf der BOLD-Antwort im rechten Hippocampus war die in der ersten Stimulationsphase erfasste BOLD-Antwort in zwei Regionen (mPFC/AC, VTA/Sn) deutlich geringer als in allen folgenden Stimulationsphasen (Wilcoxon-Rang-Test:  $p < 0,005$ ;  $n_{\text{Phasen}} = 8$ ). Einzig die BOLD-Antwort im NAcc erreichte sowohl zu Beginn als auch gegen Ende des Stimulationsabschnitts eine gleichwertige starke BOLD-Antwort (Wilcoxon-Rang-Test:  $p = 0,09$ ;  $n_{\text{Phasen}} = 8$ ; Abbildung 4.9 B). In Relation zu allen aktivierten hippocampalen Strukturen (HCi, HCc; ECi; ECc), erfolgt der Beginn der hämodynamischen Antwort in allen aktivierten subcorticalen und corticalen Regionen deutlich verzögert (Abbildung 4.9; rechte Seite). Dabei wurde im Vergleich zum rechten Hippocampus erkennbar, dass der Anstieg der hämodynamischen Antwort (*hemodynamic response function* - HRF) der mesolimbischen Strukturen innerhalb der ersten Sekunden (8 s) aller gemittelten Stimulationsphasen selbst bei maximaler BOLD-Antwort deutlich geringer ist. Während eine Stimulation mit 100 Pulsen im rechten Hippocampus einen raschen Anstieg vom Stimulationsbeginn bis zum Maximum auslöst, erfolgt im mPFC/ACi und im VTA ein biphasischer Verlauf (Abbildung 4.9 A und C; rechte Seite). Dem zunächst raschen Anstieg folgte eine Senkung der BOLD-Antwort und nachfolgend ein erneuter Anstieg. Eine längere

Stimulationsphase führte somit sowohl im NAcc (Mann-Whitney-Test:  $U = 3$ ;  $Z = -3,04$ ;  $p < 0,005$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 8$ ), im mPFC (Mann-Whitney-Test:  $U = 7$ ;  $Z = -2,62$ ;  $p = 0,004$ ,  $n_{\text{Ratten}} = 8$ ) und in der VTA/Sn-Region (Mann-Whitney-Test:  $U = 7$ ;  $Z = -2,62$ ;  $p = 0,004$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 8$ ) zu einer signifikanten Erhöhung der maximalen BOLD-Antwort. Die BOLD-Signalintensitätsänderung in der BLA erhöhte sich signifikant in Abhängigkeit von der Stimulationsdauer (Mann-Whitney-Test:  $U = 8$ ;  $Z = -2,51$ ;  $p = 0,006$ ,  $n_{\text{Ratten}} = 8$ ).

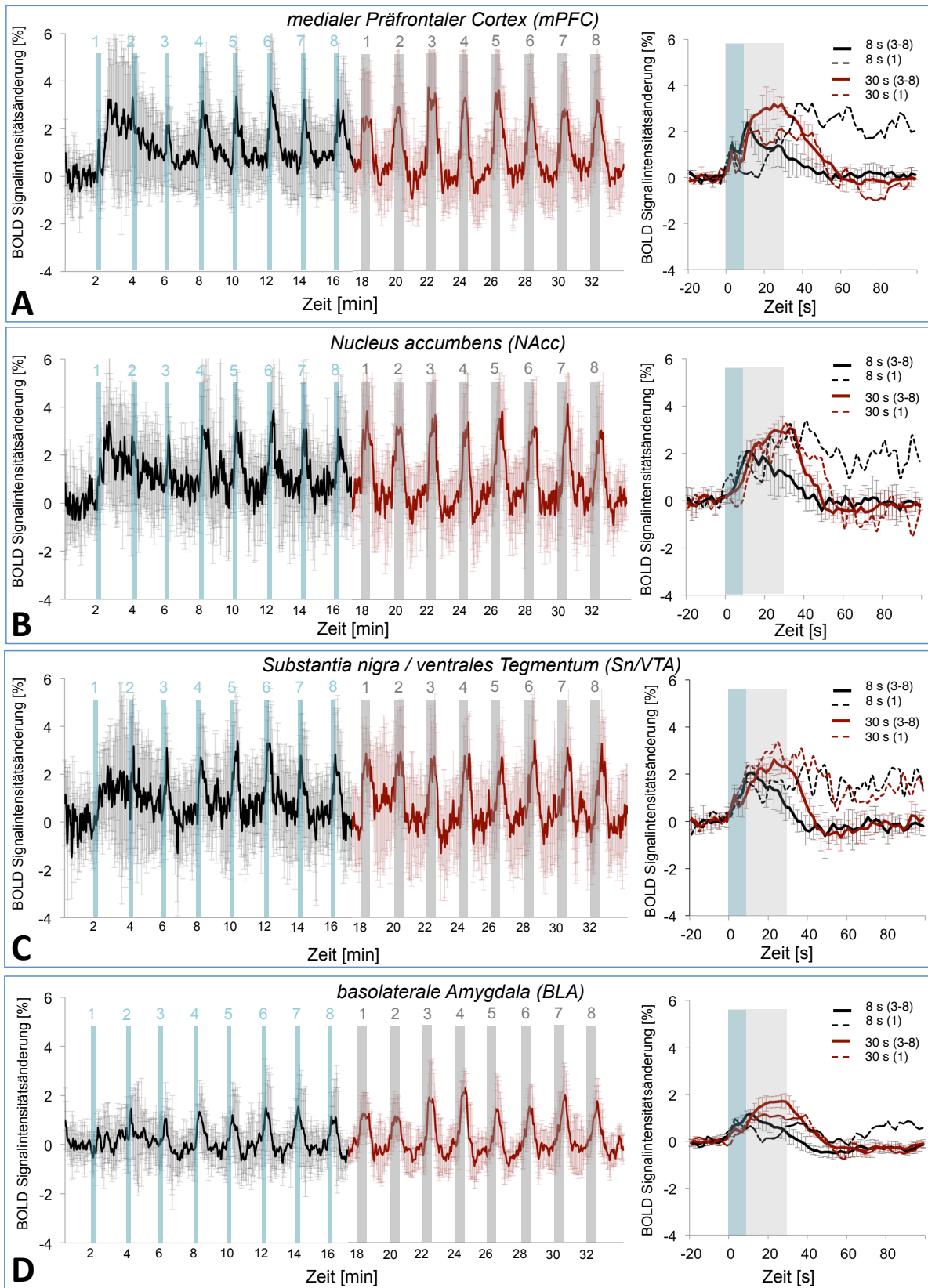


Abbildung 4.9 | Vergleich der zeitlichen Verläufe der BOLD-Antwort signifikant aktivierter Regionen außerhalb des Hippocampus während der kurzen (schwarz) und langen (rot) Stimulation des *Tractus perforans* mit 100 Pulsen. BOLD-Signalintensitäten wurden im (A) medialen präfrontalen Cortex, (B) im Nucleus accumbens, (C) im ventralen Tegmentum und (D) der basolateralen Amygdala registriert. Die auf der rechten Seite dargestellten HRFs der aktivierten Regionen entsprechen der gemittelten BOLD-Antwort aller gemessener

Versuchstiere ( $n = 8$ ) der Stimulationsphase 3-8 (glatte Linie) im Vergleich zur ersten Stimulationsphase (gestrichelte Linie). Signifikante BOLD-Signalintensitäten wurden in mesolimbischen Strukturen erst nach der ersten kurzen Stimulationsphase generiert. Eine lange Stimulationsphase gefolgt auf einen Stimulations-Abschnitt mit kurzen kontinuierlichen Stimulationen generierte eine signifikant größere BOLD-Antwort im NAcc, im mPFC/ACi Region und dem VTA/Sn-Komplex. Auch die BOLD-Signalintensitätsänderung der basolateralen Amygdala (BLA, D) steigt geringfügig in Abhängigkeit von der Stimulationslänge an.



Um eine Aussage über den möglichen Einfluss der kurzen Stimulation mit 100 Pulsen des ersten Versuchsabschnitts auf die BOLD-Antwort des folgenden Abschnitt mit langer Stimulationsphase treffen zu können, wurde in einem zweiten Experiment der TP ausschließlich mit langen Stimulationsphasen stimuliert. Das generierte BOLD-Muster in den fünf gemessenen Versuchstieren unterschied sich dabei nicht vom zuvor generierten. BOLD-Signalintensitätsänderungen konnten im ipsilateralen und contralateralen HC erfasst werden. Im Gegensatz zum vorherigen Experiment wurde jedoch die maximale BOLD-Antwort im ipsilateralen HC bereits in den ersten Sekunden der Stimulation erreicht (Abbildung 4.10 A). Dementsprechend unterschied sich der Anstieg der hämodynamischen Antwort (HRF) im ipsilateralen Hippocampus signifikant von der langen Stimulationsphase mit 100 Pulsen des zuvor durchgeführten Experiments (Mann-Whitney-Test:  $U = 2$ ;  $Z = -3,25$ ,  $p < 0,001$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 6$ ). Der Anstieg der BOLD-Antwort im contralateralen HC fiel vergleichsweise geringer aus, erreichte jedoch ein signifikant stärkere BOLD-Antwort als während der langen Stimulationsphasen des vorherigen Versuchs (Mann-Whitney-Test:  $U = 10$ ;  $Z = -2,41$ ;  $p = 0,007$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 6$ ). Auch die BOLD-Antwort im ipsilateralen EC wies einen erhöhten Maximalwert auf, der auch hier erst am Ende des Stimulationsphasen erreicht wurde (Mann-Whitney-Test:  $U = 2$ ;  $Z = -3,25$ ;  $p < 0,001$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 6$ ). Der Verlauf der hämodynamischen Antwort im contralateralen EC unterschied sich ebenfalls zwischen den langen Stimulationen beider Stimulationsabschnitte mit 100 Pulsen (Mann-Whitney-Test:  $U = 8$ ;  $Z = -2,52$ ;  $p = 0,006$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 6$ ). Durch eine lange Stimulationsphase mit 100 Pulsen konnte auch in diesem Experiment eine BOLD-Antwort in den mesolimbischen subcorticalen und corticalen Strukturen generiert werden (NAcc, mPFC/ACi, VTA/Sn, BLA). Die maximale BOLD-Antwort wurde erst mit zunehmender Anzahl der Stimulationsphasen erreicht. Obwohl

nahezu gleiche maximale BOLD-Antworten erreicht wurden, erhöhte die lange kontinuierliche Stimulation den Anstieg der BOLD-Antwort im mPFC/ACi ( $\text{BOLD}_{\text{Anstieg}} = 0,3 \pm 0,12$ ) und in der VTA/Sn-Region ( $\text{BOLD}_{\text{Anstieg}} = 0,17 \pm 0,08$ ). Diese Beschleunigung beruhte nicht auf der alleinigen Wirkung der Stimulation, denn durch lange Stimulation des TP mit 100 Pulsen im zweiten Versuchsabschnitt war der Anstieg der BOLD-Antwort vergleichsweise im mPFC/ACi (Mann-Whitney-Test:  $U = 2$ ;  $Z = -3,25$ ;  $p < 0,001$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 8$ ; Abbildung 4.12 A) als auch der VTA/Sn-Region signifikant niedriger (Mann-Whitney-Test:  $U = 12$ ;  $Z = -2,25$ ,  $p = 0,005$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 8$ ; Abbildung 4.12 C). Demgegenüber blieb sowohl die BOLD-Antwort im NAcc (Mann-Whitney-Test:  $U = 23$ ;  $Z = -1,05$ ,  $p = 0,146$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 8$ ; Abbildung 4.12 B) unbeeinflusst vom Zeitpunkt des Stimulationsabschnitts. Im Gegensatz zu den vorhergehenden Untersuchungen erreichte die BLA (Abbildung 4.12 D) nicht die maximale BOLD-Antwort des zweiten Stimulations-Abschnitts des vorhergehenden Experiments ( $\text{BOLD}_{\text{max}} = 1,01 \pm 0,34 \%$ ) und war damit signifikant geringer (Mann-Whitney-Test:  $U = 7$ ;  $Z = -2,71$ ;  $p = 0,009$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 8$ ).

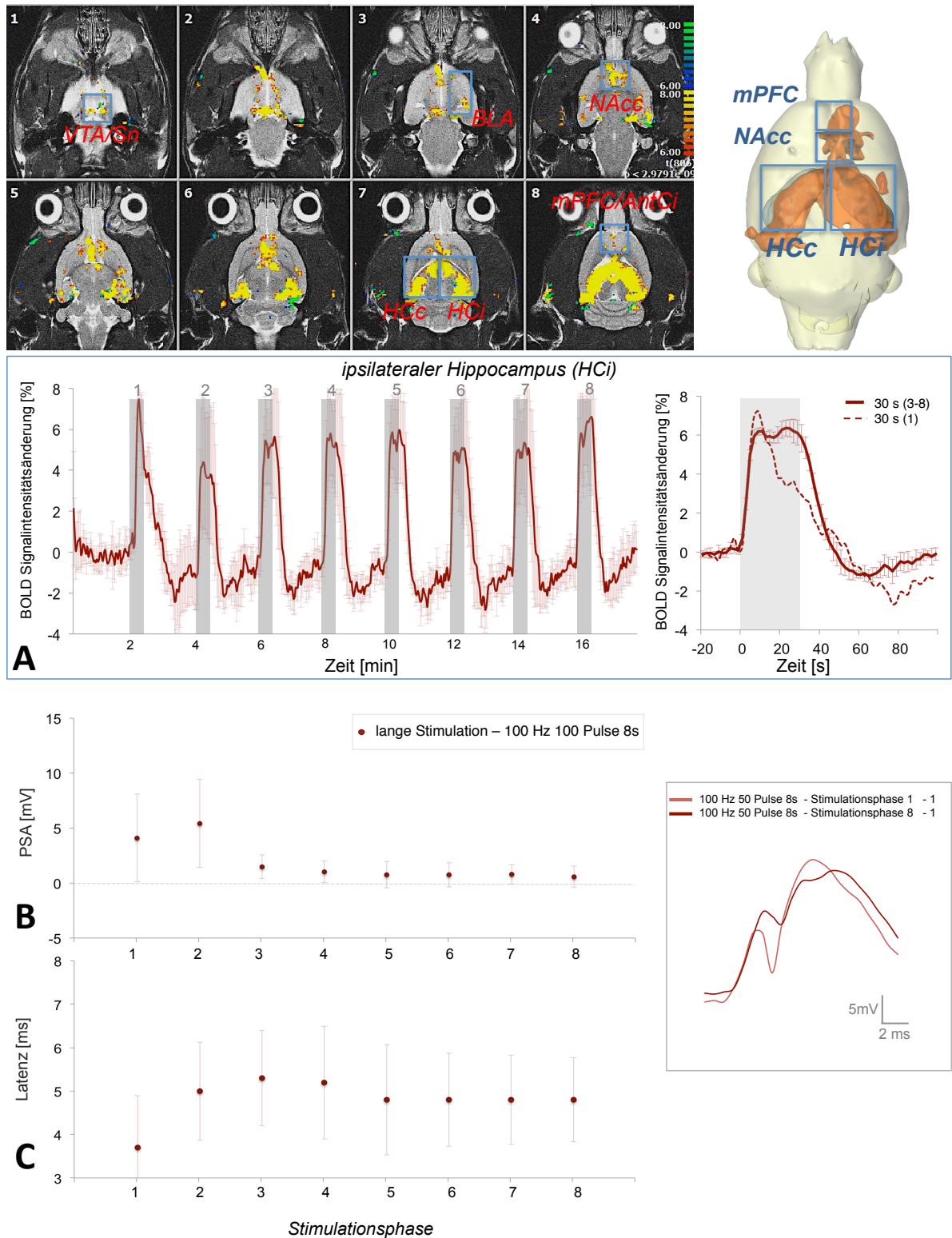


Abbildung 4.10 | Vergleich der gleichzeitig aufgezeichneten fMRT-Daten und Feldpotentiale im *Gyrus dentatus* der Ratte während der langen hochfrequenten Stimulation des *Tractus perforans* mit 100 Pulsen. (Oben) Aktivierungsbeispiel langer Stimulationsphasen des TP mit 100 Pulsen des naiven HC (links oben) im Vergleich zum gemittelten 3D-Modell der registrierten BOLD-Signale aller Versuchstiere ( $n_{\text{Ratten}} = 5$ ). Signifikant aktivierte Voxel ( $p < 0,05$ ) sind auf einer log. Farbskala von gelb nach rot codiert und in 8 von 10 gemessenen Schichten dargestellt. (A) Die hochfrequente Stimulation des TP induzierte eine robuste BOLD-Antwort im ipsilateralen HC. (A, rechte Seite) Die HRF stellt den Verlauf der

gemittelten BOLD-Antwort der Versuchstiere dar ( $MW \pm Stabw$ ; Stimulationsphasen 3-8). Lange Stimulationen mit 100 Pulsen (rot) führten zu einem signifikanten Anstieg der maximal erreichten BOLD-Antwort im ipsilateralen HC. (B) Die gleichzeitig gemessenen Feldpotentiale im *Gyrus dentatus* zeigten eine signifikante Reduktion der PSA bei aufeinanderfolgenden Stimulationsphasen, beginnend ab der zweiten Stimulationsphase. (C) Die durchschnittliche Latenzzeit während aufeinanderfolgender Stimulationsphasen steigt bis zur 3. Stimulationsphase an und erreicht einen Plateau-Wert. Ein repräsentatives Beispiel der neurophysiologischen Antwort der Körnerzellen des DG auf den ersten Puls der jeweils ersten und letzten Stimulationsphase der kurzen kontinuierlichen Stimulation (schwarz/grau) und der langen kontinuierlichen Stimulation (hellrot/rot) wird auf der rechten Seite dargestellt.

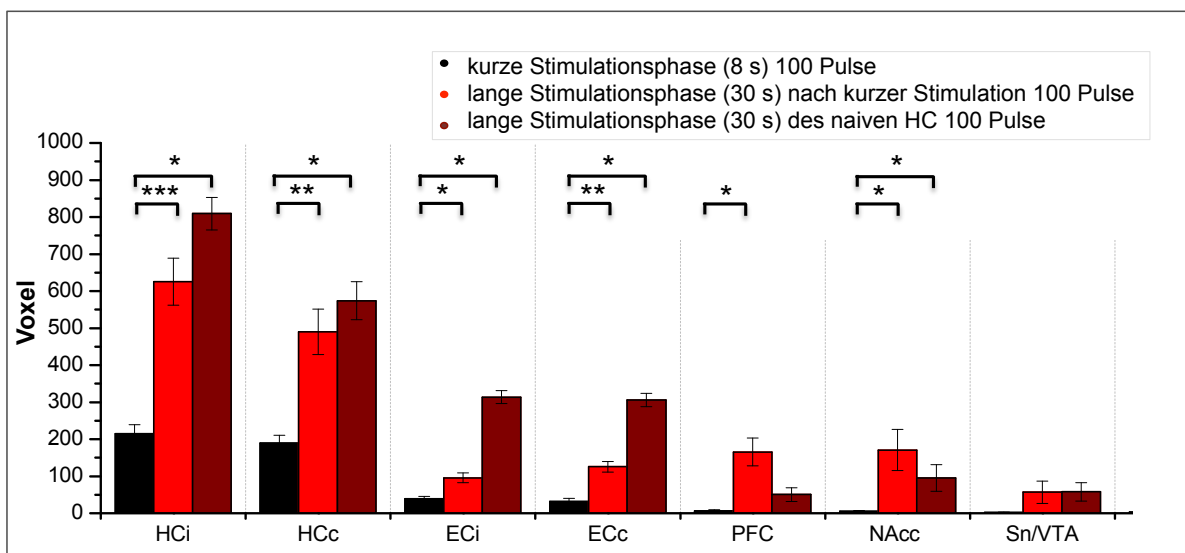


Abbildung 4.11 | Vergleich der Voxelanzahl signifikant aktivierter Regionen der hochfrequenten kontinuierlichen Stimulationsphasen mit 100 Pulsen. Die Werte werden in Anzahl der aktivierten Voxel ( $MW \pm Stabw$ ) aller gemessenen Tiere dargestellt ( $n_{Ratten} = 8$ ). Bis auf die VTA/Sn-Region führte eine längere Stimulation des *Tractus perforans* mit 100 Pulsen in allen aktivierten Regionen zu einer gestiegenen Anzahl signifikant aktivierter Voxel. Statistisch dargestellt ist das Signifikanzniveau, auf dem sich die Anzahl der Voxel in den aktivierten Regionen der Stimulationsprotokolle unterscheiden mit  $*p < 0,05$ ,  $**p < 0,01$ ,  $***p < 0,001$ .



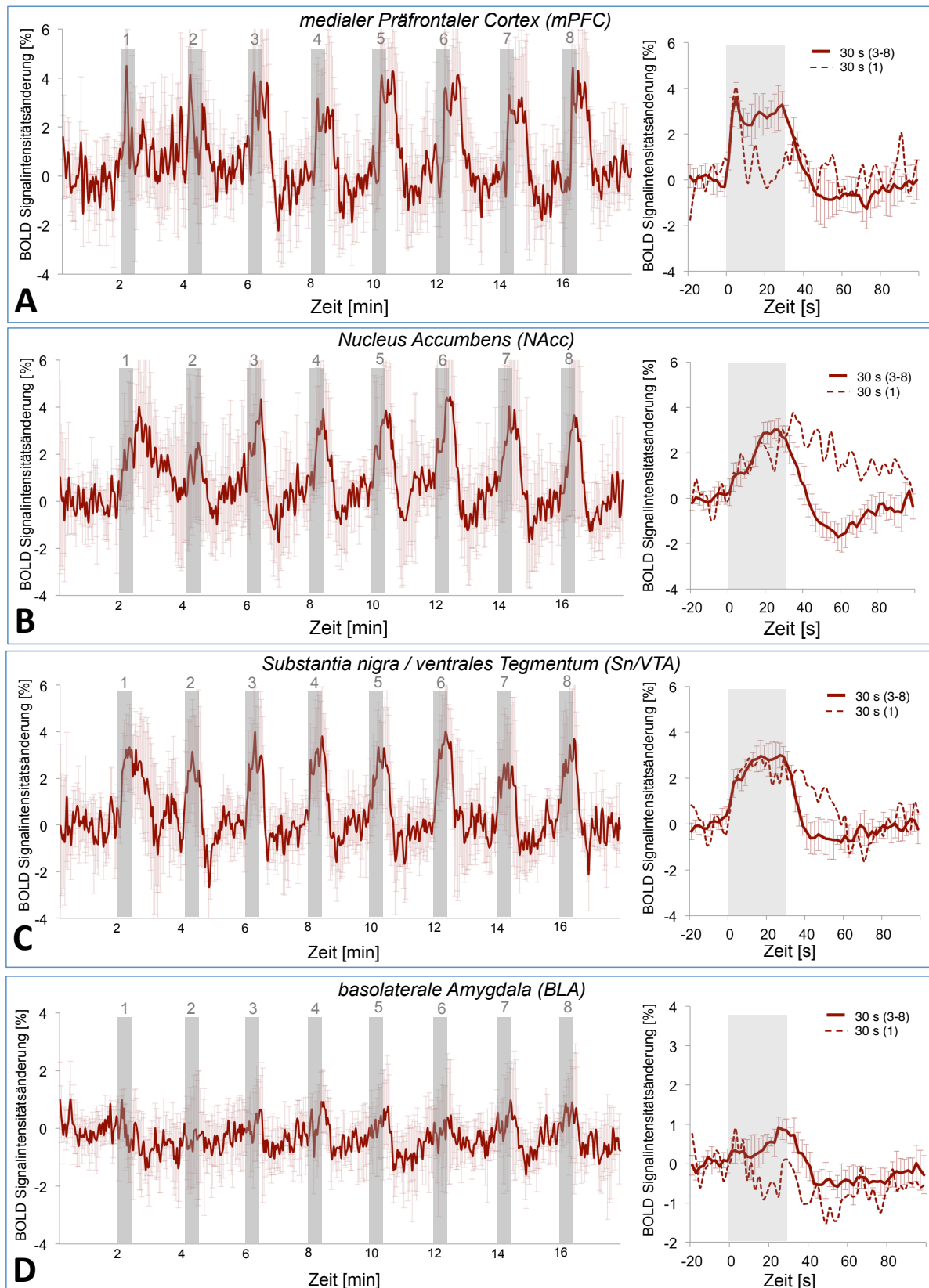


Abbildung 4.12 | Vergleich der zeitlichen Verläufe der BOLD-Antwort signifikant aktivierter Regionen außerhalb des Hippocampus während der langen (rot) Stimulation des *Tractus perforans* mit 100 Pulsen. BOLD-Signalintensitäten wurden im (A) medialen präfrontalen Cortex, (B) im Nucleus accumbens, (C) im ventralen Tegmentum und (D) der basolateralen Amygdala registriert. Die auf der rechten Seite dargestellten HRFs der aktivierten Regionen

entsprechen der gemittelten BOLD-Antwort aller gemessener Versuchstiere ( $n_{\text{Ratten}} = 8$ ) der Stimulationsphase 3-8 (glatte Linie). Bereits in der ersten Stimulationsphase (gestrichelte Linie) wurden signifikante BOLD-Signalintensitäten in mesolimbischen Strukturen generiert.



#### 4.1.4.2 Neurophysiologische Effekte der kontinuierlichen Stimulation

Bei der hochfrequenten Stimulation des TP mit 100 Pulsen wurde nur ein Summenaktionspotenzial als Antwort zum ersten Puls generiert. Somit wurde trotz unterschiedlicher Dauer der Stimulation nur ein PS je Stimulationsphase erfasst. Dabei unterschieden sich die im DG gemessenen PS Amplituden der kurzen Stimulationsphasen mit 100 Pulsen signifikant von denen der langen Stimulationsphasen (Mann-Whitney-Test:  $U = 1$ ;  $Z = -3,25$ ;  $p < 0,001$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 8$ ; Abbildung 4.8 B), wenn beide Stimulationsprotokolle am selben Versuchstier nacheinander untersucht wurden (Tabelle 4.3). Während sich die gemittelte PS Amplitude in der zweiten kurzen Stimulationsphase mehr als verdoppelte, unterblieb dieser Effekt in den anschließenden Stimulationen mit langen Pulsen. Wurde in einer separaten Gruppe der TP nur mit langen kontinuierlichen 100 Hz Pulsfolgen stimuliert, dann stieg, genau wie bei der kurzen Stimulation mit 100 Pulsen, die PS-Amplitude in der zweiten Stimulationsphase an und sank anschließend stark ab. Allerdings wurde auch hier ein signifikanter Unterschied zur kurzen Stimulationsphase festgestellt (Mann-Whitney-Test:  $U = 15$ ;  $Z = -1,97$ ;  $p < 0,043$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 8$ ).

Im Verlauf des Experiments mit kurzen und langen Stimulationsphasen stieg die Latenz bis zur zweiten Stimulationsphase an und reduzierte sich anschließend von Stimulationsphase zu Stimulationsphase. In naiven Tieren war damit die durchschnittliche PS-Latenz kurzer Stimulationsphasen mit 100 Pulsen (Tabelle 4.3) signifikant höher im Vergleich zur PS-Latenz der anschließend folgenden langen Stimulationsphasen (Mann-Whitney-Test:  $U = 9$ ;  $Z = -2,41$ ;  $p = 0,008$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 8$ ; Tabelle 4.3). Auch die PS-Latenz ausschließlich langer Stimulationsphasen sank nach einem Anstieg in der zweiten Stimulationsphase und blieb während der nachfolgenden langen Stimulationsphasen deutlich verringert. Somit unterschied sich die PS-Latenz beider Stimulationsphasen nicht signifikant voneinander (Mann-Whitney-Test:  $U = 1$ ;  $Z = -3,25$ ;  $p < 0,001$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 8$ ; Tabelle 4.3).

Tabelle 4.3 | Elektrophysiologisch gemessene Parameter der Aktivität der Körnerzellen im DG und die dazugehörigen maximalen BOLD-Antworten in sich wiederholenden hochfrequenten Stimulationen des *Tractus perforans* mit 100 Pulsen.

		Gyrus dentatus (DG)		ipsilateraler Hippocampus (HCi)		Statistik
		PSA [mV]	Latenz [ms]	BOLD Anstieg	BOLD max [%]	PEARSON [r]
<b>kurze kontinuierliche Stimulation 100 Hz 100 Pulse 8s</b>	Stimulationsphase 1	4,78	4,24	0,67	4,41	BOLD <sub>max</sub> -PSA -0,28
	Stimulationsphase 2	10,07	5,51	0,51	3,94	BOLD <sub>max</sub> -PSL -0,11
	Stimulationsphase 3	5,08	4,9	0,61	4,92	
	Stimulationsphase 4	3,38	4,66	0,71	4,66	
	Stimulationsphase 5	3,04	4,71	0,70	4,88	
	Stimulationsphase 6	2,73	4,73	0,60	4,67	
	Stimulationsphase 7	2,03	4,88	0,59	4,27	
	Stimulationsphase 8	3,04	4,46	0,49	3,65	
	MW [1-8]	<b>4,27</b>	<b>4,76</b>	MW [3-8] <b>0,61</b>	<b>4,51</b>	
	Stabw	<b>2,56</b>	<b>0,37</b>	Stabw <b>0,08</b>	<b>0,45</b>	
<b>lange kontinuierliche Stimulation 100 Hz 100 Pulse 30s</b>	Stimulationsphase 1	1,51	6,79	0,54	5,03	BOLD <sub>max</sub> -PSA 0,272
	Stimulationsphase 2	0,63	5,92	0,43	3,88	BOLD <sub>max</sub> -PSL 0,266
	Stimulationsphase 3	0,97	7,2	0,49	5,11	
	Stimulationsphase 4	0,79	6,3	0,48	5,30	
	Stimulationsphase 5	0,79	6,39	0,45	5,19	
	Stimulationsphase 6	0,98	7,12	0,48	4,30	
	Stimulationsphase 7	0,84	6,7	0,42	5,10	
	Stimulationsphase 8	0,62	6,33	0,43	4,76	
	MW [1-8]	<b>0,89</b>	<b>6,59</b>	MW [3-8] <b>0,47</b>	<b>4,96</b>	
	Stabw	<b>0,28</b>	<b>0,44</b>	Stabw <b>0,04</b>	<b>0,50</b>	
<b>lange kontinuierliche Stimulation 100 Hz 100 Pulse 30s ohne Vorstimulation</b>	Stimulationsphase 1	4,1	3,7	1,14	7,23	BOLD <sub>max</sub> -PSA -0,399
	Stimulationsphase 2	5,42	5	0,89	5,37	BOLD <sub>max</sub> -PSL -0,573
	Stimulationsphase 3	1,48	5,3	0,76	6,35	
	Stimulationsphase 4	1,02	5,2	0,98	6,39	
	Stimulationsphase 5	0,77	4,8	0,96	6,64	
	Stimulationsphase 6	0,74	4,8	0,96	6,38	
	Stimulationsphase 7	0,78	4,8	0,85	6,36	
	Stimulationsphase 8	0,58	4,8	0,96	7,22	
	MW [1-8]	<b>1,86</b>	<b>4,80</b>	MW [3-8] <b>0,94</b>	<b>6,49</b>	
	Stabw	<b>1,84</b>	<b>0,49</b>	Stabw <b>0,11</b>	<b>0,59</b>	

Zusammengefasst sind die aufgezeichneten Durchschnittswerte der experimentellen fMRT-Untersuchungen (n = 8 Tiere pro Gruppe). Die BOLD<sub>max</sub>-Werte stellen den prozentualen Anstieg der BOLD-Signalintensität dar und der BOLD<sub>Anstieg</sub> repräsentiert die Steigung zwischen Stimulationsbeginn und der maximal generierten BOLD-Signalintensität. Alle elektrophysiologischen Daten sind Mittelwerte der gemessenen Versuchstiere. Die statistische Korrelation (rechte Spalte) stellt den Zusammenhang zwischen neurophysiologischen Antworten der Stimulationsphasen im DG und der BOLD-Antwort im ipsilateralen Hippocampus dar.

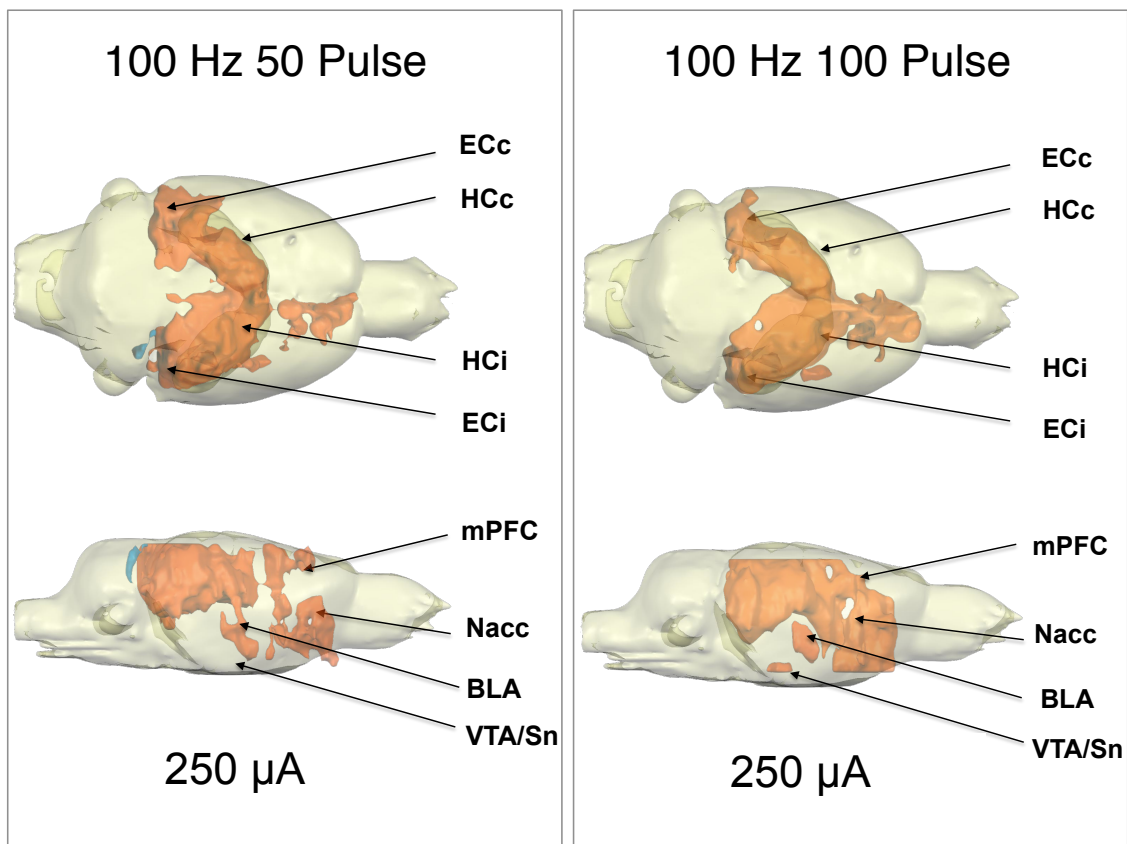
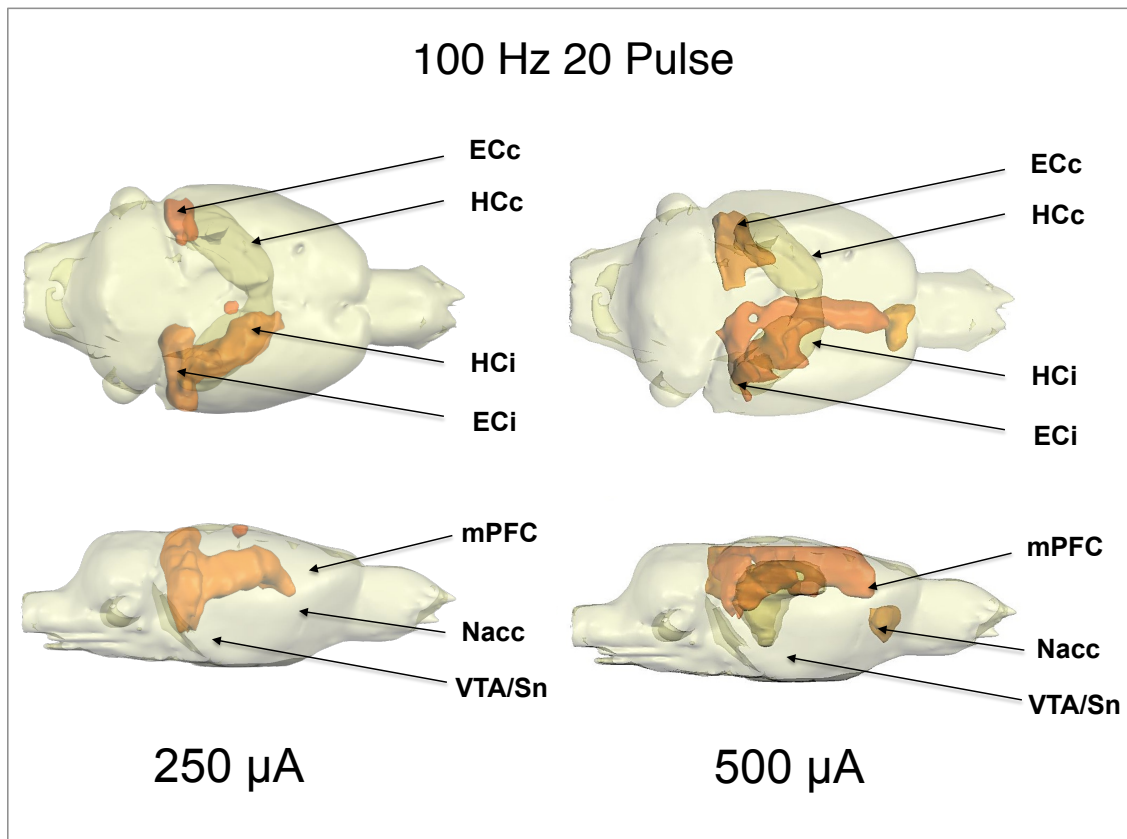


Abbildung 4.13 | Visualisierung aller Regionen im 3D-Modell des Ratten-Gehirns, die eine signifikante BOLD-Antwort während der vier unterschiedlichen hochfrequenten *Tractus perforans*-Stimulationsprotokolle generierten.

(Oben links) Die hochfrequente elektrische Stimulationen *Tractus perforans* mit 20 Pulsen bei 50% Stimulationsintensität (250  $\mu$ A) erzeugte signifikante BOLD-Antworten in der ipsilateralen Hippocampus-Formation (HCi) (d.h. *Gyrus dentatus*, *Hippocampus proper*, *Subiculum* und *entorhinalen Cortex* (ECi)) und der Region des contralateralen *entorhinalen Cortex* (ECc). (Oben rechts) Eine Erhöhung der Stimulationsintensität auf 500  $\mu$ A führte zur Aktivierung des contralateralen Hippocampus (HCc) und generierte zusätzlich außerhalb des Hippocampus ein BOLD-Antwort im medialen präfrontalen Cortex (mPFC) und im Nucleus accumbens (NAcc). (Unten links) Während der hochfrequenten Stimulation mit 50 Pulsen wurde neben der BOLD-Signalintensität der Hippocampus-Formation, dem mPFC-Region und dem NAcc zusätzlich die Region des ventralen Tegmentums (VTA/Sn) aktiviert.

(Unten rechts) Die hochfrequente Stimulation des TP mit 100 Pulsen induzierte eine BOLD-Antwort in der Hippocampus-Formation als auch in den mesolimbischen Strukturen des NAcc, des mPFC, der VTA/Sn-Region und zusätzlich in der basolateralen Amygdala (BLA).



Anders als unter diskontinuierlichen Stimulationsbedingungen mit 20 Pulsen bei 50%iger Stimulationsintensität, generierten kurze und lange kontinuierliche Stimulationsphasen mit 100 Pulsen BOLD-Antworten in Zielgebieten der Hippocampus Formation (Abbildung 4.13). Kurze kontinuierliche Stimulationen lösten demnach signifikante BOLD-Antworten im mPFC/ACi, dem NAcc und dem VTA aus. Im Gegensatz zu den lokalen BOLD-Antworten in der Hippocampus-Formation, wurden alle subcorticalen und corticalen Regionen erst nach der zweiten kurzen Stimulationsphase aktiviert. Wie erwartet, wurden im ipsilateralen Hippocampus starke BOLD-Signalintensitäten bereits in der ersten Stimulationsphase verzeichnet. Die im EEG registrierten starken Entladungen der Projektions-Neurone im ipsilateralen Hippocampus traten sowohl innerhalb als auch nach nahezu jeder der gemessenen Stimulationsphasen auf. Die erste Stimulationsphase im ipsilateralen HC unterschied sich damit auch nicht mehr von den nachfolgenden Stimulationsphasen. Längere kontinuierliche Stimulationsphasen induzierten eine größere maximale BOLD-Antwort im mPFC/ACi im Vergleich zur kurzen kontinuierlichen Stimulation mit 100 Pulsen. Dies konnte auch für den Bereich des NAcc festgestellt werden, jedoch nicht im SN/VTA-Komplex. Eine signifikante BOLD-Antwort im Bereich der BLA war offenbar nicht abhängig von der Länge der Stimulation. Im Gegensatz zu den beobachteten gemittelten hämodynamischen Antwort im ipsilateralen Hippocampus, löste die gleiche Stimulation verschiedene

HRFs in der ACC/mPFC und SN/VTA-Region aus. Die HRF im NAcc war gekennzeichnet durch einen verzögerten Anstieg der BOLD-Antwort.

Tabelle 4.4 | Zusammenfassung der generierten BOLD-Signalintensitätsänderungen der aktivierten Hirnareale der drei Stimulationsprotokolle kurzer Stimulationsphasen (8 s) des *Tractus perforans*.

ROI	100 Hz 20 Pulse 8s		100 Hz 50 Pulse 8s		100 Hz 100 Pulse 8s		p-Wert (BOLD <sub>max</sub> )		
	BOLD <sub>max</sub> [%]	BOLD Anstieg	BOLD <sub>max</sub> [%]	BOLD Anstieg	BOLD <sub>max</sub> [%]	BOLD Anstieg	20 vs. 50 Pulse	20 vs. 100 Pulse	50 vs. 100 Pulse
<i>HCI</i>	3,19 ± 0,44	0,42 ± 0,12	4,38 ± 0,39	0,47 ± 0,04	4,50 ± 0,48	0,61 ± 0,07	<b>0,017</b>	<b>0,006</b>	0,172
<i>HCC</i>	1,61 ± 0,68	0,07 ± 0,11	4,38 ± 0,40	0,44 ± 0,07	3,30 ± 0,36	0,34 ± 0,031	<b>&lt; 0,001</b>	<b>0,002</b>	<b>0,029</b>
<i>ECi</i>	4,30 ± 0,57	0,57 ± 0,15	3,73 ± 0,21	0,41 ± 0,03	5,34 ± 0,53	0,73 ± 0,12	<b>0,037</b>	<b>0,006</b>	<b>&lt; 0,001</b>
<i>ECc</i>	2,33 ± 0,53	0,26 ± 0,10	4,41 ± 0,66	0,49 ± 0,10	5,21 ± 0,56	0,49 ± 0,09	<b>&lt; 0,001</b>	<b>&lt; 0,001</b>	<b>0,037</b>
<i>mPFC</i>	0,90 ± 0,32	0,10 ± 0,08	2,12 ± 0,47	0,06 ± 0,22	2,43 ± 0,61	0,07 ± 0,07	<b>0,004</b>	<b>&lt; 0,001</b>	0,2
<i>NAcc</i>	0,26 ± 0,22	0,01 ± 0,07	2,18 ± 0,41	0,14 ± 0,03	2,47 ± 0,39	0,16 ± 0,08	<b>&lt; 0,001</b>	<b>&lt; 0,001</b>	0,07
<i>BLA</i>	0,27 ± 0,35	0,03 ± 0,12	1,19 ± 0,53	0,03 ± 0,03	1,20 ± 0,18	0,08 ± 0,06	<b>&lt; 0,001</b>	<b>&lt; 0,001</b>	0,146
<i>VTA/Sn</i>	0,30 ± 0,11	0,01 ± 0,08	2,48 ± 0,39	0,19 ± 0,05	2,40 ± 0,12	0,12 ± 0,09	<b>&lt; 0,001</b>	<b>&lt; 0,001</b>	0,458

Zusammengefasst sind die aufgezeichneten Durchschnittswerte der experimentellen fMRT-Untersuchungen (n = 6 Tiere pro Gruppe). Die BOLD<sub>max</sub>-Werte stellen den prozentualen Anstieg der BOLD-Signalintensität dar und der BOLD<sub>Anstieg</sub> repräsentiert die Steigung zwischen Stimulationsbeginn und der maximal generierten BOLD-Signalintensität (MW ± Stabw). Die Resultate des statistischen Vergleichs zwischen den unterschiedlichen Stimulationsbedingungen werden in den rechten Spalten dargestellt. Angegeben ist das Signifikanzniveau, getestet durch Mann-Whitney-Test auf dem sich die maximale BOLD-Antwort in den aktivierten Regionen (ROI) zwischen den Stimulationsprotokollen unterschied.

Fasst man die Ergebnisse der getesteten Stimulationsparadigmen zusammen (Abbildung 4.13, Tabelle 4.4), so konnte zum einen gezeigt werden, dass eine Verlängerung der Stimulationsdauer nicht zur Aktivierung zusätzlicher Regionen, sondern nur zur Ausbreitung bereits signifikant aktivierter Regionen führt. Obwohl sich die Signalverarbeitung im DG (PSA, PSL) und die BOLD-Signalintensität des Hci von der niedrigen zur hohen Stimulationsintensität nur geringfügig ändert, kann eine signifikante Aktivierung des mPFC und NAcc bereits innerhalb der ersten Stimulationsphase mit hoher Stimulationsintensität generiert werden, allerdings nicht in der VTA/SN Region und der BLA. Auf der anderen Seite konnte eine Aktivierung subcorticaler und corticaler Regionen (mPFC, NAcc, VTA/Sn, BLA) bei Standard-Stimulationsintensität (50%) mit erhöhter Pulsanzahl (50 Pulse und 100 Pulse) generiert werden. Damit unterscheiden sich die BOLD-Antworten aller aktivierten

Regionen beider Stimulationsparadigmen signifikant von der diskontinuierlichen Stimulation mit 20 Pulsen (Tabelle 4.4, rechte Spalten). Auffallend war, dass die Aktivierung der meisten subcorticalen und corticalen Regionen, im Gegensatz zur Stimulation bei hoher Intensität mit 20 Pulsen, erst innerhalb der dritten Stimulationsphase signifikant aktiviert wurden. Zudem zeigen sie im Vergleich zum Hippocampus unterschiedliche HRFs, mit abweichendem BOLD<sub>Anstieg</sub> und BOLD<sub>max</sub>.

## 4.2 Elektrochemischer Nachweis einer Stimulus - induzierten Dopaminfreisetzung im Nucleus accumbens

Sowohl durch eine hochfrequente Stimulation (100 Hz) mit 50 Pulsen als auch durch kontinuierliche Stimulation (100 Hz, 100 Pulse) des TP wurden efferente Zielgebiete des Hippocampus (NAcc, VTA, mPFC, BLA) so aktiviert, dass eine daraus resultierende veränderte Hämodynamik mit fMRT nachweisbar war. Wiederholte Stimulationen führten auch zu signifikanten BOLD-Signalintensitätsänderungen in der VTA/Sn-Region, welches das Kerngebiet dopaminergener Neurone darstellt. Um zu bestätigen, dass die beobachtete Stimulus-induzierte VTA/Sn Aktivierung auch eine Dopamin-Freisetzung in efferente Zielgebiete der VTA (z.B. NAcc und mPFC) zur Folge hat, wurde ein elektrochemischer Nachweis von Katecholaminen (Dopamin, Noradrenalin) mittels der zyklischen Voltammetrie im NAcc durchgeführt. Durch kurze (8 s) kontinuierliche Stimulationen des TP mit 100 Hz Pulsen konnte die Freisetzung von Dopamin (Reduktion bei  $\sim -0,21$  mV, Oxidation bei  $\sim 0,59$  mV) im NAcc nachgewiesen werden. Dabei wurden maximal  $1,4 \pm 0,2$   $\mu\text{M}$  Dopamin pro Stimulationsphase nachgewiesen ( $n_{\text{Ratten}} = 4$ ; Abbildung 4.14 A). In Vergleichsuntersuchungen wurde durch eine elektrische VTA-Stimulation (100 Hz, 10 Pulse) eine wesentlich größere Konzentration ( $3,51 \pm 0,43$   $\mu\text{M}$  Dopamin;  $n_{\text{Ratte}} = 2$ ) im NAcc freigesetzt. Ähnliche Konzentrationen im NAcc wurden während optogenetischer Stimulation der VTA gemessen ( $4,63 \pm 0,62$   $\mu\text{M}$ ;  $n_{\text{Ratte}} = 4$ , Abbildung 4.14 B). Die Konzentration des freigesetzten Dopamins variierte in den einzelnen Stimulationsphasen während der direkten (optogenetisch und elektrisch) als auch während der indirekten (TP) Aktivierung der VTA/Sn-Region.

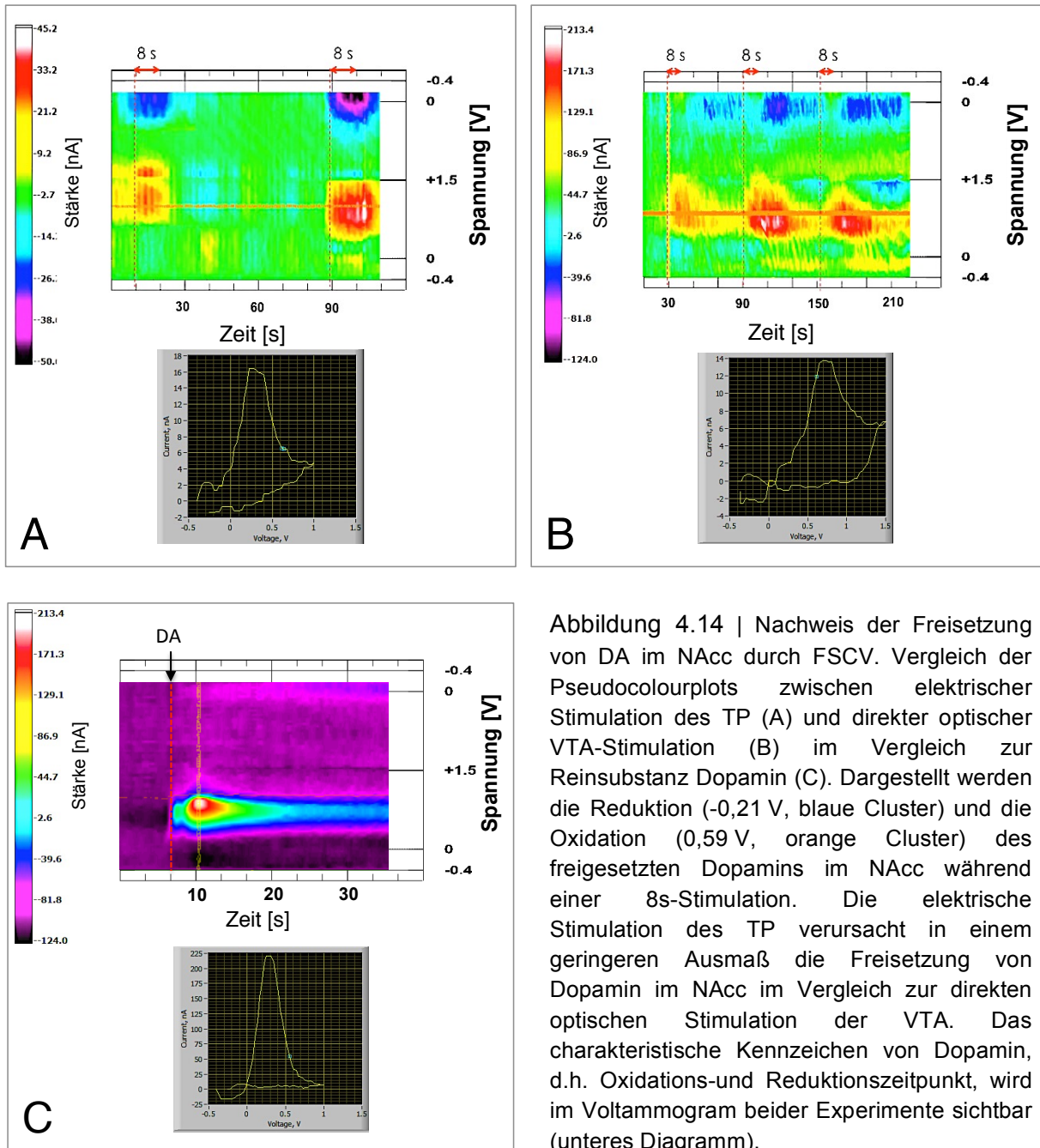


Abbildung 4.14



### 4.3 Pharmakologische Untersuchungen

Um den Einfluss der dopaminergen Übertragung auf die resultierenden BOLD-Signale in mPFC und NAcc, d.h. Regionen in die sowohl afferente glutamaterge Fasern aus der hippocampalen Formation als auch afferente glutamaterge und dopaminerge Fasern aus der VTA projizieren, zu studieren, wurden beide zuvor getesteten Stimulationsprotokolle (d.h. kurze Stimulationsphase mit 20 Pulsen bzw. 100 Pulsen) angewendet. Beide Protokolle induzierten BOLD-Antworten sowohl im mPFC als auch im NAcc, unterschieden sich aber hinsichtlich der Fähigkeit, signifikante BOLD-Antworten in der VTA/Sn-Region zu generieren. Um den möglichen Beitrag von Dopamin für die Bildung von signifikanten BOLD-Antworten im mPFC und NAcc aufzuklären, wurde der selektive Dopamin-D<sub>1/5</sub>-Rezeptor-Antagonist SCH23390 bzw. der Dopamin-Rezeptor-Agonist SKF83959 vor dem Beginn des *Tractus perforans*-Stimulation verabreicht. Um die mögliche Rolle der glutamatergen Transmission für die Entwicklung der BOLD-Antwort im mPFC und im NAcc zu untersuchen, wurde der NMDA-Rezeptor-Antagonisten MK801 vor Stimulationsbeginn gegeben. Hierfür wurde zunächst überprüft, ob sich die BOLD-Antwort während der kontinuierlichen Stimulation des TP unter Einfluss des jeweiligen Rezeptor-Antagonisten veränderte. Für den Versuch wurde einer Experimentalgruppe (naive Versuchstiere) ein Antagonist systematisch verabreicht und mit einer pharmakologischen Kontrollgruppe verglichen. Auch hierfür wurde der TP wiederholt mit 8 s langen kontinuierlichen 100 Hz Pulsfolgen stimuliert.

#### 4.3.1 Der Effekt des D<sub>1/5</sub>-Dopamin-Rezeptor-Antagonisten SCH23390 auf die BOLD-Antworten während kurzer kontinuierlicher 100 Hz Stimulationen

Für die pharmakologische Experimentalgruppe mit der intraperitonealen Applikation des D<sub>1/5</sub>-Rezeptorantagonisten SCH23390 15 min vor Stimulationsbeginn konnte gezeigt werden, dass die generierte BOLD Antwort nur zum Teil von D<sub>1/5</sub>-Rezeptoren beeinflusst wurde. Die Anwesenheit des D<sub>1/5</sub>-Dopamin-Rezeptor-Antagonisten SCH23390 führte zu keiner signifikanten Änderung der maximalen BOLD-Antwort im ipsilateralen Hippocampus (Mann-Whitney-Test:  $U = 31$ ;  $Z = -0,103$ ;  $p = 0,45$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 10$ ) und im contralateralen Hippocampus

(Mann-Whitney-Test:  $U = 17$ ;  $Z = -1,57$ ;  $p = 0,057$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 10$ ), im Vergleich zur pharmakologischen Kontrollgruppe. Ebenfalls unbeeinflusst durch die Modulation der  $D_{1/5}$ -Rezeptoren blieb die BOLD-Antwort im contralateralen entorhinalen Cortex (Mann-Whitney-Test:  $U = 26$ ;  $Z = -0,103$ ;  $p = 0,52$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 10$ ; Tabelle 4.5), obwohl sich die maximale BOLD-Antwort im ipsilateralen EC durch die Applikation des Antagonisten signifikant erhöhte (Mann-Whitney-Test:  $U = 7$ ;  $Z = -2,62$ ;  $p < 0,005$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 10$ ; Tabelle 4.5). Im Gegensatz dazu verminderte eine Blockade der  $D_{1/5}$ -Rezeptoren vor allem die Stärke der BOLD-Antwort in den subcorticalen und corticalen Strukturen. Zum einem war die BOLD-Antwort in der VTA/Sn-Region (Mann-Whitney-Test:  $U = 14$ ;  $Z = -1,89$ ;  $p = 0,029$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 10$ ; Tabelle 4.5) und im NAcc (Mann-Whitney-Test:  $U = 15$ ;  $Z = -1,78$ ;  $p = 0,037$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 10$ ; Tabelle 4.5) signifikant reduziert, zum anderem wurde die BOLD-Antwort im mPFC/ACi vollständig durch die Anwesenheit des Dopamin Rezeptor-Antagonisten unterbunden (Mann-Whitney-Test:  $U = 5$ ;  $Z = -2,83$ ;  $p = 0,002$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 10$ ). Auch die BOLD-Antwort der basolateralen Amygdala wurde durch die Anwesenheit des  $D_{1/5}$ -Rezeptor-Antagonisten vermindert (Mann-Whitney-Test:  $U = 1$ ;  $Z = -3,37$ ;  $p < 0,001$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 10$ ).

Tabelle 4.5 | Zusammenfassung der maximal generierten BOLD-Signalintensitätsänderungen aktivierter Regionen (ROI) der SCH23390-Experimentalgruppe im Vergleich zu pharmakologischen Kontrollgruppe während der kontinuierlichen Stimulation des *Tractus perforans*.

ROI	Kontrolle (SCH23390)		SCH23390		Statistik
	BOLD <sub>max</sub> [%]	BOLD <sub>Anstieg</sub>	BOLD <sub>max</sub> [%]	BOLD <sub>Anstieg</sub>	
					p-Wert (BOLD max)
<b>HCI</b>	4,45 ± 0,69	0,47 ± 0,06	4,26 ± 0,46	0,49 ± 0,06	0,458
<b>HCC</b>	4,34 ± 0,66	0,41 ± 0,03	3,71 ± 0,58	0,41 ± 0,04	0,057
<b>ECi</b>	4,33 ± 0,63	0,42 ± 0,07	5,76 ± 0,59	0,56 ± 0,1	<b>0,004</b>
<b>ECc</b>	4,39 ± 0,70	0,42 ± 0,06	4,26 ± 0,51	0,47 ± 0,08	0,264
<b>mPFC</b>	1,67 ± 0,65	0,20 ± 0,09	0,50 ± 0,12	0,03 ± 0,02	<b>0,002</b>
<b>NAcc</b>	2,96 ± 0,82	0,28 ± 0,04	2,05 ± 0,44	0,21 ± 0,03	<b>0,037</b>
<b>BLA</b>	2,29 ± 0,22	0,21 ± 0,04	0,60 ± 0,13	0,08 ± 0,02	<b>&lt; 0,001</b>
<b>VTA/Sn</b>	3,05 ± 0,87	0,32 ± 0,07	2,29 ± 0,55	0,23 ± 0,11	<b>0,029</b>

Aufgeführt sind die Durchschnittswerte ± Stabw (n = 10 Versuchstiere pro Gruppe). Die BOLD<sub>max</sub>-Werte stellen den prozentualen Anstieg der BOLD-Signalintensitäten dar. Der BOLD<sub>Anstieg</sub> repräsentiert die Steigung der hämodynamischen Antwort vom Stimulationsbeginn bis zur maximal generierten BOLD-Signalintensität. Statistisch angegeben ist das Signifikanzniveau, getestet durch Mann-Whitney-Test, auf dem sich die maximale BOLD-Antwort in den aktivierten Regionen der Kontrollgruppe und der Experimentalgruppe unterscheiden. Die hervorgehobenen p-Werte zeigen Signifikanz-Veränderungen (p < 0,05).

Auch die Anzahl der signifikant aktivierten Voxel war in der Experimentalgruppe (84 ± 23) geringer als in der pharmakologischen Kontrollgruppe (330 ± 48). Obwohl ein Unterschied der maximalen BOLD-Antwort in allen drei mesolimbischen Strukturen zwischen Kontrollgruppe und Experimentalgruppe festgestellt werden konnte, verringerte sich die Voxelanzahl nur im mPFC/ACi (Mann-Whitney-Test:  $U = 12$ ;  $Z = -1,96$ ;  $p = 0,024$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 10$ ) und im ipsilateralen EC signifikant (Mann-Whitney-Test:  $U = 2$ ;  $Z = -3,02$ ;  $p = 0,001$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 10$ ; Tabelle siehe Anhang). Die genaue Voxel-Anzahl wird tabellarisch im Anhang aufgeführt (Tabelle 9.6).

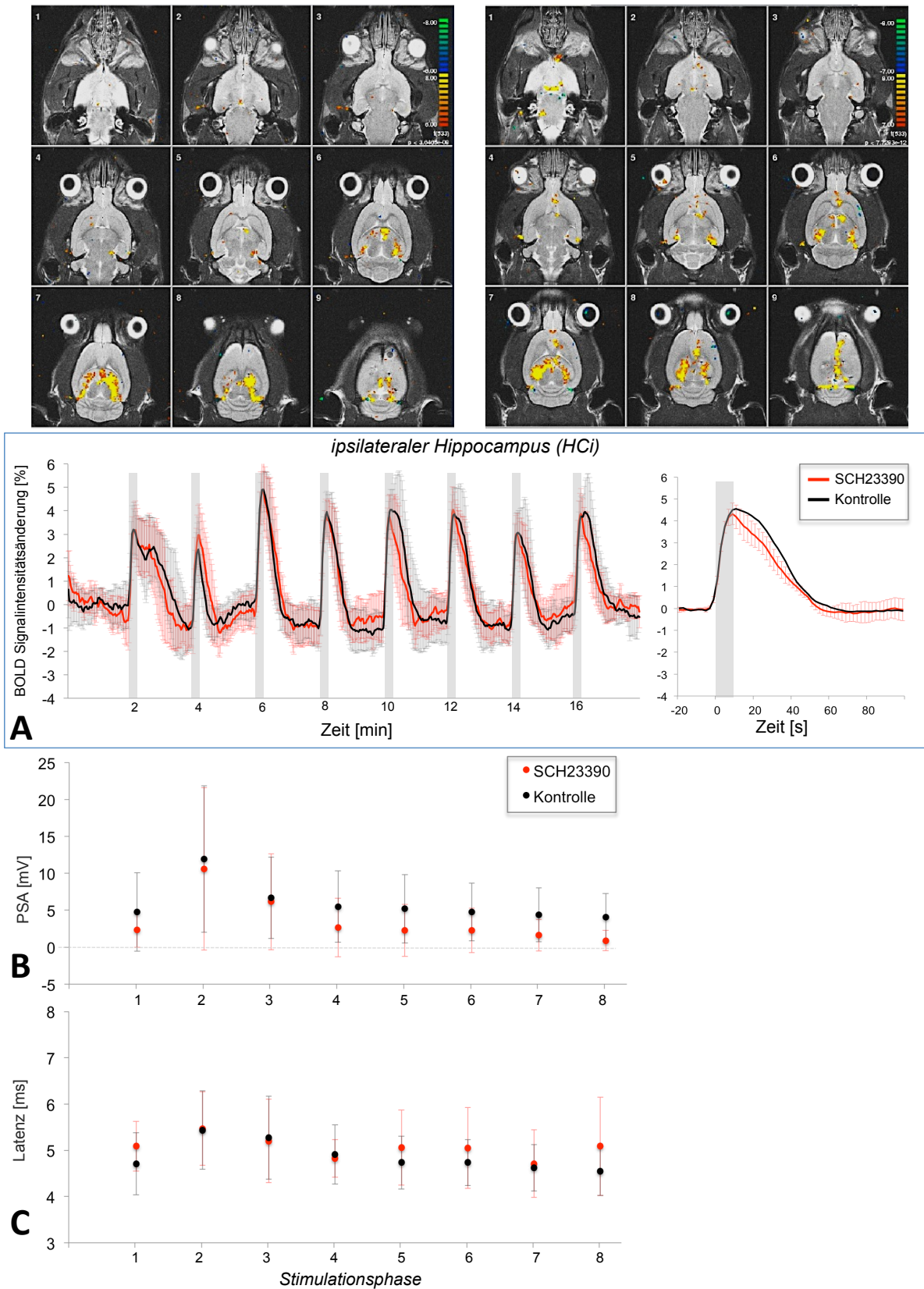


Abbildung 4.15 | Vergleich der BOLD-Antworten im ipsilateralen Hippocampus und der elektrophysiologische Ableitungen im *Gyrus dentatus* während der kontinuierlichen Stimulation des *Tractus perforans* in Anwesenheit des  $D_{1/5}$ -Rezeptor-Antagonisten SCH23390 (rot) und unter Kontrollbedingungen (schwarz). (Oben) Aktivierungsbeispiel der BOLD-Signalintensitäten unter (rechts) Kontroll- und (links) Experimentalbedingungen mit

dem selektiven  $D_{1/5}$ -Rezeptor-Antagonisten SCH23390. Signifikant aktivierte Voxel ( $p < 0,05$ ) wurden auf einer logarithmischen Farbskala von gelb nach rot codiert und in insgesamt 9 von 10 gemessenen Schichten von ventral (links oben) nach dorsal (rechts unten) dargestellt. Das rechte Beispiel zeigte ein stärkere BOLD-Signalintensität der mesolimbischen Regionen ohne die Blockade der  $D_{1/5}$ -Rezeptoren, insbesondere im mPFC/AntCi. (A) Die im HcI unter Einfluss des  $D_{1/5}$ -Rezeptor-Antagonisten generierte BOLD-Antwort (rote Linie) unterschied sich nicht signifikant von der Kontrollgruppe (schwarze Linie). (B) Die zeitgleich zur fMRT aufgezeichnete lokale Signalverarbeitung im DG wies keine signifikanten Unterschiede zwischen Kontrollbedingungen (schwarz) und Experimentalbedingungen (rot) auf. Weder die PSA (B) noch die Latenz (C) wurden durch den selektiven Antagonisten SCH23390 im Vergleich zur pharmakologischen Kontrollgruppe signifikant beeinflusst.



Nach einer Woche wurde das Experiment mit den gleichen Versuchstieren wiederholt. Allerdings bekamen die Versuchstiere den selektiven  $D_{1/5}$ -Antagonisten SCH23390 injiziert, die eine Woche zuvor zur pharmakologischen Kontrollgruppe gehörten. Im umgekehrten Fall erhielten die Versuchstiere, die zunächst zur Experimentalgruppe gehörten, vor der Messung die physiologische Kochsalzlösung. Eine Versuchstiergruppe diente ausschließlich dazu, die Wirkung der Stimulation auf die BOLD-Antwort nach einer Woche zu testen. Die Kontrollgruppe, die in beiden Versuchsmessungen mit hochfrequenten kontinuierlichen Pulsen ohne pharmakologischen Einfluss stimuliert wurde, zeigte keine signifikant unterschiedlichen Werte der hämodynamischen Antwort (Tabelle 4.6). Somit wurden während der ersten, als auch während der zweiten Versuchsreihe nahezu gleiche BOLD-Antworten sowohl in der hippocampalen Region (HCi; HCc; ECc) als auch in den mesolimbischen Strukturen (NAcc, VTA/Sn, mPFC) generiert. Eine Ausnahme bildete jedoch der rechte EC, der während der zweiten Messreihe signifikant niedrigere BOLD-Antworten aufwies (Mann-Whitney-Test:  $U = 8$ ;  $Z = -2,20$ ;  $p = 0,013$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 6$ ; Tabelle 4.6). Dieser Effekt wurde sowohl in der Gruppe beobachtet, die zunächst den  $D_{1/5}$ -Antagonist injiziert bekam (Mann-Whitney-Test:  $U = 9$ ;  $Z = -2,20$ ;  $p = 0,013$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 6$ ), als auch in der pharmakologischen Kontrollgruppe, deren Versuchstiere erst vor der zweiten Versuchsreihe SCH23390 injiziert wurde (Mann-Whitney-Test:  $U = 6$ ;  $Z = -2,27$ ,  $p = 0,015$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 6$ ; Tabelle 4.6).

Die Blockade der  $D_{1/5}$ -Rezeptoren senkte auch bei den Versuchstieren die maximale BOLD-Antwort in den mesolimbischen Strukturen signifikant, die während der ersten Messreihe ohne Anwesenheit des Antagonisten gemessen wurden (Mann-Whitney-Test:  $U = 8$ ;  $Z = -2,20$ ;  $p = 0,013$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 6$ ). Dabei konnte wiederum im mPFC/ACi

eine reduzierte und im NAcc (Mann-Whitney-Test:  $U = 10$ ;  $Z = -2,16$ ;  $p = 0,012$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 6$ ) und der VTA/Sn-Region eine deutlich verringerte BOLD-Antwort gemessen werden. Dies entspricht den zuvor festgestellten Ergebnissen, die an naiven Versuchstieren erfasst wurden. Demgegenüber zeigte sich, dass sich durch das Ausbleiben der  $D_{1/5}$ -Rezeptoraktivierung während der zweiten Versuchsmessung die BOLD-Antwort im ipsilateralen als auch im contralateralen Hippocampus verringerte, was eventuell durch die größere Streuung der Einzelwerte und die geringere Anzahl der Versuchstiere begründet sein könnte. Die 3D-Abbildungen dieser Versuchsreihe werden im Anhang aufgeführt (Abbildung 9.6).

Tabelle 4.6 | Zusammenfassung der maximal generierten BOLD-Antworten der ersten und zweiten Versuchsreihe unter Anwesenheit des  $D_{1/5}$ -Antagonisten SCH23390 (SCH) im Vergleich zur Kontrollgruppe (K).

ROI	Pharmakologische Kontrollgruppe			Experimentalgruppe (1)			Experimentalgruppe (2)		
	K1	K2	p-Wert	SCH1	K2	p-Wert	K1	SCH2	p-Wert
<b>HCi</b>	4,65 ± 0,57	4,04 ± 0,37	0,086	4,47 ± 0,50	4,57 ± 0,33	0,416	4,08 ± 0,35	3,22 ± 0,31	<b>0,010</b>
<b>HCc</b>	4,18 ± 0,66	4,02 ± 0,29	0,458	3,96 ± 0,31	5,02 ± 0,26	<b>0,029</b>	3,69 ± 0,30	2,61 ± 0,32	<b>0,003</b>
<b>ECi</b>	5,63 ± 0,68	4,73 ± 0,37	<b>0,013</b>	6,70 ± 0,62	5,31 ± 0,17	<b>0,003</b>	5,17 ± 0,45	4,28 ± 0,21	<b>0,005</b>
<b>ECc</b>	3,96 ± 0,43	4,14 ± 0,41	0,700	4,14 ± 0,35	5,01 ± 0,30	<b>0,046</b>	4,16 ± 0,26	3,70 ± 0,32	<b>0,022</b>
<b>mPFC/ACi</b>	1,80 ± 0,33	1,76 ± 0,35	0,458	0,89 ± 0,19	2,89 ± 0,60	<b>0,001</b>	1,88 ± 0,41	0,32 ± 0,14	<b>0,001</b>
<b>NAcc</b>	2,37 ± 0,29	2,42 ± 0,57	0,299	1,86 ± 0,34	2,75 ± 0,14	<b>0,006</b>	2,48 ± 0,31	0,86 ± 0,24	<b>0,002</b>
<b>VTA/Sn</b>	3,20 ± 0,51	2,62 ± 0,54	0,146	1,97 ± 0,38	3,32 ± 0,52	<b>0,017</b>	3,62 ± 0,47	0,83 ± 0,23	<b>0,001</b>

Aufgeführt sind die Durchschnittswerte ± Stabw ( $n = 6$  Versuchstiere je Gruppe). Die  $BOLD_{\text{max}}$ -Werte stellen den prozentualen Anstieg der BOLD-Signalintensitäten dar. Die Gruppenbezeichnung „1“ bezeichnet die erste Versuchsreihe mit naiven Versuchstieren und „2“ die wiederholte Versuchsmessung eine Woche nach der ersten Messung. Der statistische Vergleich der Aktivierung wird jeweils in der rechten Spalte dargestellt. Statistisch angegeben ist das Signifikanzniveau, auf dem sich die maximale BOLD-Antwort in den aktivierten Regionen (ROI) der Experimentalgruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe unterschieden (Mann-Whitney-Test). Die hervorgehobenen p-Werte zeigen Signifikanz-Veränderungen ( $p < 0,05$ ).

Für den Vergleich der neuronalen Antwort unter Einfluss eines  $D_{1/5}$ -Antagonisten wurden auch hier die elektrophysiologischen Parameter PS-Amplitude und die PS-Latenz im DG aufgenommen und verglichen (Abbildung 4.15 B und C). Durch das Muster der Stimulation wurde, genau wie bei der kontinuierlichen Stimulation zuvor, jeweils nur die elektrophysiologisch messbare Antwort zum ersten Puls pro Stimulationsphase verglichen, da alle folgenden Pulse keine PS sondern nur fEPSPs generierten. Dabei zeigte sich, dass die Applikation des  $D_{1/5}$ -Rezeptor-Antagonisten SCH23390 im Vergleich zur pharmakologischen Kontrollgruppe keinen signifikanten Einfluss auf die neuronale Antwort im DG hat. Es konnte weder eine Beeinträchtigung der gemittelten PS Amplitude (Mann-Whitney-Test:  $U = 26$ ;  $Z = -0,63$ ;  $p = 0,26$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 10$ ; Abbildung 4.15 B ) noch der Latenz (Mann-Whitney-Test:  $U = 18$ ;  $Z = -1,47$ ;  $p = 0,072$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 10$ ; Abbildung 4.15 C) verzeichnet werden. Dabei potenzierte sich die PS-Amplitude der pharmakologischen Kontrollgruppe in der zweiten Stimulationsphase und sank dann während der nachfolgenden Stimulationen auf den Wert der ersten Stimulationsphase ab. Auch in der Experimentalgruppe potenzierte sich die Amplitude in der zweiten Stimulationsphase, allerdings sank die PSA bis zum Ende der Stimulationsphase um die Hälfte ihres Anfangswerts ab. Die Latenz stieg in beiden Vergleichsgruppen in der zweiten Stimulationsphase signifikant an und sank dann ebenfalls wieder auf einen konstanten Wert ab. Auch bei erneuter Stimulation des TP eine Woche nach dem ersten Versuch hatte die Blockade der  $D_{1/5}$ -Rezeptoren keinen signifikanten Einfluss auf die neurophysiologischen Antworten im DG.

#### *4.3.2 Der Effekt des NMDA-Rezeptor-Antagonisten MK801 auf die BOLD-Antworten während kurzer kontinuierlicher 100 Hz Stimulationen*

Neben der modulatorischen Wirkung der  $D_{1/5}$ -Rezeptoren spielt im wesentlichen die neuronale Signalverarbeitung und Signalprozessierung (Mody & Heinemann 1987) im Hippocampus für die Formation BOLD-Antwort eine erhebliche Rolle (Gsell et al. 2006; Tiede et al. 2012). Um den Einfluss von NMDA-Rezeptoren auf die BOLD-Antwort während der kontinuierlichen Stimulation des TP zu prüfen, wurde der selektive NMDA-Rezeptor-Antagonist MK801 15 min vor der kombinierten fMRT-Messung injiziert. Wie bereits bei den Versuchen unter Anwesenheit des

D<sub>1/5</sub>-Antagonisten, wurde der TP mit wiederholten 8 s langen kontinuierlichen 100 Hz Pulsfolgen stimuliert.

In der pharmakologischen Kontrollgruppe als auch in der Experimentalgruppe konnten durch die kontinuierliche Stimulation signifikante BOLD-Signalintensitätsänderungen in der hippocampalen Region (HCi, HCc, ECi, ECc) generiert werden. Allerdings reduzierte sich die maximale BOLD-Antwort unter Einfluss des NMDA-Rezeptor-Antagonisten (im Gegensatz zum D<sub>1/5</sub>-Rezeptoren-Antagonist SCH23390) in allen hippocampalen Regionen. Dabei sank die maximale BOLD Antwort signifikant im ipsilateralen HC (Mann-Whitney-Test:  $U = 11$ ;  $Z = -2,20$ ;  $p = 0,013$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 8$ ; Abbildung 4.16 A), im contralateralen HC (Mann-Whitney-Test:  $U = 12$ ;  $Z = -2,10$ ;  $p = 0,017$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 8$ ), im ipsilateralen EC (Mann-Whitney-Test:  $U = 6$ ;  $Z = -2,73$ ;  $p = 0,003$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 8$ ) und im contralateralen EC (Mann-Whitney-Test:  $U = 3$ ;  $Z = -3,04$ ;  $p = 0,001$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 8$ ). Auch der geringere BOLD-Anstieg der genannten Regionen bestätigt den Einfluss des NMDA-Rezeptor-Antagonisten auf die hämodynamische Antwort. Die Applikation des NMDA-Rezeptor-Antagonisten MK801 vor der Stimulation verkürzte zudem die Dauer der BOLD-Antwort während der einzelnen Stimulationsphasen im ipsilateralen HC, was auf die geringeren bzw. fehlenden Nachentladungen der Körnerzellen im DG nach elektrischer Stimulation zurückzuführen war.

Die Reduktion der BOLD-Antwort in den mesolimbischen Strukturen im Vergleich zur pharmakologischen Kontrollgruppe widerspricht einer NMDA-unabhängigen Aktivierung. Die BOLD-Antwort verringerte sich sowohl im NAcc (Mann-Whitney-Test:  $U = 1$ ;  $Z = -3,25$ ;  $p < 0,001$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 8$ ; Abbildung 4.17 A) als auch in der VTA/Sn-Region (Mann-Whitney-Test:  $U = 1$ ;  $Z = -3,25$ ;  $p < 0,001$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 8$ ; Abbildung 4.17 B) signifikant. Gleichermaßen reduzierte sich die BOLD-Antwort in Anwesenheit des NMDA-Rezeptor-Antagonisten MK801 im mPFC/ACi gegenüber der BOLD-Antwort der pharmakologischen Kontrollgruppe (Mann-Whitney-Test:  $U = 8$ ;  $Z = -2,53$ ;  $p = 0,006$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 8$ ; Abbildung 4.17 C). Auch die BOLD-Signalintensitätsänderung der BLA blieb in Anwesenheit von MK801 signifikant vermindert (Mann-Whitney-Test:  $U = 1$ ;  $Z = -3,25$ ;  $p < 0,001$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 8$ ; Abbildung 4.17 D).



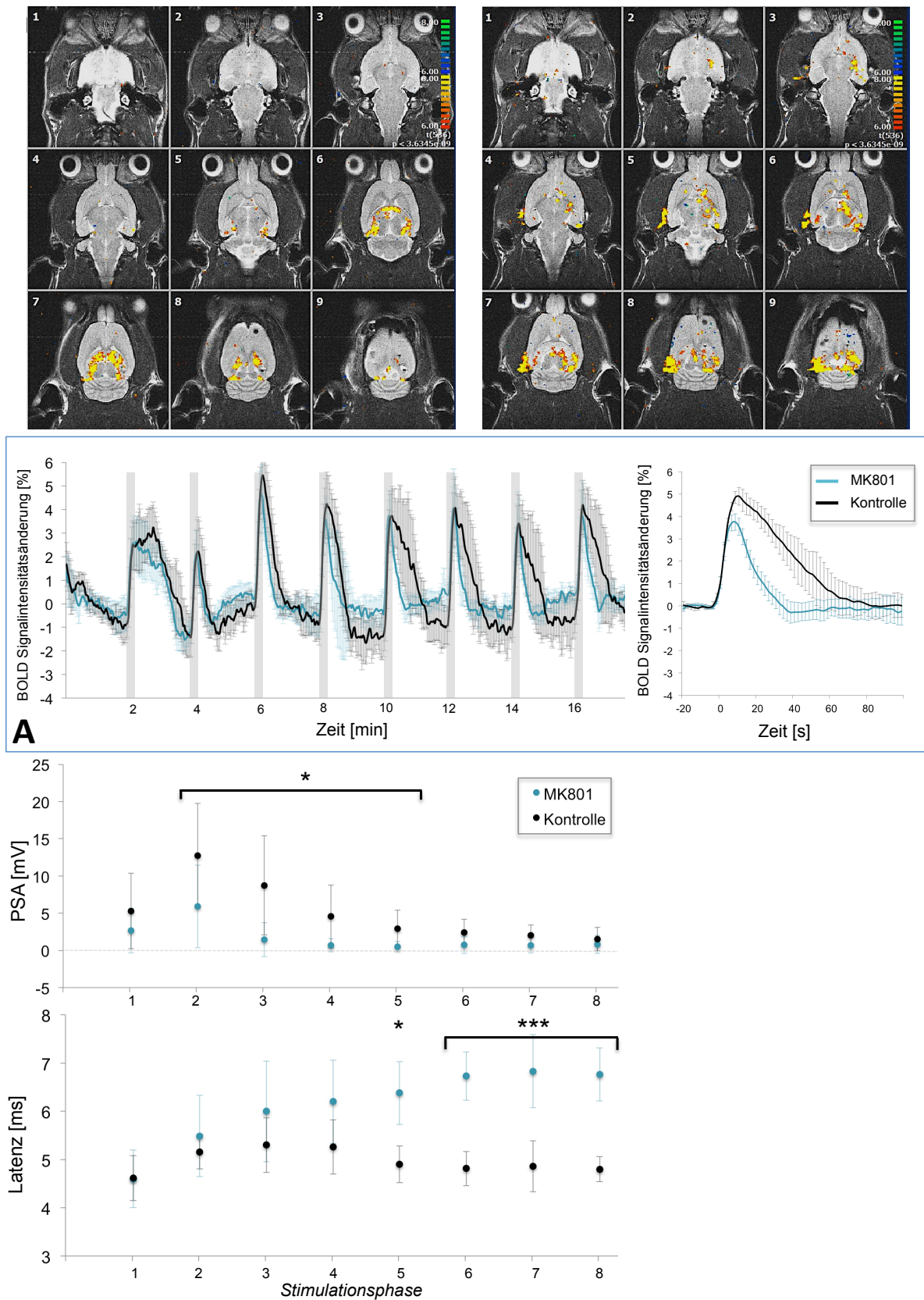


Abbildung 4.16 | Vergleich der BOLD-Antworten im ipsilateralen Hippocampus und der elektrophysiologischen Ableitung im *Gyrus dentatus* während der kontinuierlichen Stimulation des *Tractus perforans* in Anwesenheit des NMDA-Rezeptor-Antagonisten MK801 (blau) oder unter Kontrollbedingungen (schwarz). (Oben) Aktivierungsbeispiel der BOLD-Signalintensitäten unter (rechts) Kontroll- und (links) Experimentalbedingungen mit

dem NMDA-Rezeptor-Antagonisten MK801. Signifikant aktivierte Voxel ( $p < 0,05$ ) wurden auf einer logarithmischen Farbskala von gelb nach rot codiert und in insgesamt 9 von 10 gemessenen Schichten von ventral (links oben) nach dorsal (rechts unten) dargestellt. (A) Im Vergleich zu den Kontrollbedingungen wurde die BOLD-Antwort im ipsilateralen Hippocampus signifikant reduziert. Der NMDA-Rezeptor-Antagonist beeinflusste die Signalverarbeitung im DG während der kontinuierlichen Stimulation des TP mit 100 Pulsen im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant. Die durchschnittlichen PSA (MW  $\pm$  Stabw) aller Versuchstiere ( $n = 8$ ) der Experimentalgruppe waren in Anwesenheit von MK801 signifikant reduziert. Die Latenz erhöhte sich ebenfalls signifikant durch die NMDA-Rezeptor-Blockade. Statistisch dargestellt ist das Signifikanzniveau, auf dem sich die PSA und Latenz der Experimentalgruppe von der Kontrollgruppe unterscheiden mit  $*p < 0,05$ ,  $**p < 0,01$ ,  $***p < 0,001$ .



Stellt man die resultierende BOLD-Antwort im Hippocampus nun der induzierten neuronalen Aktivität im DG gegenüber, dann zeigte sich, dass NMDA-abhängige Mechanismen wahrscheinlich indirekt auf die BOLD-Antwort über eine lokale Änderung der Signalverarbeitung agieren. blieb die PS Amplitude und die Latenz unter Einwirkung des  $D_{1/5}$ -Rezeptoren-Antagonisten noch vergleichsweise unbeeinflusst, erhöhte sich die Latenzzeit im Vergleich zur Kontrollgruppe unter Einfluss MK801 signifikant (Mann-Whitney-Test:  $U = 7$ ;  $Z = -2,45$ ;  $p < 0,005$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 8$ ). Die Latenz während der ersten Stimulationsphase war zu Beginn in beiden Gruppen gleich, stieg allerdings durch wiederholte Stimulationen nur in der MK801 behandelten Gruppe bis zur letzten Stimulationsphase kontinuierlich an. Hingegen erhöhte sich die Latenz der Kontrollgruppe nur bis zur zweiten Stimulationsphase und sank dann auf einen konstanten Wert ab (Abbildung 4.16). Die Potenzierung der PS-Amplitude der pharmakologischen Kontrollgruppe war in der Stimulationsphase 2 bis 5 signifikant höher als die der pharmakologischen Experimentalgruppe und unterschied sich somit über den Verlauf und die Größe signifikant von der PSA der Kontrollgruppe (Mann-Whitney-Test:  $U = 13$ ;  $Z = -1,98$ ;  $p = 0,023$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 8$ ; Abbildung 4.16).

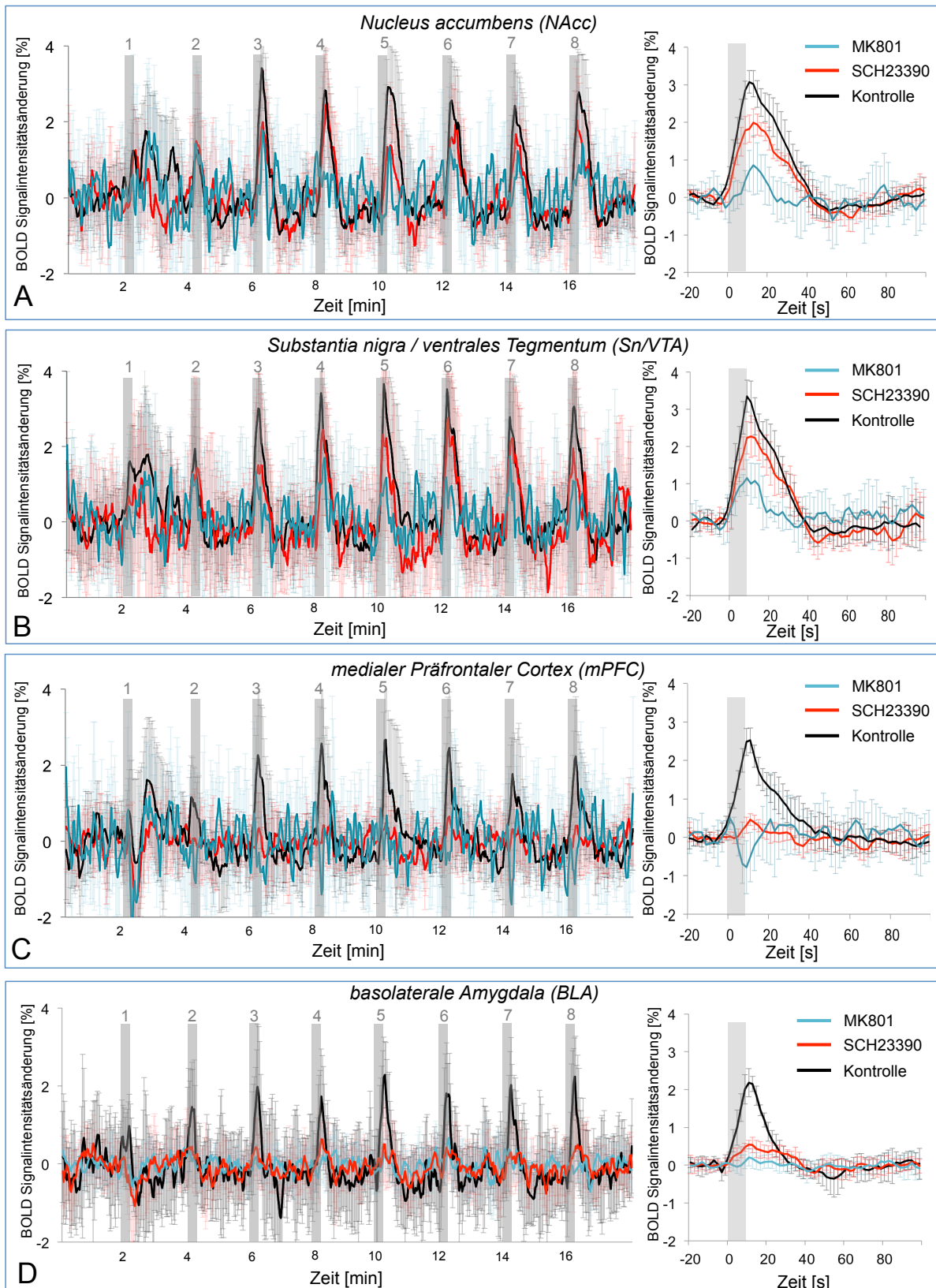


Abbildung 4.17 | Vergleich der zeitlichen Verläufe der BOLD-Signalintensitäten der aktivierten Regionen außerhalb des Hippocampus in Anwesenheit des NMDA-Rezeptor-Antagonisten MK801 (blau) oder des  $D_{1/5}$ -Rezeptor-Antagonisten SCH23390 (rot) im Vergleich zur pharmakologischen Kontrollgruppe (schwarz). Sowohl unter

Einfluss MK801 als auch unter SCH23390 wird die BOLD Antwort in allen oben gezeigten Regionen reduziert.



Tabelle 4.7 | Zusammenfassung der gemessenen BOLD-Parameter der Experimentalgruppen (MK801, SCH23390) im Vergleich zur pharmakologischen Kontrollgruppe während der hochfrequenten Stimulation des *Tractus perforans* mit 100 Pulsen.

	100 Hz 100 Pulse	200 – 300 $\mu$ A	
		BOLD <sub>max</sub>	t <sub>max</sub>
<i>HCI</i>	Kontrolle (n=13)	4,48 ± 0,41	12,00 ± 2,82
	SCH23390 (n=11)	4,50 ± 0,43	10,50 ± 0,92
	MK801 (n=8)	1,87 ± 0,21*	10,00 ± 2,61
<i>HCC</i>	Kontrolle (n=13)	3,76 ± 0,30	11,75 ± 2,25
	SCH23390 (n=11)	4,03 ± 0,60	10,50 ± 0,92
	MK801 (n=8)	0,76 ± 0,14*	10,00 ± 1,66
<i>ECi</i>	Kontrolle (n=13)	5,73 ± 0,47	10,75 ± 1,83
	SCH23390 (n=11)	5,23 ± 0,43	11,25 ± 2,50
	MK801 (n=8)	2,04 ± 0,14*	11,33 ± 2,50
<i>ECc</i>	Kontrolle (n=13)	4,40 ± 0,45	10,50 ± 2,07
	SCH23390 (n=11)	4,28 ± 0,26	10,25 ± 1,20
	MK801 (n=8)	1,32 ± 0,12*	9,33 ± 2,48
<i>NAcc</i>	Kontrolle (n=13)	2,34 ± 0,20	11,75 ± 0,71
	SCH23390 (n=11)	1,98 ± 0,28*	12,50 ± 2,07
	MK801 (n=8)	0,53 ± 0,17*	14,66 ± 3,90
<i>mPFC/ ACC</i>	Kontrolle (n=13)	1,89 ± 0,40	10,75 ± 2,12
	SCH23390 (n=11)	0,46 ± 0,12*	11,00 ± 3,33
	MK801 (n=8)	-0,59 ± 0,32*	14,66 ± 6,40
<i>VTA</i>	Kontrolle (n=13)	2,94 ± 0,38	10,25 ± 1,66
	SCH23390 (n=11)	2,26 ± 0,46*	11,25 ± 3,01
	MK801 (n=8)	0,64 ± 0,21*	11,00 ± 4,01
<i>BLA</i>	Kontrolle (n=13)	2,29 ± 0,22	12,75 ± 1,41
	SCH23390 (n=11)	0,60 ± 0,13*	10,50 ± 3,81
	MK801 (n=8)	0,37 ± 0,11*	11,34 ± 1,66

Aufgeführt sind die Durchschnittswerte ± Stabw (n = 8 Versuchstiere pro Gruppe). Die BOLD<sub>max</sub>-Werte stellen den prozentualen Anstieg der BOLD-Signalintensitäten und die t<sub>max</sub> BOLD-Werte die Zeit zwischen Stimulationsbeginn und maximaler generierter BOLD-Signalintensität (in Sekunden) dar. Signifikante Veränderungen im Vergleich zur pharmakologischen Kontrollgruppe wurden farblich markiert.

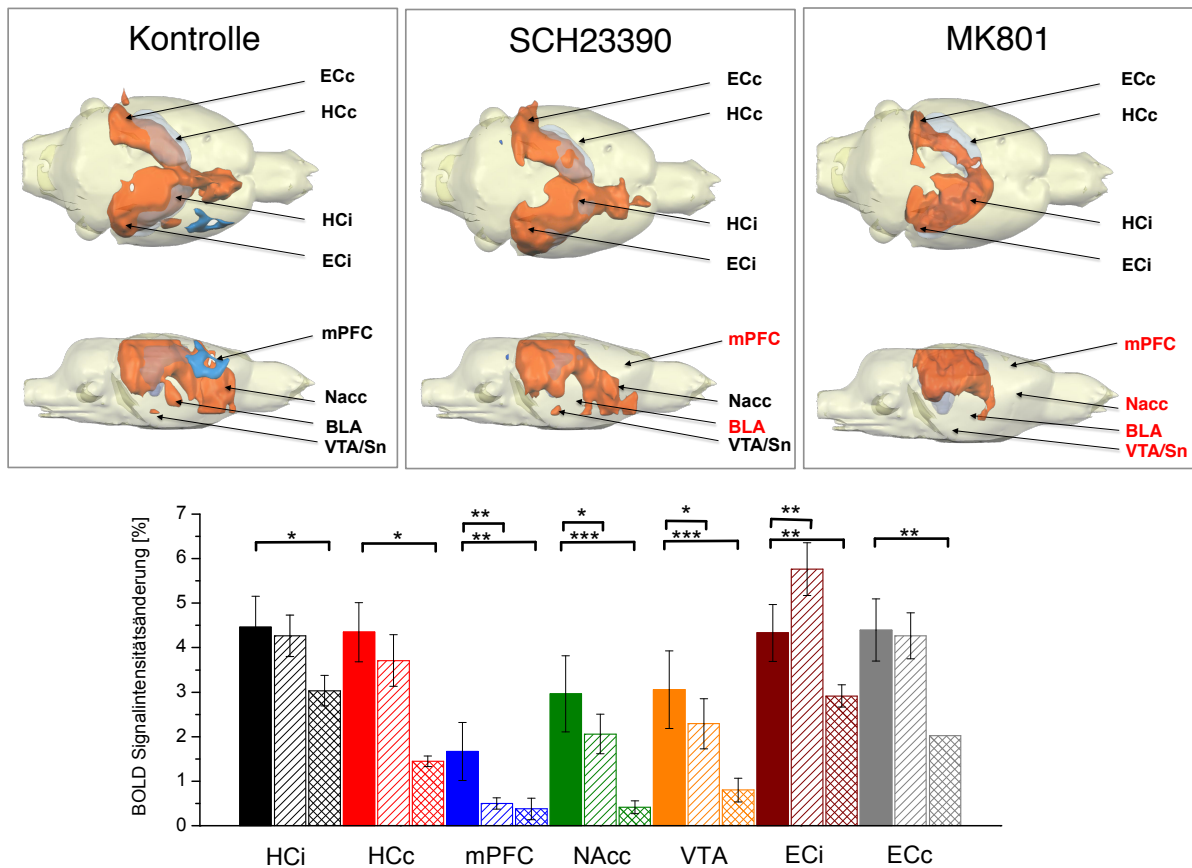


Abbildung 4.18 | Visualisierung der BOLD-Aktivierungsmuster im Gehirn der Ratte im 3D-Modell der pharmakologischen Experimentalgruppen MK801 und SCH23390 im Vergleich zur pharmakologischen Kontrollgruppe während der hochfrequenten kontinuierlichen Stimulation des *Tractus perforans*. Regionen, die keine signifikante BOLD-Antwort gegenüber der Kontrollgruppe generierten, wurden im 3D-Modell rot markiert. (Unten) Die maximal generierten BOLD-Antwort (MW  $\pm$  Stabw) der pharmakologischen Experimentalgruppen im Vergleich zur Kontrollgruppe während der Präsentation kurzer hochfrequenter Stimulationsphasen des TP mit 100 Pulsen. Die verminderte Signalverarbeitung innerhalb der Hippocampus-Formation durch die Blockade der NMDA-Rezeptoren (gekreuzt) reduziert auch signifikant die maximale BOLD-Antwort der subcorticalen Zielregionen des HC im Vergleich zu den Kontrollbedingungen. Die Blockade der  $D_{1/5}$ -Rezeptoren (quer gestreift) reduzieren hingegen nicht die BOLD-Antwort im HcI, aber die maximale BOLD-Antwort in subcorticalen und corticalen Strukturen (mPFC/ACi, NAcc, VTA/Sn und BLA). Statistisch dargestellt ist das Signifikanzniveau der maximalen BOLD Antwort der Experimentalgruppen im Vergleich zur pharmakologischen Kontrollgruppe, zu unterscheiden mit \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$ .

Der Vergleich der neurophysiologischen Antworten der Experimentalbedingungen verdeutlicht, dass eine veränderte Signalverarbeitung durch die Blockade der NMDA-Rezeptoren im HC während der Präsentation der kontinuierlichen Stimulation mit 100 Pulsen die BOLD-Aktivierung in den Zielregionen reduziert. Eine Blockade der  $D_{1/5}$ -Rezeptoren durch den selektiven Antagonisten SCH23390 führt nicht zur veränderten Signalverarbeitung im DG im Vergleich zur pharmakologischen Kontrollgruppe, sondern reduzierte die BOLD-Antwort im ECi und in den angebundenen Zielregionen des Hippocampus.

#### *4.3.3 Der Effekt des Dopamin $D_{1/5}$ -Rezeptor-Antagonisten SCH23390 und des $D_{1/5}$ -Rezeptor-Agonist SKF83959 auf die BOLD-Antworten während diskontinuierlicher 100 Hz Stimulation mit 20 Pulsen je s*

Die Applikation eines Dopamin  $D_{1/5}$ -Rezeptor-Antagonisten verringerte die BOLD-Antwort in den subcorticalen und corticalen Strukturen während kontinuierlicher 100 Hz Stimulation des TP, d.h. unter Stimulationsbedingungen, die zu einer Aktivierung des mesolimbischen dopaminergen Systems führen. Daher war es möglich, dass unter experimentellen Bedingungen, in denen das mesolimbische dopaminerge System nicht durch den applizierten Stimulus aktiviert, eine zusätzliche Aktivierung dopaminergere Rezeptoren auch einen Einfluss auf die generierten BOLD-Antworten besitzen. Aufgrund dessen wurde in einem separaten Experiment untersucht, inwieweit ein synergistischer Einfluss einer  $D_{1/5}$ -Rezeptor-Aktivierung durch einen  $D_{1/5}$ -Rezeptor-Agonisten mit der Signalverarbeitung der resultierenden BOLD-Antwort einhergeht. Vergleichend wurde außerdem der Einfluss des selektiven  $D_{1/5}$  Rezeptor-Antagonisten auf die BOLD-Antwort bei der hochfrequenten Stimulation mit 20 Pulsen getestet. Hierfür wurde ein diskontinuierliches 100 Hz Stimulationsprotokoll (20 Pulse je s) verwendet, durch das zuvor keine BOLD-Antwort in der VTA/Sn-Region generiert werden konnte. Der Einfluss der Eingangsintensität des TP zum DG auf die BOLD-Signalintensitätsänderung wurde sowohl mit 50%iger (250  $\mu$ A) und doppelter (500  $\mu$ A) Stimulationsintensität getestet. Wie bereits in vorhergehenden Untersuchungen gezeigt werden konnte (4.1.2), wurde bei 250  $\mu$ A (also 50%iger Stimulationsintensität) eine signifikante Erhöhung der BOLD-Antwort im ipsilateralen HC als auch in beiden entorhinalen Cortices

generiert. Die Erhöhung der Stimulationsintensität führte zu einer signifikanten Erhöhung in allen drei Regionen. Zudem führte eine erhöhte Stimulationsintensität auch zur signifikanten Erhöhung der maximalen BOLD-Antwort.

#### 4.3.3.1 Hämodynamische Effekte

Eine signifikante BOLD-Aktivierung konnte auch unter dem Einfluss des  $D_{1/5}$ -Rezeptor-Antagonisten im H<sub>CI</sub> sowohl während niedriger als auch hoher Stimulationsintensitäten der Stimulation des TP mit 20 Pulsen registriert werden. Dabei führte die Blockade der  $D_{1/5}$ -Rezeptoren durch den selektiven Antagonisten SCH23390 zu keiner signifikanten Änderung, weder während niedrigeren Stimulationsintensitäten (Mann-Whitney-Test:  $U = 18$ ;  $Z = -1,45$ ;  $p = 0,09$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 5$ ) noch während der hohen Stimulationsintensitäten (Mann-Whitney-Test  $U = 22$ ;  $Z = -1,05$ ;  $p = 0,146$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 5$ ). Eine signifikante BOLD-Signalintensitätsänderung konnte auch im mPFC/ACi erst durch hohe Stimulationsintensitäten induziert werden, welche sich nicht im Vergleich zur pharmakologischen Kontrollgruppe unterschied (Mann-Whitney-Test  $U = 19$ ;  $Z = -1,36$ ;  $p = 0,086$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 5$ ). Auch die erst durch hohe Intensitäten der Stimulation des TP mit 20 Pulsen generierte BOLD-Antwort im NAcc blieb unbeeinflusst von der Blockade der  $D_{1/5}$ -Rezeptoren (Mann-Whitney-Test:  $U = 21$ ;  $Z = -1,15$ ;  $p = 0,13$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 5$ ).

Weiterhin wurde durch Applikation des selektiven  $D_{1/5}$ -Rezeptor-Agonisten SKF83959 15 min vor Versuchsbeginn der Einfluss der  $D_{1/5}$ -Rezeptoren auf die BOLD-Antwort getestet. Eine  $D_{1/5}$ -Rezeptor-Aktivierung führte jedoch zu keiner signifikanten Veränderung der maximal generierten BOLD-Antwort. In dieser Experimentalgruppe wurde bei niedriger Stimulationsintensität eine signifikante BOLD-Antwort im H<sub>CI</sub>, im ECi und ECc erfasst. Genau wie in der pharmakologischen Kontrollgruppe führte die Erhöhung der Stimulationsintensität ebenfalls zur Steigerung der maximalen BOLD-Antwort in allen aktivierten Regionen. Bis auf die Erhöhung der BOLD-Antwort im ECi konnte damit kein signifikanter Unterschied zur Kontrollgruppe festgestellt werden. Weder niedrige noch hohe Stimulationsintensitäten führten durch den pharmakologischen Einfluss auf die  $D_{1/5}$ -Rezeptoren zu einer signifikanten Veränderung der maximalen BOLD-Antwort im im NAcc (Mann-Whitney-Test: Stimulationsintensität 250  $\mu\text{A}$ :  $U = 30$ ;  $Z = -0,21$ ;  $p = 0,41$ ; Stimulationsintensität 500  $\mu\text{A}$ :  $U = 23$ ;  $Z = -0,95$ ,  $p = 0,17$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 5$ ).

In Anwesenheit des  $D_{1/5}$ -Rezeptor-Antagonisten SCH23390 konnten zwar keine signifikant reduzierten BOLD-Antworten im mPFC/ACi und NAcc unter Anwendung dieses Stimulationsprotokolls verzeichnet werden, der Einfluss des  $D_{1/5}$ -Rezeptor-Agonisten bzw. dem  $D_{1/5}$ -Rezeptor-Antagonisten SCH23390 veränderte allerdings die individuelle Form des HRF einzelner Hirnareale (Abbildung 4.19; rechts). Am offensichtlichsten wurde die generierte BOLD-Antwort in subcorticalen und corticalen Strukturen (NAcc, mPFC, Abbildung 4.19 C und D) unter Anwesenheit des  $D_{1/5}$ -Antagonisten bzw.  $D_1$ -Agonisten. Dabei verzögerte sich vom Stimulationsbeginn bis zum Erreichen der maximalen BOLD-Antwort unter Blockade der  $D_{1/5}$ -Rezeptoren durch den selektiven Rezeptor-Antagonisten SCH23390 im mPFC (Tabelle 4.8) signifikant. Im Gegensatz dazu führte eine  $D_{1/5}$ -Rezeptor-Aktivierung durch SKF83959 zu einer beschleunigten Generierung der BOLD-Antwort im mPFC und NAcc im Vergleich zur pharmakologischen Kontrollgruppe (Tabelle 4.8).

#### 4.3.3.2 Neurophysiologische Effekte im DG

Bei dem Vergleich der neurophysiologischen Antwort im DG in Anwesenheit des  $D_{1/5}$ -Rezeptor-Antagonisten zur pharmakologischen Kontrollgruppe zeigten sich weder bei niedriger noch bei hoher Simulationsintensität signifikante Unterschiede in der PS-Amplitude (Mann-Whitney-Test: Stimulationsintensität 250  $\mu$ A:  $U = 50$ ;  $Z = -0,1$ ;  $p = 0,5$ ; Stimulationsintensität 500  $\mu$ A:  $U = 65$ ;  $Z = 1,13$ ;  $p = 0,87$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 5$ ; Abbildung 4.20). Die gemittelte PS-Latenz veränderte sich auch unter Blockade des selektiven  $D_{1/5}$ -Rezeptor-Antagonisten SCH23390 weder bei niedriger noch bei hoher Stimulationsintensität signifikant (Mann-Whitney-Test: Stimulationsintensität 250  $\mu$ A:  $U = 39$ ;  $Z = -0,83$ ;  $p = 0,2$ ; Stimulationsintensität 500  $\mu$ A:  $U = 27$ ;  $Z = -1,73$ ;  $p = 0,07$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 5$ ; Abbildung 4.20).

Eine Aktivierung der  $D_{1/5}$ -Rezeptoren durch den  $D_{1/5}$ -Rezeptor-Agonist SK83959 führte zu keiner signifikanten Veränderung der PS Amplitude im Vergleich zur pharmakologischen Kontrollgruppe (Mann-Whitney-Test: Stimulationsintensität 250  $\mu$ A:  $U = 65$ ;  $Z = 1,13$ ;  $p = 0,87$ ; Stimulationsintensität 500  $\mu$ A:  $U = 57$ ;  $Z = 0,53$ ;  $p = 0,7$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 5$ ; Abbildung 4.20). Im Gegensatz zu den Resultaten unter dem Einfluss des  $D_{1/5}$ -Rezeptor-Antagonist SCH2330, reduzierte sich hingegen die PS-



Latenz während der Stimulation des TP mit hohen Stimulationsintensitäten im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant (Mann-Whitney-Test: Stimulationsintensität 250  $\mu$ A:  $U = 27$ ;  $Z = 1,83$ ;  $p = 0,06$ , Stimulationsintensität 500  $\mu$ A:  $U = 12$ ;  $Z = -2,83$ ,  $p = 0,002$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 5$ ).

#### *4.3.4 Der Effekt des NMDA-Rezeptor-Antagonisten MK801 auf die BOLD-Antworten während diskontinuierlicher 100 Hz Stimulation mit 20 Pulsen je Sekunde*

##### *4.3.4.1 Hämodynamische Effekte*

Um eine mögliche Beziehung zwischen Signalverarbeitung im Hippocampus bei unterschiedlichen Stimulationsintensitäten und generierter BOLD-Antwort während diskontinuierlicher Stimulation festzustellen, wurden die NMDA-Rezeptoren vor der ersten Stimulationsphase durch Rezeptorantagonist MK801 blockiert. Allerdings unterschied sich das generierte BOLD-Muster der Experimentalgruppe bei niedriger Stimulationsintensität nicht von dem der Kontrollgruppe. Gegenüber der Kontrollgruppe unterschied sich die maximale BOLD-Antwort im ipsilateralen Hippocampus weder während niedriger noch hoher Stimulationsintensität des TP (Mann-Whitney-Test: Stimulationsintensität 250  $\mu$ A:  $U = 18$ ;  $Z = -1,41$ ;  $p = 0,07$ ; Stimulationsintensität 500  $\mu$ A:  $U = 24$ ;  $Z = -0,384$ ;  $p = 0,20$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 5$ ). Zwar führte in der Experimentalgruppe eine höhere Stimulationsintensität zu einer Steigerung der maximalen BOLD-Antwort im ipsilateralen HC, allerdings konnte im Vergleich zur Kontrollgruppe bei hoher Stimulationsintensität unter Einfluss der NMDA-Rezeptorantagonisten die BOLD-Antwort im contralateralen HC nicht generiert werden (Mann-Whitney-Test:  $U = 8$ ;  $Z = -2,52$ ;  $p = 0,006$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 5$ ). Auch die Signalverarbeitung im contralateralen EC wurde unter Blockade der NMDA-Rezeptoren beeinflusst, was zu einer verringerten BOLD-Antwort im Vergleich zur Kontrollgruppe führte (Mann-Whitney-Test:  $U = 2$ ;  $Z = -3,25$ ;  $p < 0,001$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 5$ ). Allerdings wurde die generierte BOLD-Antwort im mPFC/ACi nicht durch die NMDA-Rezeptoren beeinflusst, da die bei hohen Stimulations-Intensitäten generierte BOLD-Antwort sich nicht von der Kontrollgruppe unterschied (Mann-Whitney-Test:  $U = 19$ ;  $Z = -1,36$ ;  $p = 0,09$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 5$ ). Die BOLD-Antwort im NAcc konnte auch durch hohe Stimulationsintensitäten nicht generiert werden und

unterschied sich damit signifikant im Vergleich zur Kontrollgruppe (Mann-Whitney-Test:  $U = 2$ ;  $Z = -3,36$ ;  $p < 0,001$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 5$ ).

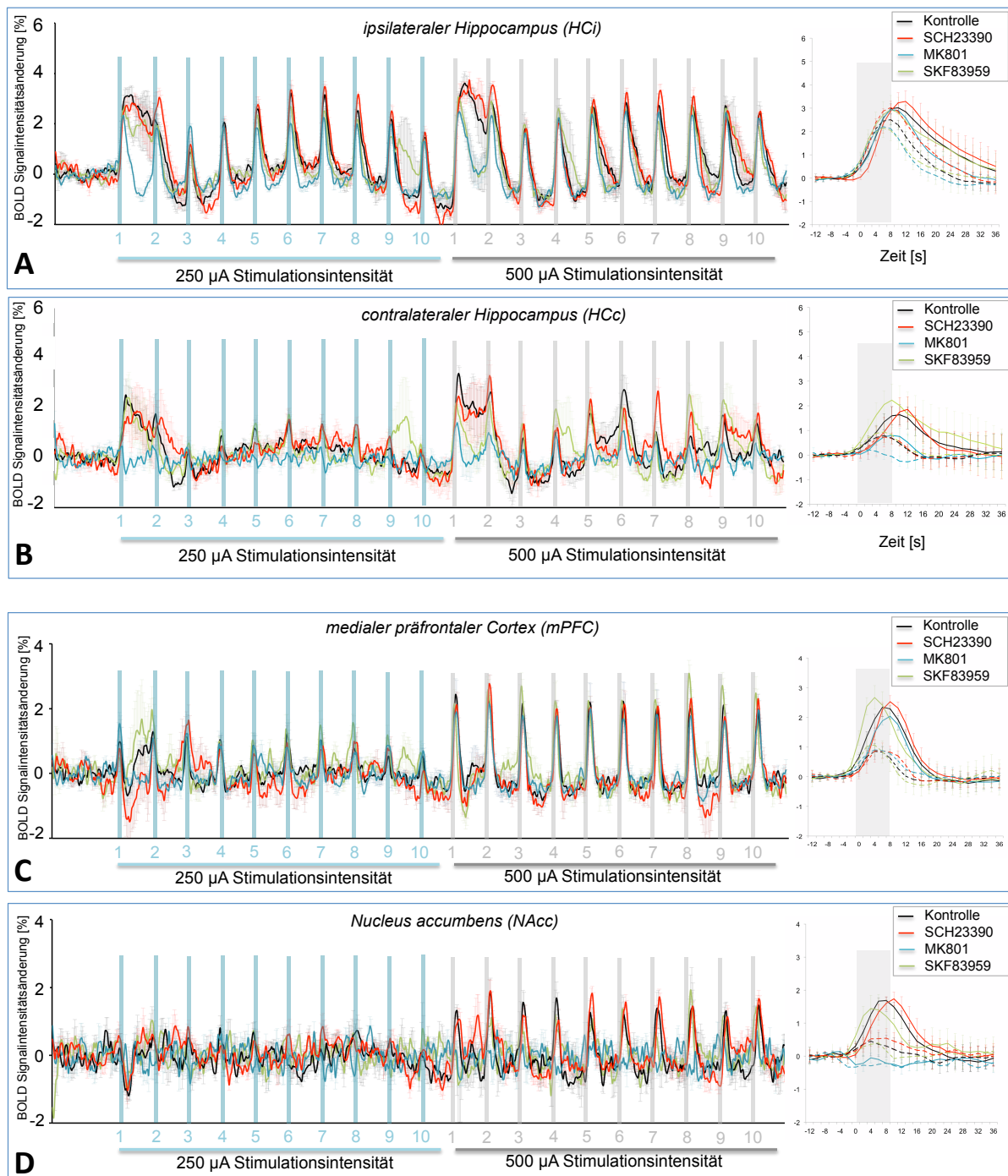


Abbildung 4.19 | Zeitlicher Verlauf der gemessenen BOLD-Antwort der Experimentalgruppen in Anwesenheit von SKF83959 (grün), SCH23390 (rot), MK801 (blau) im Vergleich zur Kontrollgruppe (schwarz) während der *Tractus perforans*-Stimulation mit 50%iger (blaue Balken, 250 µA) und doppelter Stimulationsintensität (grauer Balken; 500 µA). Durch die Stimulation des TP bei 50 % Stimulationsintensität wurde eine BOLD-Antwort in der Hippocampus-Formation (HCi, ECi, ECc) ausgelöst. In allen Experimentalgruppen wurde zudem eine geringe BOLD-Antwort im contralateralen Hippocampus (HCc) als auch im medialen präfrontalen Cortex (mPFC) registriert. Unabhängig von der Anwesenheit des

NMDA-Rezeptor-Antagonisten oder des D<sub>1/5</sub>-Rezeptor-Antagonist oder -Agonist konnte durch eine Erhöhung der Intensität von 250  $\mu$ A (gestrichelte Linie, rechte Seite) auf 500  $\mu$ A (glatte Linie, rechte Spalte) in allen Versuchsgruppen und Regionen eine signifikante Erhöhung der BOLD-Antwort induziert werden. (D) Nur die Anwesenheit des NMDA-Rezeptor-Antagonisten MK801 reduzierte die maximale BOLD-Antwort im Nucleus accumbens signifikant.



Tabelle 4.8 | Zusammenfassung der gemessenen BOLD-Parameter der Experimentalgruppen im Vergleich zur pharmakologischen Kontrollgruppe während der hochfrequenten Stimulation des *Tractus perforans* mit 20 Pulsen.

	100 Hz 20 Pulse	250 $\mu$ A		500 $\mu$ A	
		BOLD <sub>max</sub>	t <sub>max</sub>	BOLD <sub>max</sub>	t <sub>max</sub>
<i>H<i>Ci</i></i>	Kontrolle	2,51 $\pm$ 0,23	9,71 $\pm$ 0,76	3,03 $\pm$ 0,23	10,86 $\pm$ 1,07
	SKF83959	2,30 $\pm$ 0,23	8,57 $\pm$ 0,96*	2,95 $\pm$ 0,60	10,29 $\pm$ 0,76
	SCH23390	3,03 $\pm$ 0,11*	10,00 $\pm$ 0,0	3,31 $\pm$ 0,43	13,71 $\pm$ 0,76*
	MK801	2,21 $\pm$ 0,17*	8,57 $\pm$ 0,96*	2,97 $\pm$ 0,08	10,57 $\pm$ 0,98
<i>H<i>Cc</i></i>	Kontrolle	0,80 $\pm$ 0,18	8,00 $\pm$ 1,15	1,66 $\pm$ 0,38	11,71 $\pm$ 0,76
	SKF83959	1,04 $\pm$ 0,45	8,00 $\pm$ 1,63	2,26 $\pm$ 0,65	10,00 $\pm$ 1,15*
	SCH23390	0,78 $\pm$ 0,23	7,71 $\pm$ 1,38	1,90 $\pm$ 0,54	13,14 $\pm$ 1,07*
	MK801	0,26 $\pm$ 0,13*	5,15 $\pm$ 2,79	0,84 $\pm$ 0,34*	10,86 $\pm$ 1,07
<i>E<i>Ci</i></i>	Kontrolle	3,63 $\pm$ 0,42	8,28 $\pm$ 0,76	4,68 $\pm$ 0,69	10,29 $\pm$ 0,76
	SKF83959	4,06 $\pm$ 0,44	7,43 $\pm$ 0,98	5,69 $\pm$ 0,86*	7,71 $\pm$ 0,76*
	SCH23390	4,68 $\pm$ 0,32*	9,71 $\pm$ 0,76*	5,69 $\pm$ 0,73*	11,71 $\pm$ 1,38
	MK801	3,26 $\pm$ 0,50	8,00 $\pm$ 0,00	4,33 $\pm$ 0,34	10,57 $\pm$ 0,96
<i>E<i>Ci</i></i>	Kontrolle	1,90 $\pm$ 0,38	8,00 $\pm$ 0,00	2,96 $\pm$ 0,39	11,14 $\pm$ 1,07
	SKF83959	1,72 $\pm$ 0,21	7,43 $\pm$ 1,51	3,11 $\pm$ 0,59	8,00 $\pm$ 1,15*
	SCH23390	1,34 $\pm$ 0,34*	8,29 $\pm$ 1,38	3,15 $\pm$ 0,48	12,00 $\pm$ 1,15
	MK801	0,87 $\pm$ 0,20*	7,14 $\pm$ 1,95	2,54 $\pm$ 0,38	9,43 $\pm$ 0,98*
<i>N<i>Acc</i></i>	Kontrolle	0,56 $\pm$ 0,38	6,85 $\pm$ 2,26	1,76 $\pm$ 0,14	9,43 $\pm$ 1,90
	SKF83959	0,53 $\pm$ 0,27	5,71 $\pm$ 1,79	1,57 $\pm$ 0,39	7,14 $\pm$ 2,54
	SCH23390	0,64 $\pm$ 0,19	8,00 $\pm$ 3,05	1,76 $\pm$ 0,31	12,00 $\pm$ 1,15*
	MK801	0,02 $\pm$ 0,34*	12,0 $\pm$ 3,82	0,18 $\pm$ 0,22*	10,57 $\pm$ 4,71
<i>mPFC/ ACC</i>	Kontrolle	0,89 $\pm$ 0,22	6,57 $\pm$ 0,98	2,36 $\pm$ 0,09	8,29 $\pm$ 0,76
	SKF83959	1,10 $\pm$ 0,34	5,14 $\pm$ 1,07*	2,67 $\pm$ 0,40	6,00 $\pm$ 0,00*
	SCH23390	0,97 $\pm$ 0,30	7,43 $\pm$ 1,90	2,53 $\pm$ 0,20	10,00 $\pm$ 0,00*
	MK801	0,97 $\pm$ 0,14	7,14 $\pm$ 2,27	2,05 $\pm$ 0,10*	9,43 $\pm$ 0,98

Aufgeführt sind die Durchschnittswerte  $\pm$  Stabw (n = 5 Versuchstiere pro Gruppe). Die BOLD<sub>max</sub>-Werte stellen den prozentualen Anstieg der BOLD-Signalintensitäten und t<sub>max</sub> BOLD-Werte stellen die Zeit zwischen Szimulationsbeginn und maximaler generierter BOLD-Signalintensität (in Sekunden) dar. Signifikante Veränderungen im Vergleich zur pharmakologischen Kontrollgruppe wurden farblich markiert.

#### 4.3.4.2 Neurophysiologische Effekte im DG

Bei dem Vergleich der neurophysiologischen Antwort im DG der NMDA-Experimentalgruppe im Vergleich zur pharmakologischen Kontrollgruppe konnte wiederum festgestellt werden, dass sich insbesondere der Einfluss des NMDA-Rezeptor-Antagonisten auf die lokale Antwort veränderte. Wie schon in 4.3.2 festgestellt, stieg die PSA dabei innerhalb der Stimulationsphase an. Im Verlauf des Stimulations-Abschnitts nimmt die PS Amplitude hingegen mit Zunahme der Stimulationsphasen ab. Während sich unter Modifizierung der  $D_{1/5}$ -Rezeptoren zu den vorhergehenden Versuchen kein signifikanter Unterschied feststellen ließ, sank die PSA unter Einfluss des NMDA-Rezeptor-Antagonisten im Vergleich zur pharmakologischen Kontrollgruppe signifikant ab (Mann-Whitney-Test: Stimulationsintensität 250  $\mu$ A:  $U = 1$ ;  $Z = -3,36$ ,  $p < 0,001$ , Stimulationsintensität 500  $\mu$ A:  $U = 2$ ;  $Z = -3,36$ ,  $p < 0,001$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 5$ ; Abbildung 4.20). Obwohl eine Stimulationsintensitätserhöhung die PSA in allen Versuchsgruppen signifikant erhöhte, sank die PSA ausschließlich mit Zunahme der Stimulationsphasen unter MK801 signifikant ab. Im Gegensatz zur kontinuierlichen Stimulation unter Einfluss von dem NMDA-Rezeptorantagonisten spiegelt sich dieser Unterschied auch in der PS Latenz hoher Stimulationsintensitäten wider (Mann-Whitney-Test: Stimulationsintensität 250  $\mu$ A:  $U = 39$ ;  $Z = -0,83$ ;  $p = 0,21$ ; Stimulationsintensität 500  $\mu$ A:  $U = 7$ ;  $Z = -3,25$ ;  $p < 0,001$ ;  $n_{\text{Ratten}} = 5$ ; Abbildung 4.20).

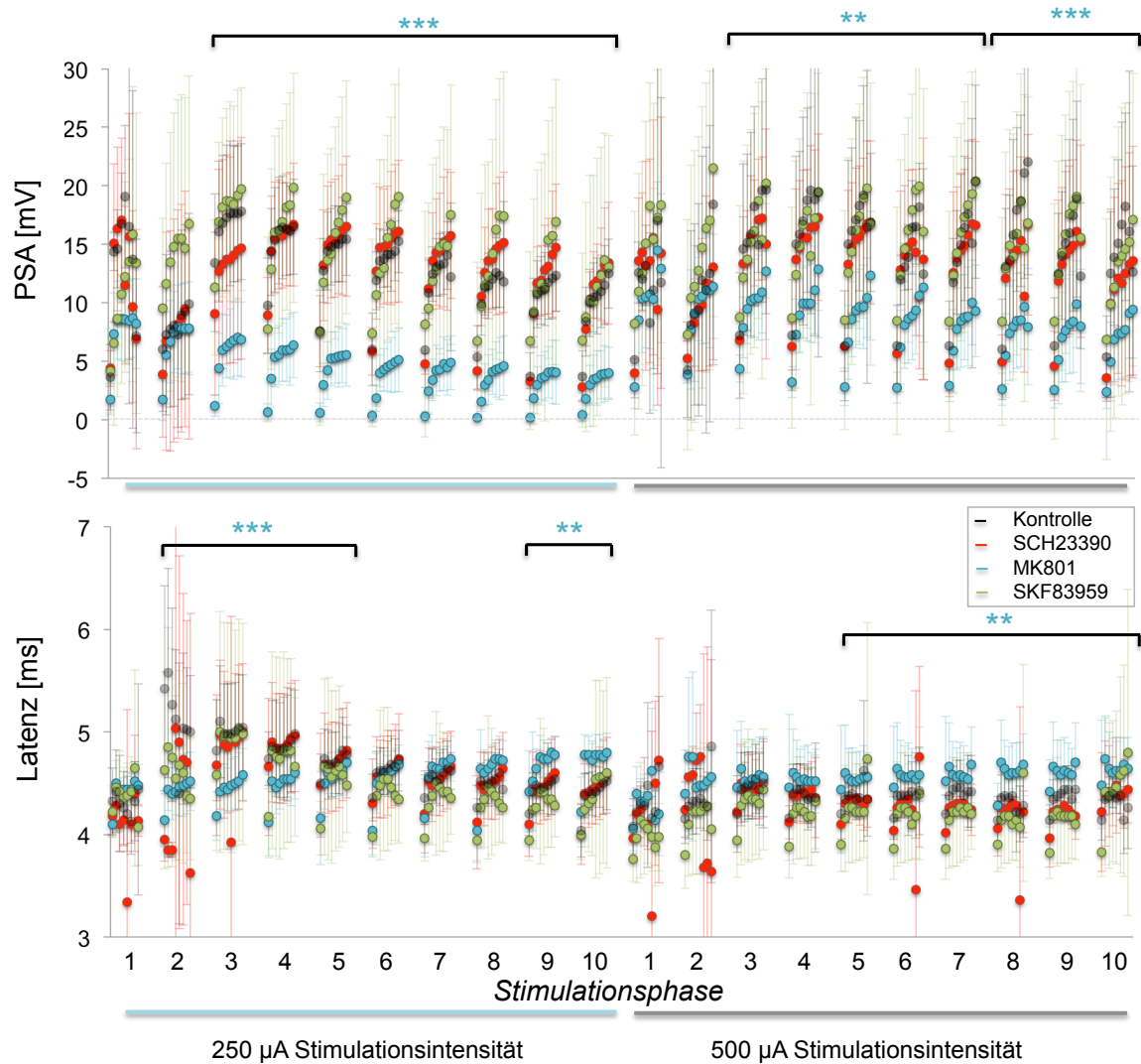


Abbildung 4.20 | Vergleich der neurophysiologischen Antwort im *Gyrus dentatus* während 50 %iger (250  $\mu$ A) und doppelter (500  $\mu$ A) Stimulationsintensitäten während der *Tractus perforans*-Stimulation der pharmakologischen Experimentalgruppen (SCH23390 -rot, MK801-blau, SKF83959-grün) im Vergleich zur pharmakologischen Kontrollgruppe (schwarz). Der Verlauf innerhalb der individuellen Stimulationsphase blieb in allen Experimentalgruppen unverändert. Der gemittelte PSA-Wert sank sowohl während mittlerer und hoher Stimulationsintensitäten durch die Blockade der NMDA-Rezeptoren signifikant ab. Statistisch dargestellt ist das Signifikanzniveau der PSA und der Latenz (MW  $\pm$  Stabw) der Experimentalgruppen (n = 5 Versuchstiere je Gruppe) im Vergleich zur pharmakologischen Kontrollgruppe (n = 5 Versuchstiere), unterschieden mit \*p < 0,05, \*\*p < 0,01, \*\*\*p < 0,001.

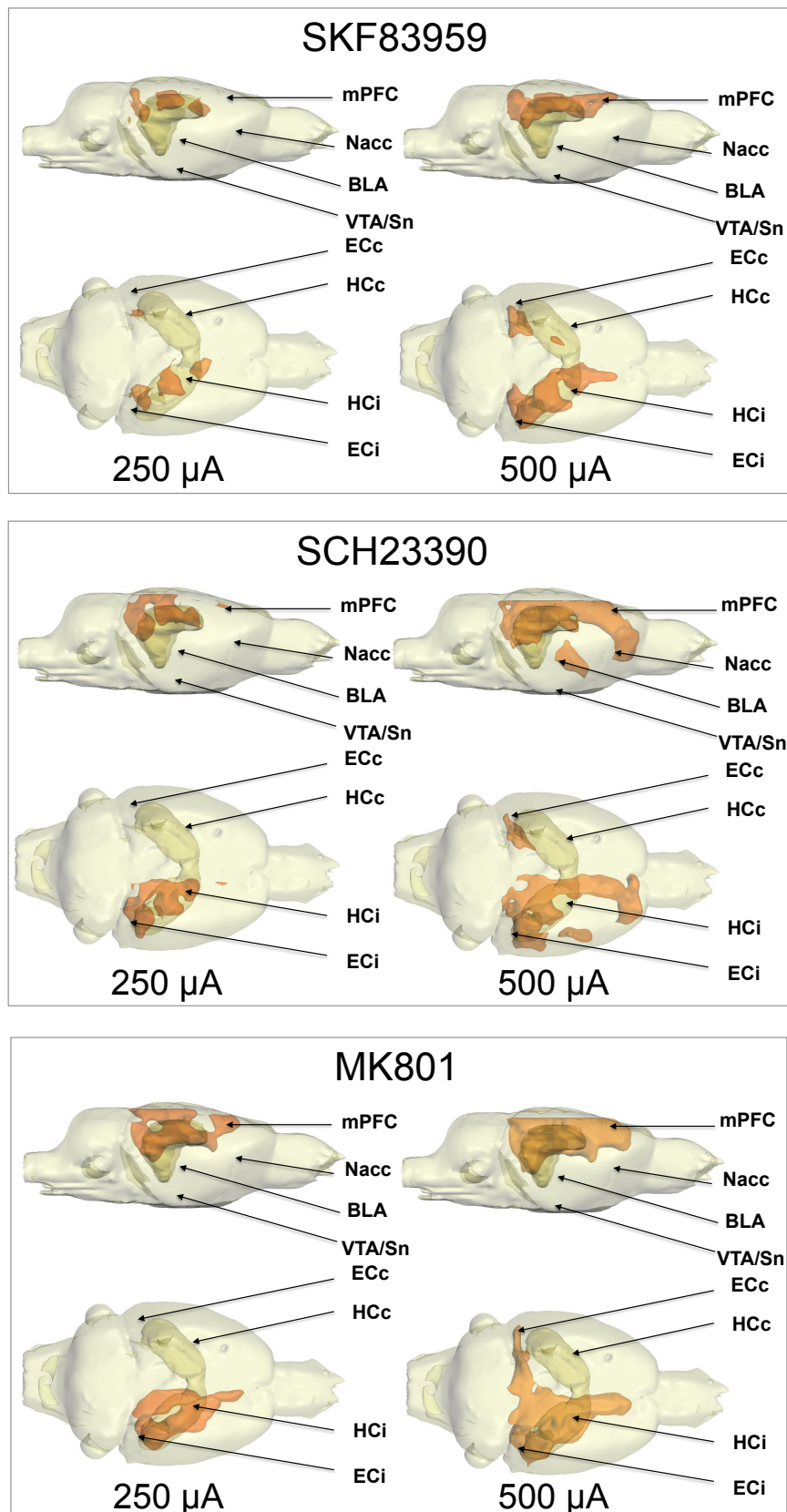


Abbildung 4.21 | Visualisierung der BOLD-Aktivierungsmuster der pharmakologischen Experimentalgruppen (SCH23390, SKF83959, MK801) während der kurzen diskontinuierlichen Stimulation mit 20 Pulsen des *Tractus perforans* im 3D-Modell des Ratten-Gehirns.

## 5 Diskussion

Die elektrische Stimulation des *Tractus perforans* (TP) mit kurzen hochfrequenten Pulsfolgen führt zu einer Aktivierung von Neuronen in der gesamten hippocampalen Formation und induziert damit eine durch die funktionelle Magnetresonanztomographie (fMRT) nachweisbare BOLD-Antwort im Hippocampus. Sobald diese eingehende Aktivität eine bestimmte Schwelle überschreitet, werden signifikante BOLD-Antworten auch außerhalb der hippocampalen Formation, wie z.B. im medialen präfrontalen Cortex (mPFC) - anterioren Cingulum (ACi) und im Nucleus accumbens (NAcc) nachweisbar. Die afferenten Hauptfasern des TP projizieren monosynaptisch vom entorhinalen Cortex (EC) zu den Hippocampus-Arealen *Gyrus dentatus* (DG), *Cornu Ammonis* (CA1-CA3) und zum *Subiculum* (Sub). Efferente Fasern verlassen die Hippocampus-Formation über das Sub und die CA1 und projizieren zu subcorticalen und corticalen Regionen, wie dem mPFC/ACi als auch den im Mittelhirn gelegenen NAcc. (Lavenex & Amaral 2000; Witter et al. 2000). Das bedeutet, dass sobald signifikante BOLD-Antworten in den Zielregionen des Hippocampus während der Stimulation des TP nachweisbar werden, die Signalverarbeitung innerhalb der einzelnen hippocampalen Arealen zu einer effizienten Weiterleitung durch die hippocampale Formation führt. Folglich zeigen die vorliegenden Ergebnisse, dass der verwendete experimentelle Ansatz Untersuchungen ermöglicht, wie bestimmte Stimulationsmuster sowohl innerhalb der Hippocampus Areale verarbeitet, als auch als Ergebnis dieser Verarbeitung weitergeleitet werden.

### 5.1 Der Einfluss der Stimulationseigenschaften auf die Signalverarbeitung im Hippocampus

Die Regulierung von kognitiven Funktionen basiert nicht ausschließlich auf der neuronalen Aktivität einzelner Hippocampus-Areale, sondern beruht vielmehr auf deren zeitlicher Interaktion innerhalb ihres neuronalen Verbands (Axmacher et al. 2006). Der funktionelle Status dieses lokalen neuronalen Netzwerks kann durch die Eigenschaften aller zugehörigen Zellen definiert werden (Hauptneurone, Interneurone, Gliazellen) und deren anatomischen und funktionellen Verbindungen.

Eingehende Signale beeinflussen die Eigenschaften dieses Netzwerks (in Abhängigkeit von der Qualität und Quantität) und können so den elektrophysiologischen Zustand des Netzwerks für bestimmte Zeiträume ändern, wie es für bestimmte Lernparadigmen gezeigt werden konnte (Morris et al. 2003; Kandel 2001; Kemp & Manahan-Vaughan 2008; Eichenbaum 2004; McNaughton & Neuroscience 1987; Reymann & Frey 2007). Die Wirksamkeit der effektiven Netzwerkaktivität wird von der synaptischen Übertragung reguliert. Die eingehende Aktivität in den *Gyrus dentatus* (DG) wird durch das Stimulationsmuster genau definiert. Die elektrophysiologischen Aufzeichnungen der Größe und Latenz des Summenaktionspotenzials (*population spike - PS*), die als Antwort der Körnerzellen auf den eingehenden Reiz generiert wird, gibt Informationen über die Ausgangsaktivität aus dem DG wieder. Somit können aus Veränderungen zwischen Eingangs- und induzierter Ausgangsaktivität Rückschlüsse auf die Effizienz der Signalverarbeitung geschlossen werden.

### 5.1.1 Verlängerung der Stimulationsdauer

Alle angewandten hochfrequenten Stimulationsmuster des rechten TP induzierten erwartungsgemäß eine starke BOLD-Antwort im ipsilateralen Hippocampus (DG, CA1-CA3, EC). Bereits in vorhergehenden Studien konnte eine solche BOLD-Aktivierung des ipsilateralen Hippocampus durch kurze 8 s lange hochfrequente diskontinuierliche Stimulation des TP wiederholt gezeigt werden (Angenstein et al. 2007; Angenstein et al. 2010; Tiede et al. 2012; Krautwald et al. 2013).

Während der kurzen diskontinuierlichen Stimulationsphase wurde die maximale BOLD-Signalintensität allerdings erst am Ende der Stimulationsphase erreicht. Damit blieb zunächst ungewiss, ob zu diesem Zeitpunkt die maximale BOLD-Antwort bereits generiert wurde, und ob auch Zielregionen des Hippocampus durch längere Stimulationsphasen aktiviert werden könnten. Eine Verlängerung der Stimulationsdauer auf 30 Sekunden zeigte, dass die maximale BOLD-Antwort sowohl im Hci als auch im EC wiederum nach 8 s erreicht wurde und bis zum Ende der Stimulation auf diesem Niveau blieb.

Zeitgleich mit der Entwicklung der BOLD-Antwort erhöhten sich die Summenaktionspotenziale innerhalb einer Stimulationsphase während der



diskontinuierlichen Stimulation nur innerhalb der ersten Sekunden und verringerten sich anschließend kontinuierlich. Gleichzeitig erhöhte sich die Latenz stetig, was vermuten lässt, dass zwei verschiedene Prozesse durch wiederholte Stimulationen aktiviert werden. Eine durch Glutamat vermittelte exzitatorische Aktivierung führt zur Potenzierung der PSA, wird aber zeitgleich durch starke Vorwärts- und Rückwärtshemmung der Interneurone des DG limitiert (L. Seress & Ribak 1983; Coulter & Carlson 2007; Hsu 2007; Buzsáki & Eidelberg 1982).

Ein weiterer Effekt der hochfrequenten Stimulationsparadigmen des TP waren die sich abrupt ändernden Antworten von der ersten zur zweiten Stimulationsphase, wie es in plastizitätsrelevanten Studien des DG vergangener Jahrzehnte bereits festgestellt werden konnte (Bliss 1973; Coulter & Carlson 2007; Greenstein et al. 1988; Otto et al. 1991; Miles et al. 1987; Hyman et al. 2003; Zucker & Regehr 2002). Die stark variierenden Amplituden der PS innerhalb der ersten hochfrequenten Stimulationsphase mit 20 Pulsen und vergleichsweise stabileren PSA der zweiten Phase mit deutlich angestiegener Latenzzeit deuteten darauf hin, dass die erste hochfrequente Stimulationsphase eine Reorganisation des Netzwerks verursacht, welches alle nachfolgenden Effekte auf die lokale Signalverarbeitung beeinflusst. Unterstützt wird diese Interpretation durch die Ergebnisse von Studien, die eine ähnliche Reorganisationsphase während hochfrequenter Stimulationsphasen vermuten, die die funktionellen Eigenschaften des System verändern (Angenstein et al. 2010; Tiede et al. 2012; Helbing et al. 2013; Canals et al. 2009). Wahrscheinlich beginnt diese Reorganisation mit der Aktivierung zusätzlicher neuronaler Elemente im Netzwerk des Gyrus dentatus während der ersten hochfrequenten Stimulationsphase.

Diese Effekte weisen alle auf eine zunehmende Aktivierung hemmender Interneurone hin. Laut Literatur sind Interneurone für die charakteristische geringe Erregbarkeit der Körnerzellen des DG verantwortlich, die sie von den Pyramidenzellen so unterscheidet (Coulter 1999). Verschiedene Formen von Interneuronen befinden sich den einzelnen Schichten des DG, wie dem Hilus, dem *Stratum granulosum* oder dem *Stratum moleculare* (Freund & Buzsáki 1996; Han et al. 1993; Whittington & Traub 2003). Das breite Spektrum an Eigenschaften, wie intrinsische Membranantworten, die Zielspezifität, der Einfluss auf die Kinetik der postsynaptischen Antwort und auf Co-Transmittern, die freigegeben werden, sind

mitentscheidend für die resultierenden funktionellen Konsequenzen auf das agierende Netzwerk (Whittington & Traub 2003). In erster Linie liegt das an der starken Vorwärts- und Rückwärts Hemmung der verschiedenen Interneuron-Arten, die verschiedene Domäne, wie zum Beispiel das Soma oder das Perisoma der Hauptneurone innervieren (Han et al. 1993; Freund & Buzsáki 1996; Whittington & Traub 2003; Miles et al. 1996), aber auch teilweise auf einer Kombination aus intrinsischen Faktoren (einschließlich eines hyperpolarisierten Ruhemembranpotentials und die daraus reduzierte Leitfähigkeit, die weiteres phasisches Feuern reduziert) (Schulz 2006; Scharfman & Schwartzkroin 1990; Angenstein 2014). Zwei Hauptformen der Inhibierung sind dabei von entscheidender Bedeutung: 1) die Vorwärts-Hemmung (Buzsáki & Eidelberg 1982), die auf einer glutamatergen Anregung der Interneurone beruht, und 2) die Rückwärts-Hemmung, bei der die interneuronale Anregung von rückläufiger lokal erregter Projektionsneurone stammt. Elektrophysiologische *in vitro* Untersuchungen von Buzsáki und Eidelberg (1982) demonstrierten, dass inhibitorische Korbzellen bei wesentlich niedrigerer Reizschwelle früher als die Hauptneurone des DG auf exzitatorische Stimulationen des TP reagieren (Buzsáki & Eidelberg 1982) und damit den Körnerzellen des DG eine effektive Vorwärts-Hemmung gewährleisten. Diese Autoren berichteten auch, dass Interneurone der Hochfrequenzstimulation bis zu 30 Pulsen (d.h. 300 ms) folgen können, wohingegen die Hauptneurone nach zwei bis drei Pulsen nicht mehr mit einem Aktionspotenzial antworten. Alle zusätzlichen Pulse steigern die Wahrscheinlichkeit der Entladungen der Interneurone. Dies legt nahe, dass ein und dasselbe Interneuron sowohl an einer Vorwärts- als auch an einer Rückwärts-Hemmung beteiligt sein könnte. Innerhalb des DG bewirken Interneurone eine starke Rückwärtshemmung, d. h. sie empfangen Eingänge von Körnerzellen und schalten auf deren Soma bzw. Axone zurück. Die Körnerzellen des *Stratum moleculare* erhalten rückgekoppelte Afferenzen anderer Körnerzellen der gleichen oder kommissuraler Afferenzen aus dem DG der anderen Hemisphäre (Laszlo Seress & Ribak 1983; Halasy & Somogyi 1993; Behr et al. 1998). Die Rückwärts-Hemmung kann damit nicht nur die Ausbreitung der rezidivierenden Anregung limitieren, sondern auch die Dauer ihrer Wirkung beschränken, weil sie zeitlich mit der erneuten Anregung überlappt. Darüber hinaus kann diese divergente Ausbreitung der lokalen Hemmung die synchrone Entladung der Projektionsneurone fördern, indem synchrone relative Refraktär-Perioden entstehen (Grunze et al. 1996).

Die Auswirkungen der elektrophysiologisch nachgewiesenen Änderungen der neuronalen Aktivität auf die resultierende BOLD-Antwort innerhalb eines Stimulations-Abschnitts waren nicht eindeutig. Die Tatsache, dass während der letzten diskontinuierlichen Stimulationsphasen die anfängliche Vergrößerung sowohl der BOLD-Antwort als auch der PSA stetig sanken, ließ zunächst eine direkte Korrelation zwischen beiden Prozessen vermuten. Tatsächlich steigt aber die Amplitude von der ersten zur zweiten Stimulationsphase an und beginnt anschließend zu sinken. Die aufgezeichnete BOLD-Antwort im ipsilateralen HC verläuft auf der anderen Seite genau gegensätzlich. Diese Entwicklung der BOLD-Antwort kehrte sich in den anschließenden langen diskontinuierlichen Stimulationsphasen um und wurde zudem nicht beobachtet, wenn ausschließlich lange diskontinuierliche Stimulationsphasen angewandt wurden. Da keine direkte Korrelation zwischen der PSA oder der Latenz der einzelnen Stimulationsparadigmen und resultierender BOLD-Antwort existiert, ist eine Vorhersage der erzeugten BOLD-Antwort auf Basis der Spike-Aktivität (Ausgangsaktivität) der Körnerzellen nicht möglich. Ein weiteres Argument gegen eine wichtige Rolle der „Spiking“-Aktivität für der Generierung eines BOLD-Signals waren die aufgezeichneten BOLD-Antworten im ipsilateralen Hippocampus, trotz der nahezu fehlenden „Spiking“-Aktivität der Körnerzellen während der kontinuierlichen Stimulation. Dieser Befund wird durch vergangene Studien gestützt, die demonstrierten, dass die resultierende BOLD Antwort nicht das Resultat einer gesteigerten Ausgangs - Aktivität der Neurone ist (Viswanathan & Freeman 2007; Harris et al. 2010; Angenstein et al. 2010; Angenstein 2014). Obwohl das exzitatorische postsynaptische Potential (EPSP) zwar in dieser Arbeit nicht genauer quantifiziert werden konnte, kann dessen Aufzeichnung während der Hochfrequenz-Stimulation zumindest als Hinweis für eine synaptische Aktivität dienen. Das bedeutet, dass eine gewisse synaptische Aktivität eine unabdingbare Voraussetzung zu sein scheint, um ein BOLD Signal zu induzieren.

Dies bedeutet, dass entweder die Interneurone, deren Aktivität nicht direkt durch die gemessene Summenaktionspotenziale wiedergegeben werden, oder weitere Faktoren existieren, die die Generierung des BOLD-Signals steuern. Neueste Studien haben das komplizierte Wechselspiel zwischen erregenden und hemmenden Neuronen für die neurovaskuläre Kopplung zusammen mit einer Vermittlerrolle von

Astrozyten und Perizyten, die zwischen den Neuronen und Mikrogefäßen ideal positioniert sind, hervorgehoben (Carmignoto & Gómez-Gonzalo 2010; Filosa et al. 2015; Iadecola & Nedergaard 2007; Cauli & Hamel 2010; Lecrux & Hamel 2011; Peppiatt et al. 2006; Hall et al. 2014). So konnten beispielsweise Studien zeigen, dass die hämodynamische Antwort im visuellen Cortex und im Cerebellum durch eine aktive Modulierung der Neurone durch Interneurone gesteuert werden kann (Enager et al. 2009; Kocharyan et al. 2008; Lecrux et al. 2011). GABA Interneurone sind eine komplexe und vielfältige Familie von Neuronen. Sie unterscheiden sich nicht nur in der Morphologie und ihren Bindungs-Eigenschaften, sondern auch in den Peptiden, die sie co-exprimieren (Kubota et al. 1994; Cauli et al. 2004). Einige solcher Interneurone enthalten vasoaktiven Faktoren, wie Stickoxid (NO) (Valtschanoff et al. 1993), Neuropeptid Y (NPY) und Somatostatin (SOM) (Aoki & Pickel 1989; Kubota et al. 1994; Abounader & Hamel 1997), das vasoaktive intestinales Polypeptid (VIP) (Cauli et al. 2004; Koehler et al. 2009). Diese vasoaktive Fähigkeit wurde in einzelnen GABA Interneuronen *in vitro* in Hirnschnitten festgestellt (Cauli et al. 2004). Eine vergleichbare Wirkung wurde durch eine direkte Anwendung von GABA mit Hilfe von GABA-Agonisten gezeigt, was eine Dilatation der Hirnarteriensegmente verursachte (Edvinsson & Krause 1979; Edvinsson et al. 1980). Insgesamt belegen diese *in vivo* Daten deutlich, dass GABAerge Interneurone wesentlich zu der resultierenden hämodynamischen Antwort beitragen können und ferner, dass unterschiedliche Populationen von Interneuronen in Abhängigkeit von der Art des Reizes rekrutiert werden können.

Für die Körnerzellen des *Gyrus dentatus* konnte allerdings mehr als eine Art eines inhibitorischen Einflusses beschrieben werden. Das GABA-vermittelte und Cl<sup>-</sup>-abhängige frühe IPSP (Thalmann & Ayala 1982; Bartos et al. 2001) dauert nur einige Millisekunden an. Eine weitere Modifizierung der lokalen neuronalen Antwort im DG kann durch ein spätes IPSP verursacht werden, welches primär durch eine veränderte Kalium-Leitfähigkeit verursacht wird (Thalmann & Ayala 1982; Rausche et al. 1989). Die zunehmende Inhibierung innerhalb des gesamten Stimulationszeitraums würde die zunehmende Latenz und die stark reduzierte PSA in den langen diskontinuierlichen Stimulationsphasen des zweiten Stimulations-Abschnitts erklären. Eine derartig steigende Inhibierung mit sukzessiver Depression der PSA wird nicht durch die synaptische Inhibierung der Interneurone vermittelt,

sondern basiert auf der Änderung des Membranpotentials und kann daher als intrinsische Inhibierung betrachtet werden. Die gleichzeitig zunehmende Ausbreitung des BOLD-Signals innerhalb des ipsilateralen Hippocampus könnte demzufolge durch einen gestiegenen Kalium-Wert induziert werden. Der vasoaktive Effekt von extrazellulären Kalium auf die Blutfluss regulierenden Gefäße kann laut mehreren Studien zufolge direkt (McCarron & Halpern 1990; Nakahata et al. 2006; Leithner et al. 2010) als auch indirekt über Astrozyten (Dunn & Nelson 2010; Koehler et al. 2009; Farr & David 2011) erfolgen.

Das bedeutet, dass sowohl inhibierende synaptische Komponenten als auch intrinsische Faktoren zur resultierenden BOLD-Antwort beitragen können. Auf der anderen Seite regulieren beide Formen der Inhibierung die exzitatorische Signalweiterleitung in die Zielregionen des Hippocampus. Glutamat kann als wichtigster exzitatorischer Neurotransmitter im Gehirn (Attwell & Laughlin 2001), trotz der Abwesenheit von Glutamat-Rezeptoren auf zerebralen Mikrogefäßen (Morley et al. 1998) hämodynamische Reaktionen durch indirekte Signalisierung (Bonvento et al. 2002) auslösen. Solche Mechanismen der Modulation des zerebralen Blutflusses durch Glutamat beinhaltet unter anderem die Induktion von Kalziumwellen in Astrozyten. Astrozyten haben die Fähigkeit, Vasokonstriktion oder Vasodilatation in lokalen Mikrogefäßen zu induzieren (Nedergaard et al. 2003).

Zu beachten ist, dass die im DG gemessene elektrophysiologische Antwort der Körnerzellen nur ein Teil der neuronalen Aktivität darstellt, der für die im gesamten ipsilateralen Hippocampus registrierte BOLD-Antwort verantwortlich ist. Der *Tractus perforans* projiziert auch zu anderen Subarealen der Hippocampus-Formation, wie zum Beispiel der CA3 und CA1. Zudem stimulieren die Körnerzellen des DG Neurone der CA3, diese wiederum projizieren zu CA1-Neuronen. Somit erhalten diese Subareale des Hippocampus sowohl monosynaptische Eingänge des *Tractus perforans* und mehr oder weniger vorverarbeitete Signale anderer hippocampaler Regionen. Die neuronale Verarbeitung in den Subarealen der CA3- und CA1-Region wurden in der vorliegenden Arbeit nicht untersucht, obwohl sie auch zur BOLD-Signalintensitätsänderung des HC beitragen. Daher wäre die Identifizierung der einzelnen Substrukturen des Hippocampus durch eine höhere Auflösung der

fMRT und lokale Ableitungen in anderen Regionen des HC ein Ziel für zukünftige Studien, um die lokale Signalverarbeitung genauer zu spezifizieren.

### *5.1.2 Erhöhung der Stimulationsintensität*

Hochfrequente Stimulation mit 20 Pulsen bei Standard-Intensität (50%) beschränkte die BOLD-Antwort auf hippocampale Strukturen (d.h. H<sub>CI</sub>, E<sub>CI</sub>, EC<sub>C</sub>). Eine Variation von Stimulationsparametern, wie etwa die Länge der Stimulationsphase, erhöhte nur die Ausbreitung der BOLD-Aktivierung im ipsilateralen Hippocampus. Nur bei einzelnen Versuchstieren wurde unter diesen Bedingungen einer BOLD-Antwort im mPFC und des NAcc registriert. Das bedeutet, bei 50%-Stimulationsintensität scheint eine Weiterleitung der Erregung bis zu diesen Strukturen zu erfolgen, die aber zu gering ist, um die Aktivitätsänderungen auszulösen, die mit fMRT detektierbar sind. Bestätigt wird diese Annahme durch die Beobachtung, dass bei erhöhter Stimulationsintensität immer eine BOLD-Antwort in diesen Regionen registriert werden konnte.

Der Hauptunterschied zwischen der Stimulation mit erhöhter Intensität und Standard-Intensität ist, dass eine größere Anzahl von Fasern und Neuronen und andere Neuronen-Kombinationen mit erhöhter Intensität aktiviert werden. Die Interneurone des Hilus haben zudem einen geringeren Schwellenwert als die exzitatorischen Neurone (Mcnaughton 1982; Buzsáki & Eidelberg 1982). Während bei Stimulation mit Standard-Intensität vorwiegend Interneurone eine starke Vorwärts-Hemmung gewährleisten, werden bei höherer Intensität zunehmend exzitatorische Neurone aktiviert. Im Vergleich zur Standard-Intensität führte neurophysiologisch die Erhöhung der Intensität im DG zur Potenzierung der PSA und zur verringerten PS Latenz. Durch die zunehmende Rekrutierung von exzitatorischen Neuronen kommt es durch eine erhöhte Intensität auch zur BOLD Aktivierung des contralateralen Hippocampus. Kommissurale Projektionen zweigen sowohl vom DG als auch von der CA3 zur homotopen contralateralen Seite. Außerdem projizieren kommissurale Fasern zum EC, zur CA1 Region und zum Subiculum (Blackstad 1956; Bartesaghi et al. 1995; Swanson & Cowan 1977). Eine Stimulation des TP kann somit zunächst zur neuronalen Aktivierung des DG und der CA3 der ipsilateralen Seite führen, dann zur Aktivierung der contralateralen EC, DG, CA1 und Subiculum. Die komplexe Konnektivität des Hippocampus gewährleistet so die Aktivierung einzelner

hippocampaler Areale über verschiedene Routen. Insbesondere die Region des Subiculus kann durch Projektionen aus verschiedenen Arealen aktiviert werden. So kann eine solche Aktivierung über trisynaptische Bahn (via DG-CA3-CA1) erfolgen (Yeckel & Berger 1990), oder aber durch eine direkte Aktivierung der CA3 bzw. des Subiculus durch den TP (Bartesaghi et al. 1995; Abraham & McNaughton 1984). Vom Subiculum und der CA1 verlassen Faserbahnen den Hippocampus zu subcorticalen Arealen (David B. Carr & Sesack 1996; Groenewegen et al. 1997). Bei ausreichender Ausgangsaktivität propagiert das Subiculum so auch zu den efferenten Zielregionen des mPFC und auch zum NAcc. Die räumliche Ausbreitung eines signifikanten BOLD-Signals in zusätzliche hippocampale Regionen mit zunehmender Stimulationsintensität konnte zeigen, dass die Übertragung der neuronalen Aktivierung, wie zum Beispiel der contralateralen Seite des Hippocampus und der angebunden Zielregionen möglich war, um durch ausreichende Intensität auch nachweisbare BOLD-Antworten zu erzeugen.

### *5.1.3 Erhöhung der Pulsanzahl bei gleichbleibender Dauer*

Hochfrequente Stimulationen mit 50 Pulsen und 100 Pulsen des TP generierten im Gegensatz zur Stimulation mit 20 Pulsen nahezu gleichwertige BOLD-Antworten im ipsilateralen HC, welche sich weder im Anstieg noch im Zeitpunkt der maximalen erreichten BOLD-Signalintensität unterschieden. Allerdings führte die Erhöhung der Pulsanzahl zur BOLD-Aktivierungen sowohl im contralateralen Hippocampus als auch außerhalb der Hippocampus-Formation (mPFC, VTA, NAcc, BLA). Diese Befunde deuteten auf eine ähnliche Verarbeitung der beiden hochfrequenten Stimulationsparadigmen hin, die sich quantitativ von der Stimulation mit 20 Pulsen unterscheidet. Während der kontinuierlichen Stimulation mit 100 Pulsen konnte nur ein PS und damit auch nur eine Latenz pro Stimulationsphase registriert werden, was die Interpretation der lokalen Verarbeitung erschwert. Geht man davon aus, dass die Generierung der BOLD-Antworten während der Applikation von 50 Pulse als auch 100 Pulse auf einer ähnlichen Signalverarbeitung basieren, dann könnte möglicherweise die zunehmend gesunkene Latenz innerhalb der späten Stimulationsphasen mit 50 Pulsen ein Hinweis für eine reduzierte Hemmung durch Interneurone sein. Eine verstärkte postsynaptische Aktivität kann auch die Induktion einer LTP durch Unterdrückung der Inhibition fördern. So wurde für kurze hochfrequente Stimulationsphasen gezeigt,

dass die GABAerge Hemmung der Projektions-Neurone unterdrückt wird (Pitler & Alger 1992). In Bezug auf die vorliegenden Studien drückt sich diese Reduzierung durch langanhaltende Entladungen auch noch nach der zweiten Stimulationsphase bei hochfrequenter Stimulation des TP mit 50 und 100 Pulsen aus. Diese Form der in dieser Arbeit beobachteten Entladungen sind aus Epilepsie-Studien bekannt (Davies et al. 1991; Stelzer et al. 1994). Behr und Kollegen (1998) belegten anhand von Mehrfachableitungen im *entorhinalen Cortex*, im *Gyrus dentatus* und in der CA-Region, dass sich im EC gebildeten Entladungen nicht über den DG in die CA3 Region ausbreiten (Behr et al. 1998). Vielmehr wurde das Eingangssignal gefiltert und nur eine moderate synaptische Aktivität in der CA3 aufgenommen. Bei Tieren mit Epilepsie-artigen Pathologien wurde das Signal über den DG ohne Veränderung an die CA3-Region weitergeleitet. Dabei scheinen die GABA-Rezeptoren für die intakten inhibitorischen Mechanismen eine besondere Bedeutung zu haben (Kullmann et al. 2005; Nusser & Mody 2002; Bartos et al. 2001). Eine moderate pharmakologische Enthemmung durch Picrotoxin, einen nicht-kompetitiven GABA<sub>A</sub>-Antagonisten, führte zum kompletten Zusammenbruch der Filterfunktion des DG (Iijima et al. 1995; Coulter & Carlson 2007). Vergleichbare Studien beschrieben, dass eine Blockade von GABA<sub>A</sub> – und GABA<sub>B</sub>-vermittelten IPSPs auch zu einer Induktion der LTP führt, weil die Eliminierung des hyperpolarisierenden Einflusses die Expression von NMDA Rezeptor-vermittelten Leitfähigkeit verstärkt (Dingledine et al. 1986; Davies et al. 1991; Collingridge & Bliss 1988). Die verringerte Hyperpolarisation durch eine verstärkte TP Stimulation verringert so das Ausmaß, in dem NMDA-Rezeptor-Kanäle durch Mg<sup>2+</sup> blockiert werden und ermöglicht es dann, NMDA-Rezeptor-vermittelte synaptische Komponenten soweit zu summieren, um eine LTP zu induzieren. Zudem scheinen weitere Faktoren die beobachteten Entladungen im DG während der kontinuierlichen Stimulation zu fördern. Wiederholte Aktivierungen lassen die Ca<sup>2+</sup>-abhängige Leitfähigkeit für Kalium ansteigen. Kalium selber dämpft die Wirkung der IPSPs und veranlasst die Zelle in einem depolarisierten Stadium zu bleiben (Stringer & Lothman 1992; McCarren & Alger 1985). Dies steigert die Erregbarkeit der Körnerzellen und begünstigt weitere Nachentladungen. Kalium kann auf der anderen Seite wiederum zur verstärkten Dilatation der Arteriolen führen und somit neben Glutamat zum erhöhten BOLD Signal beitragen (Dunn & Nelson 2010; Farr & David 2011; Sokoloff 1999).



Eine solche, durch kontinuierliche Stimulation modifizierte, Signalverarbeitung innerhalb des Hippocampus könnte somit zu einer Signalweiterleitung und damit auch zur BOLD-Signalintensitätsänderung in afferenten Zielregionen des Hippocampus führen.

## 5.2 Einfluss der Stimulationseigenschaften auf die Aktivierung hippocampaler Zielregionen

Eine kurze *Tractus perforans*-Stimulation bei 100Hz mit 20 Pulsen aktiviert ipsilaterale hippocampale Formation und den contralateralen EC. Eine Verlängerung der Stimulationsphase auf 30 s verändert zwar Signalverarbeitung und im geringen Maße auch die BOLD-Antwort im HC<sub>i</sub>, allerdings konnte keine zusätzliche BOLD-Aktivierung außerhalb des HC registriert werden. Erst die Erhöhung der Stimulationsintensität induzierte eine nachweisbare BOLD-Antwort in subcorticalen Regionen. Im Gegensatz zur diskontinuierlichen Stimulation erfolgte durch eine Zunahme der Pulsanzahl bei Standard-Intensität zusätzlich eine Aktivierung der VTA/Sn-Region. Das spricht dafür, dass zwei unterschiedliche globale Netzwerke aktiviert wurden.

Die beiden unterschiedlichen hochfrequenten Stimulationsparadigmen, d.h. die diskontinuierliche (mit hoher Stimulationsintensität) und die kontinuierliche 100 Hz Stimulation, können signifikante BOLD-Antworten im mPFC/AC<sub>i</sub> als auch im NAcc auslösen, die sich durch folgende Merkmale der BOLD-Antwort unterscheiden: I) Der Zeitpunkt der Aktivierung innerhalb eines Stimulations-Abschnitts. Der mPFC/AC<sub>i</sub> wird durch diskontinuierliche Stimulation bereits in der ersten Stimulationsphase aktiviert. Kontinuierliche Stimulationsphasen induzieren hingegen erst ab der dritten Stimulationsphase eine signifikante BOLD-Aktivierung in den oben genannten subcorticalen Regionen. II) Die Unterschiede der hämodynamischen Antwort-Funktion (*hemodynamic response function* - HRF). Kontinuierliche und diskontinuierliche 100 Hz Stimulationsphasen lösen zwei verschiedene HRFs im mPFC/AC<sub>i</sub> aus, die sich in der ersten Steigung unterscheiden, so dass während der kurzen hochfrequenten Stimulationsphasen die maximale BOLD-Antwort ( $BOLD_{max}$ ) erst 2 s später im Vergleich zur diskontinuierlichen Stimulation generiert wurde.

Obwohl sich die Veränderung der BOLD-Antwort ohne die gleichzeitig aufgezeichneten elektrophysiologischen Signale nur schwer auf Basis neurophysiologischer Parameter der lokalen Signalverarbeitung darlegen lassen, deuten die oben genannten Unterschiede der Generierung der BOLD-Antwort auf verschiedene Formen der Signalprozessierung in den entsprechenden Regionen hin.

### *5.2.1 NMDA-Rezeptor-abhängige und NMDA-Rezeptor-unabhängige Signalverarbeitung im HC zur Aktivierung subcorticaler und corticaler Strukturen*

Alle Ergebnisse zusammen deuten auf eine klare Abhängigkeit des generierten BOLD-Musters von der quantitativen Signalverarbeitung im Hippocampus hin. Es konnte gezeigt werden, dass die BOLD-Signalintensitätsänderung nicht nur von direkt vorhergehenden Stimulationen beeinflusst wird, sondern, dass diese vorhergehende lokale Reorganisation und somit die unterschiedliche Weiterverarbeitung der Hippocampus-Formation ausschlaggebend für die Stärke der Aktivierung in den Zielregionen ist. Dies spiegelt sich in den zum Teil sehr großen Unterschieden zwischen den generierten BOLD-Antworten im HC als auch im mPFC und NAcc wider.

Sowohl NMDA und Non-NMDA-Rezeptoren tragen zur natürlichen Verarbeitung der Informationen im Hippocampus und corticalen Strukturen bei (Izquierdo et al. 1993; Rao & Finkbeiner 2007; Carroll & Zukin 2002; Mody & Heinemann 1987; Collingridge, Kehl & McLennan 1983; Jay et al. 1992). NMDA- und AMPA-Glutamat-Rezeptoren haben dabei unterschiedliche Rollen bei der Kontrolle der synaptischen Übertragung: AMPA-Rezeptoren ermöglichen eine schnelle Erregungsweiterleitung durch kurzfristige Veränderungen der synaptischen Effizienz, weil sie primär als Na<sup>+</sup>-Kanäle fungieren und dadurch eine schnelle Aktivierungs- und Deaktivierungs-Kinetik besitzen (Gouaux 2004). Der NMDA-Rezeptor besitzt hingegen einen spannungsabhängigen Magnesiumblock, eine hohe Kalzium-Permeabilität und eine langsame Aktivierungs- und Deaktivierungs-Kinetik (Mayer & Westbrook 1987; Mayer et al. 1984; Nowak et al. 1984). Folglich kann der NMDAR durch Glutamat nur geöffnet werden, wenn die postsynaptische Membran depolarisiert wird, wodurch der Rezeptor als Detektor und Integrator koinzidenter

Aktivität an der Synapse fungiert. Dadurch wird eine langfristige Erhaltung der synaptischen Übertragungseffizienz ermöglicht, die für komplexere und lang anhaltende Signalverarbeitungen erforderlich sind (Gouaux 2004; Rao & Finkbeiner 2007). So kann eine Blockade der NMDA-Rezeptoren, zum Beispiel durch MK801 oder AP5, die Induktion der LTP *in vitro* bzw. *in vivo* verhindern und zur Beeinträchtigung von Hippocampus-abhängigen Lern- und Gedächtnisprozessen führen (Davis et al. 1992; Abraham & Mason 1988; Carlén et al. 2012; Grunze et al. 1996; Morris 1989). Während die Rolle von Glutamat bei der Regulierung und Vermittlung solcher physiologischer Prozesse an Neuronen relativ gut erforscht wurde (Daw et al. 1993; Mody & Heinemann 1987; Carroll & Zukin 2002; Lovinger 2010), ist die mögliche Beteiligung von Glutamat bei der Modulation vaskulärer Prozesse, die sich im CBF und der BOLD Antwort widerspiegeln, weniger klar.

Vergleichbare Elektrostimulations-fMRT-kombinierte Studien konnten bereits belegen, dass sich die durch die systematische Verabreichung des NMDA-Rezeptor-Antagonisten MK801 veränderte lokale Signalverarbeitung, d.h. die Modifikation von exzitatorischen und inhibitorischen Komponenten, in einer reduzierten BOLD-Antwort multisynaptisch, aber nicht monosynaptisch aktivierter Regionen widerspiegelt (Tiede et al. 2012; Gsell et al. 2006).

In der vorliegenden Arbeit wurde eine Einzeldosis MK801 jeweils vor der fMRT Untersuchung der beiden *Tractus perforans*-Stimulationsprotokolle systematisch injiziert. Durch diese systematische Verabreichung können sowohl komplexe Signalverarbeitung im Hippocampus als auch die der Zielregionen beeinflusst werden. Die wichtigsten Resultate dieser Studie sind die unterschiedlichen Auswirkungen des NMDA-Rezeptor-Antagonisten MK801 auf das Ausmaß und das Muster der BOLD Antwort der beiden gemessenen Stimulationsparadigmen. Wie in Abbildung 4.18 zusammengefasst, vermindert der NMDA-Rezeptor-Antagonist MK801 die BOLD-Antwort in der Hippocampus-Formation als auch in den Zielregionen des Hippocampus während der kontinuierlichen Stimulation des TP. Die Blockade der NMDA-Rezeptoren führte dabei zu einer signifikanten Reduktion der BOLD-Signalintensitätsänderung in der Hippocampus-Formation (d.h. ipsilateraler und contralateraler HC und EC) und unterband darüber hinaus auch die BOLD Antwort in den Zielregionen des Hippocampus (mPFC, NAcc, VTA, BLA). Einerseits könnte der NMDA-Rezeptor-Antagonist MK801 natürlich ausschließlich vaskuläre Prozesse beeinflusst haben, die direkt die neurovaskuläre Kopplung steuern.

Astrozyten exprimieren zum Beispiel funktionelle ionotrope GluRs einschließlich NMDA- und AMPA/Kainat-Rezeptor-Typen (Brand-Schieber et al. 2004; Volterra & Steinhäuser 2004). Diese astrozytischen GluRs sind an verschiedene intrazelluläre Signalboten gekoppelt, einschließlich  $\text{Ca}^{2+}$ , cAMP, cGMP und Inositoltriphosphat, die bei der Regulierung, Freisetzung und Produktion von vasoaktiven Verbindungen, wie beispielsweise Stickoxid (NO) (Metea & Newman 2006; Garthwaite 2008; de Labra et al. 2009; Carmignoto & Gómez-Gonzalo 2010; Tabatabaei & Girouard 2005), Arachidonsäure-Derivate (AA) (Zonta et al. 2003; Takano et al. 2006; Koehler et al. 2009; Carmignoto & Gómez-Gonzalo 2010; Dabertrand et al. 2013) oder Epoxyeicosatriensäuren (EETs) (Metea & Newman 2006; Blanco et al. 2008; Koehler et al. 2009; Carmignoto & Gómez-Gonzalo 2010; Parfenova et al. 2012) beteiligt sind. All diese vasoaktiven Faktoren sind in der Lage, den arteriellen Gefäßtonus zu beeinflussen (Zonta et al. 2003; Filosa et al. 2004; Haydon & Carmignoto 2006; Pepicelli et al. 2005). So konnte bereits gezeigt werden, dass eine NMDA-Rezeptor-Aktivierung durch Stickoxid (NO) und cGMP-vermittelte Prozesse zum Anstieg des Blutflusses führen kann (Garthwaite 2008; Garthwaite et al. 1988; Tabatabaei & Girouard 2005; Muñoz et al. 2015). Wäre eine solche direkte Modifizierung des neurovaskulären Systems die eigentliche Ursache der veränderten BOLD-Antwort während der kontinuierlichen Stimulation des TP gewesen, dann wäre die neuronale Aktivität im Vergleich zur Kontrollgruppe unverändert geblieben. Allerdings unterschied sich die neuronale Antwort während der kontinuierlichen Stimulation bereits nach der ersten Stimulationsphase im Vergleich zur pharmakologischen Kontrollgruppe. Wesentlich wahrscheinlicher ist daher, dass der applizierte NMDA-Rezeptor-Antagonist das einbezogene neuronale Netzwerk direkt beeinflusst, wodurch inhibitorische oder exzitatorische Signalprozesse durch veränderte intrinsische Eigenschaften der Neurone (Daoudal & Debanne 2003; Schulz 2006) oder der Effizienz der synaptischen Übertragung (Abraham & Mason 1988; Mody & Heinemann 1987; Carroll & Zukin 2002) modifiziert werden. Da sowohl die Menge der aktivierten Neurone eines bestimmten Areals (Enager et al. 2009) als auch die Qualität der lokalen Verarbeitung eingehender Aktivität (Angenstein et al. 2010; Attwell & Iadecola 2002; Harris et al. 2010; Angenstein 2014) die Größe der BOLD Antwort definiert.

Auf neurophysiologischer Ebene führt eine Behandlung mit MK801 zu einer NMDA-Rezeptor Unterfunktion (Pinault & Inserm 2008). Durch diese Unterfunktion

der NMDA-Rezeptoren kommt es bei einer Depolarisation nicht mehr zur gleichen Kalziumdurchlässigkeit und postsynaptischen Kalziumerhöhung, wie es unter normalen Funktionsbedingungen der postsynaptischen Membran unter diesen Bedingungen zu beobachten ist. Im Zusammenhang zu den elektrophysiologischen Resultaten im DG interpretiert, ist es nicht verwunderlich, dass nach Gabe von MK801 nur eine kurzfristige Potenzierung der PSA und eine zunehmend steigende Latenz durch andauernde kontinuierliche Stimulation des TP in den Körnerzellen des DG hervorgerufen wurde. Unter diesen Umständen ist es ein wesentlicher Punkt, dass die BOLD-Antwort unter Hochfrequenz-Stimulation des TP eher durch die Eingangs- als durch die Ausgangsaktivität reguliert wird (siehe oben). Unter diesen Umständen beeinflusst diese veränderte Erregbarkeit der Neurone, während der kontinuierlichen Stimulation unter Einfluss von MK801, damit auch die unterschiedliche Weiterverarbeitung der eingehenden Signale.

Im Gegensatz zu früheren (Tiede et al. 2012) und auch in dieser Arbeit verzeichneten Resultaten unter diskontinuierlichen (100Hz–20 Pulse) Stimulationsbedingungen, führte eine kontinuierlichen Stimulation des TP unter Einfluss von MK801 bereits zu einer signifikanten Reduktion der BOLD-Antwort im ipsilateralen HC. Wie bereits zuvor erwähnt, setzt sich die resultierende BOLD-Antwort im Hippocampus aber nicht nur aus der monosynaptischen Aktivierung des Gyrus dentatus durch den TP zusammen, sondern stellt die Gesamtaktivierung der im DG-, CA3- und CA1-Region gemessenen BOLD-Signalintensitätsänderung dar. Obwohl keine Rückschlüsse auf die neuronale Verarbeitung in den Subarealen CA3 und CA1 gezogen werden kann, ist eine Reduktion der BOLD-Antwort unter Einfluss des NMDA-Rezeptor-Antagonisten ein möglicher Hinweis, dass durch die kontinuierliche Stimulation NMDA-Rezeptor-abhängige Signalverarbeitung in der CA3/CA1-Region auf der ipsilateralen Seite stattfinden. NMDA-Rezeptoren scheinen somit ein wesentlicher Teil der Signalkette zur Erzeugung der BOLD-Antwort durch neuronale Aktivierung unter diesen Stimulationsbedingungen zu sein.

Das bedeutet, dass durch Präsentation eines kontinuierlichen Stimulationsabschnittes mit 8 aufeinander folgenden Stimulationsphasen die Eigenschaften der neuronalen Schaltkreise des *Gyrus dentatus* soweit modifiziert wurden, dass die resultierende BOLD-Antwort innerhalb des Hippocampus als auch in dessen Zielregionen ebenfalls verändert wurde. Vergleichbare Ergebnisse konnten

Gsell und Kollegen (2006) durch eine Vorderpfoten-Stimulation der Ratte beobachten. In dieser Studie wurde unter Einfluss von MK801 im somatosensorischen Cortex, im Vergleich zu Kontrollbedingungen, eine Reduktion der BOLD-Signalintensitäten um 50 % verzeichnet (Gsell et al. 2006).

Wirken während der diskontinuierlichen Stimulation mit 20 Pulsen verstärkt inhibitorische Mechanismen dem depolarisierten Zustand entgegen, indem sie die  $Mg^{2+}$ -abhängige NMDA-Rezeptor-Aktivierung durch eine synaptische Inhibierung oder eine hyperpolarisierte Membran unterbinden, dann müsste das generierte BOLD-Muster NMDA-Rezeptor-unabhängig sein. Tatsächlich blieb im umgekehrten Fall die BOLD-Antwort während der diskontinuierlichen Stimulationsphasen mit 20 Pulsen, auch bei doppelter Stimulationsintensität, im Hippocampus durch die Blockade der NMDA-Rezeptoren unbeeinflusst. Die reduzierte BOLD-Antwort im NAcc während der diskontinuierlichen Stimulation unter Einfluss von MK801 verdeutlichte, dass in Zielregionen komplexere, NMDA-Rezeptor-abhängige Aktivierungsmuster induziert werden, wodurch die BOLD Signalintensität vermindert wird, wenn MK801 vorhanden ist.

Das resultierende BOLD-Muster während der diskontinuierlichen Stimulation mit hoher Intensität könnte weitestgehend durch die Vermittlung der neurovaskulären Kopplung durch AMPA-Rezeptoren bedingt sein (Gsell et al. 2006; Parfenova et al. 2012). So konnten Gsell und Kollegen (2006) neben der pharmakologischen Manipulation der NMDA-Rezeptoren auch zeigen, dass durch die Applikation eines AMPA-Rezeptor-Antagonisten die BOLD-Antwort um bis 68% reduziert wurde (Gsell et al. 2006). AMPA-Rezeptoren konnten bisher nicht auf den Gefäßwänden nachgewiesen werden (Morley et al. 1998), allerdings kann die glutamaterge Vermittlung auch unter diesen Bedingungen indirekt über Astrozyten gewährleistet werden (Leffler et al. 2006; Xi et al. 2011; Parfenova et al. 2012). Ebenso ging ein evozierte Reaktion des CBF mit der Aktivierung der Pyramidenzellen in allen ipsilateralen corticalen Schichten durch eine Vorderhirn-Stimulation einher (Kocharyan et al. 2008). Zusammen zeigen diese Beobachtungen, dass die hämodynamischen Reaktionen nicht nur ein Ergebnis der pyramidalen Zellaktivierung sind, sondern eine Kombination aus erregenden und hemmenden Einflüssen darstellt.

Damit belegten die Resultate der vorliegenden *in vivo* Untersuchungen unter pharmakologischem Einfluss des NMDA-Rezeptor-Antagonisten MK801 während der kontinuierlichen Stimulation des TP, dass die generierten BOLD Signalintensitätsänderungen im Hippocampus während der beiden hochfrequenten Stimulationsparadigmen auf unterschiedlichen hippocampalen neuronalen Aktivierungsmustern beruhen. Kurze Pulsfolgen (d.h. 100Hz-20 Pulse) mit niedrigen und hohen Intensitäten induzieren signifikante BOLD-Antworten im HC, die unabhängig von NMDA-Rezeptor-vermittelten Mechanismen sind, wohingegen signifikante BOLD Antworten während der Stimulation des TP mit 50 Pulsen oder 100 Pulsen durch NMDA-Rezeptor-abhängigen Mechanismen kontrolliert werden. Eine NMDA-Rezeptor-Aktivierung führt dann zu einem Anstieg der BOLD-Antwort, der vermutlich durch Stickoxid, cGMP oder über COX2 abgeleiteten gefäßerweiternde Prozesse vermittelt wird (Enager et al. 2009; Iadecola & Nedergaard 2007; Attwell et al. 2010).

Unter Einfluss des NMDA-Rezeptor-Antagonisten MK801 wird den Ergebnissen zufolge die Signalverarbeitung bereits innerhalb des HC soweit verändert, dass durch die verminderte Ausgangsaktivität des Hippocampus es zu verringerten BOLD-Signalintensitäten in Zielregionen führt. Somit kann bereits eine veränderte Ausgangsaktivität auch eine veränderte Signalverarbeitung der afferenten Zielregionen des HC verursachen.

### *5.2.2 Die polysynaptische Aktivierung des mesolimbischen dopaminergen Systems durch hippocampale Efferenzen*

Ein wesentlicher Unterschied im Vergleich zur diskontinuierlicher Stimulation bei hoher Intensität war die Generierung einer BOLD Antwort der VTA/Sn-Region während der kurzen und langen kontinuierlichen hochfrequenten Stimulation des TP. Die VTA-Region ist ein Bestandteil des mesolimbischen dopaminergen Transmittersystems und neben der *Substantia nigra pars compacta* (Sn) ein Teil der monoaminergen Kerngebiete. Mit dem elektrochemischen Nachweis einer Dopamin-Freisetzung in den NAcc konnte auch eindeutig demonstriert werden, dass während der kontinuierlichen Stimulation des TP dopaminerge Neurone des VTA/Sn aktiviert werden.

Eine direkte Aktivierung der VTA/Sn-Region ausgehend vom Hippocampus wurde bisher nicht beschrieben, sondern muss über ein polysynaptische Aktivierung induziert werden (Lisman & Otmakhova 2001; Lisman 1999). Die Arbeitsgruppe von Legault (2000) konnte durch chemische Stimulation des Subiculus (Legault et al. 2000) und auch durch eine direkte Injektion von N-Methyl-D-Aspartat in den ventralen Hippocampus (Legault & Wise 1999) zeigen, dass die Dopamin-Freisetzung im NAcc durch eine VTA-Aktivierung erhöht wird. Ähnliche Experimente haben gezeigt, dass die Stimulation des Subiculus ausreicht, um die Freisetzung von Dopamin auszulösen. Insbesondere die elektrische Stimulation des Subiculus mit tetanischer Stimulation (Blaha et al. 1997), NMDA-Applikationen (Floresco, Todd, et al. 2001; Floresco et al. 2003), oder die reduzierte Hemmung (Floresco et al. 2003) führte letztendlich zur Aktivierung des VTA. Das Subiculum scheint für diesen NMDA-Rezeptor-abhängigen Weg der Aktivierung von entscheidender Bedeutung zu sein. Bereits Legault und Wise (2001) zeigten in Verhaltensversuchen mit Ratten, dass die Dopamin-Freisetzung im NAcc durch eine VTA-Aktivierung reduziert wurde, wenn das Subiculum durch das Nervengift Tetrodotoxin (TTX) inhibiert wurde (Legault & Wise 2001b).

Der Vergleich zwischen den BOLD-Aktivitäten in der mPFC/ACi Region der beiden Stimulationsparadigmen, also diskontinuierliche Stimulationsphasen mit hoher Stimulationsintensität und kontinuierlicher Stimulation bei niedriger Intensität, zeigte eine sofortige Aktivierung des mPFC/ACi innerhalb der ersten diskontinuierlichen Stimulationsphase, die unabhängig von der NMDA-Rezeptor-abhängigen Signalverarbeitung im Hippocampus ist. Das könnte Hinweis dafür sein, dass es unter diesen Bedingungen zu einer direkten BOLD-Aktivierung des mPFC/ACi allein durch hippocampale Projektionen kommt (Abbildung 5.1). Eine solche Interpretation der Daten würde der Hypothese von physiologischen und biochemischen Untersuchungen entsprechen, die zeigten, dass Neurone im Hippocampus einen monosynaptischen exzitatorischen Einfluss auf Pyramidenneurone im PFC haben (Walaas & Fonnum 1979; Laroche et al. 1990; Zaczek et al. 1979), der durch Aminosäure Glutamat als Neurotransmitter vermittelt wird (Jay et al. 1992). Ähnlich direkte monosynaptische Verbindungen wurden auch zwischen Hippocampus und dem mPFC bei der Katze beschrieben (Cavada & Reinoso-Suárez 1983) und sind im Einklang mit Studien an Ratten (Jay et al. 1989) und am Affen (Goldman-Rakic et al.



1984) . Dieser Hypothese folgend würde sich die Glutamat-Freisetzung indirekt in der BOLD-Antwort durch die Bindung an Astrozyten und Neurone im mPFC widerspiegeln (Haydon & Carmignoto 2006; Farr & David 2011).

Die Tatsache, dass mehrere kontinuierliche Stimulationsphasen für die Aktivierung subcorticaler und corticaler Strukturen (d.h. VTA/Sn, NAcc , mPFC, BLA) nötig waren, weist jedoch darauf hin, dass ein komplexer Aktivierungsprozess anstatt einer einfachen Signalausbreitung durch die Hippocampus-Formation erforderlich ist. Obwohl die lokalen BOLD-Signalintensitätsänderungen nicht die Qualität und Quantität der neuronalen Verarbeitung beschreiben können, sind die gefundenen Differenzen in der HRFs in der VTA/Sn-Region, im mPFC/ACi und im NAcc erste Hinweise dafür, dass während einer Stimulationsphase eine zeitabhängige Modifikation neuronaler Aktivierung der Regionen eintreten könnte. Vorstellbar ist, dass der BOLD-Aktivierung in der VTA/Sn-Region und in der mPFC/ACi-Region eine polysynaptische Verarbeitung durch den Nucleus accumbens und angebundene Struktureinheiten vorhergeht. Eine wesentliche Voraussetzung dafür ist allerdings eine NMDAR-abhängige hippocampale Signalverarbeitung und resultierende Propagierung durch den Hippocampus während der ersten zwei Stimulationsphasen. Dabei wird in einer solchen Weise reorganisiert, dass nachfolgende Stimulationen durch den Hippocampus effizienter propagiert werden. Wie bereits oben beschrieben, zeigten die aufgezeichneten elektrophysiologischen Antworten eine Änderung der PS Amplitude und der PS Latenz nach der ersten Stimulationsphasen, die zur NMDA-Rezeptor abhängigen Weiterleitung beitragen.

Eine solche stimulus-abhängige Aktivierung dopaminergischer Neurone konnte durch Anwendung eines Glutamat-Rezeptor-Antagonisten in den NAcc blockiert werden (Floresco, Todd, et al. 2001). Da der NAcc eine Hauptziel-Struktur von exzitatorischen Eingängen des Subiculus ist, legen diese Ergebnisse nahe, dass die glutamaterge Aktivierung des NAcc während der kontinuierlichen Stimulationsphasen nötig war, um Informationen aus dem Hippocampus der VTA/Sn-Region zuzuleiten. In der Literatur wird das ventrale Pallidum (VP) als wichtige funktionelle Schnittstelle zwischen NAcc und VTA/Sn beschrieben (Van Bockstaele & Pickel 1995; Kalivas & Duffy 1997; Lisman & Grace 2005; Johnson & North 1992), welches durch starke GABAerge Fasern des NAcc innerviert wird. Das VP besteht laut vorliegenden Studien hauptsächlich aus schnell feuernenden

GABAergen Neuronen, die die dopaminergen Neurone der VTA tonisch innervieren (Chrobak & Napier 1993). So können Subpopulationen von dopaminergen Neuronen im Bereich der VTA/Sn in einem konstanten hyperpolarisiertem Stadium gehalten werden (Floresco et al. 2003; Lodge & Grace 2006; Grace et al. 2007). Ein inaktiver Zustand oder eine Inhibierung dieser Struktur ermöglicht es Dopamin-Neuronen spontan zu feuern. Floresco und Kollegen (2003) konnten so durch eine Infusion eines GABA<sub>A/B</sub>-Agonisten in das VP beweisen, dass die Anzahl der aktiven dopaminergen Neurone der VTA dem Zustand einer subicularen Stimulation gleichzusetzen ist (Floresco et al. 2003).

Zusammengenommen weisen diese Ergebnisse und die Resultate der vorliegenden Arbeit auf den folgenden polysynaptischen Verarbeitungsweg hin: das Subiculum aktiviert über exzitatorische glutamaterge Projektionen den Nucleus accumbens, dieser wiederum hemmt das ventrale Pallidum und unterbindet somit die dopaminergen Neurone der VTA/Sn-Region aus dessen tonisch hemmenden Einfluss (Abbildung 5.2). Diese Neuronen der VTA/Sn projizieren wiederum in den NAcc, so können sowohl hippocampale glutamaterge und dopaminerge Neurone der VTA gleichzeitig Einfluss auf den NAcc haben (Sesack & Pickel 1990a; Sesack et al. 2003; Sesack & Grace 2010). Die beobachtete Freisetzung von Dopamin durch die FSCV und die BOLD-Antwort in der VTA und NAcc entsprechen diesem polysynaptischen Verarbeitungsweg. Solche komplexen polysynaptischen Verarbeitungswege sind dafür bekannt, bei der Neubildung und des Wiederabrufens von gespeicherten Gedächtnisinhalten wichtig zu sein (Grace et al. 2007; Lodge & Grace 2006).

### *5.2.3 Die dopaminerge Modulation der BOLD-Antwort*

Dopamin gilt weitestgehend als modulatorisches System (Seamans & Yang 2004; Brady & O'Donnell 2004; Goto & A. a Grace 2005), sodass naheliegt, dass eine Aktivierung des dopaminergen Systems entweder die Aktivität der Hippocampus Formation oder die durch den Hippocampus induzierte Aktivität beeinflusst.

Eine Blockade der D<sub>1/5</sub>-Rezeptoren durch den selektiven Antagonisten SCH23390 führte zu geringen, aber signifikanten Abweichungen der maximalen BOLD-Antwort im NAcc/Sn und der VTA/Sn-Region, was die Annahme zulässt, dass die

dopaminerge Aktivität nicht essenziell für die Vermittlung der BOLD-Antwort des NAcc ist, obwohl dopaminerge Projektionen durch die Stimulationen aktiviert wurden. Die stark reduzierte BOLD-Aktivierung der mPFC/ACi-Region und der basolateralen Amygdala scheint jedoch eine Folge des  $D_{1/5}$ -Rezeptor-Antagonisten zu sein. Es sprechen zahlreiche elektrophysiologische Nachweise dafür, dass diese Stimulus-induzierte Freisetzung von Dopamin Lern- und Gedächtnisprozesse verbessert, wie es zum Beispiel bei der Verstärkung der LTP beobachtet wurde (Lemon & Manahan-Vaughan 2006; Otmakhova & Lisman 1996; Hamilton et al. 2010; Schott et al. 2004; Frey & Morris 1998; Frey & Frey 2008). Kann die Freisetzung von Dopamin also das BOLD-Signal mPFC und BLA erhöhen, und wenn ja, wie? Einige Tier- und Human-Studien geben zunächst den Anschein, dass die Effekte des Dopamins sich direkt in der BOLD-Antwort widerspiegelt (Breiter et al. 1997; Völlm et al. 2004; Knutson & Gibbs 2007; O'Doherty 2004; Chen et al. 1997). Der beobachtete Einfluss wurde zum Beispiel in einer PET-Läsionsstudie an Dopamin-Neuronen des Striatums der Ratte untersucht (Chen et al. 1997). Sie maßen die regionale Selektivität von zwei verschiedenen dopaminergen Liganden: zum einen die Dopamin-freisetzende Verbindung von D-Amphetamin, zum anderen den Dopamin-Transporter-Antagonist CFT (2-Beta-Carbomethoxy-3-beta-(4-fluorophenyl)-tropan). Beide Verbindungen führten zu einer erhöhten Signalintensität in Gradienten-Echo-Bildern der phMRT in Hirnregionen mit hoher Dopamin-Rezeptor-Dichte (zum Beispiel dem frontalen Cortex, das Striatum, das Cingulum). Tiere mit herbeigeführten, einseitigen Läsionen dopaminerger Neurone durch 6-Hydroxydopamin führten zur Ablation der phMRT-Antwort auf der ipsilateralen Seite der Läsion. Der zeitliche Verlauf der BOLD-Signalintensitätsänderung korrelierte mit den Veränderungen der Dopamin-Freisetzung der Mikrodialyse Messungen im Striatum, die sowohl durch Amphetamin und CFT festgestellt wurden.

Auch wenn die vorliegenden fMRT-Studien zeigten, dass sich die BOLD-Antwort in subcorticalen und corticalen Strukturen unter Einfluss von der Dopamin-Rezeptor-Blockade ändern kann, gibt es keine klaren Hinweise, wie und wo sich der Effekt auf die polysynaptische Verarbeitung auswirkt. Die dopaminergen Effekte sind komplex und können sowohl direkt auf die  $D_{1/5}$ -Rezeptoren und über astrozytische  $D_3$ -Rezeptoren des Mikrogefäßsystem ihre Wirkung entfalten, als auch indirekt auf zusätzliche neuronale Mechanismen agieren (Chen et al. 1997; Choi et al. 2006; Schwarz et al. 2007; Schwarz et al. 2004).

Dies wird durch Resultate einer aktuellen Studie bestätigt. Dabei konnten Unterschiede im Aktivierungsmuster durch elektrische oder optogenetische VTA/Sn-Stimulation nachgewiesen werden. Eine optogenetische Stimulation dopaminergener Neurone in der VTA/Sn-Region induzierte keine der beobachteten BOLD-Aktivierungen, obwohl eine Freisetzung einer relativ hohen Konzentration von Dopamin im NAcc mittels FSCV festgestellt werden konnte. Auf der anderen Seite werden durch elektrische Stimulation der VTA/Sn-Region hervorgerufene BOLD-Aktivierungen nicht durch Dopamin-Rezeptor-Antagonisten gehemmt, obwohl eine Dopamin-Freisetzung im NAcc festgestellt wurde (Helbing, submitted). Eine Schlussfolgerung daraus wäre, dass Dopamin nicht der verantwortliche Neurotransmitter für das Generieren von signifikanten BOLD-Antworten während der Stimulation der VTA/Sn-Region ist. Dies führt allerdings auch zu der Frage, welches Neurotransmittersystem liegt dem zugrunde? Hierbei muss allerdings auch bedacht werden, dass die direkte elektrische Stimulation der VTA/Sn eine komplexere Aktivierung hemmender und erregender neuronaler Kreisläufe auslöst und unterschiedlich auf Zellkörper und Fasern wirkt. Die VTA enthält neben dopaminergen Neuronen eine Reihe von GABAergen (Bockstaele & Pickel 1995; Carr & Sesack 2000; Fields et al. 2007) und glutamatergen Neuronen (Yamaguchi et al. 2007; Hnasko et al. 2012). Es ist daher möglich, dass nicht die dopaminergen Neurone, sondern insbesondere glutamaterge Neurone der VTA/Sn-Region die neurovaskuläre Kopplung kontrollieren. Dies erscheint plausibel, da MK801 die BOLD-Antwort im mPFC und NAcc während elektrischer Stimulation der VTA hemmt (Helbing, submitted).

Das bedeutet, dass bisherige fMRT-Untersuchungen, auch wenn sie eine BOLD-Aktivierung in der VTA/Sn-Region zeigten, nicht eindeutig eine Aktivierung des dopaminergen Systems belegen können. Allerdings schließt das nicht aus, dass eine zeitlich abgestimmte Co-Freisetzung von Dopamin das Zusammenspiel zwischen den einzelnen glutamatergen Eingängen derart optimiert, dass die resultierende lokale neuronale Signalverarbeitung schließlich zur BOLD-Signalintensitätsänderung führt, und somit das BOLD-Signal Dopamin-abhängig ist.

Dies wird zudem durch frühere fMRT-Studien unterstützt, die zeigten, dass eine diskontinuierliche Stimulation des TP bei 100 Hz mit 20 Pulsen eine BOLD-Antwort

im mPFC/ACi generierte, die sich dann deutlich erhöhte, wenn die MFB-Fasern gleichzeitig elektrisch stimuliert wurden (Krautwald et al. 2013). Auch in dieser Studie konnte eine Dopamin-Freisetzung in den Zielregionen des Hippocampus durch die FSC Voltammetrie nachgewiesen werden. Zwar wurden solche Veränderungen der extrazellulären Dopamin-Konzentrationen unter Verwendung der *in vivo* Voltammetrie-Untersuchungen am häufigsten durch die elektrische Stimulation des MFB beschrieben (Kuhr & Wightman 1986; Millar et al. 1985; Kuhr et al. 1987; Wightman et al. 1988; Garris et al. 1994; Robinson et al. 2003), allerdings besteht dieses lateral-hypothalamische Faserbündel aus bis zu 50 sowohl dopaminergen, GABAergen, glutamatergen, noradrenergen und serotonergen Faserbahnen (Nieuwenhuys et al. 1982), welche mehrere Strukturen innerviert. Das bedeutet, dass der additive Effekt der elektrischen MFB-Stimulation auf BOLD-Signalintensitäten im mPFC durch verschiedene Transmittersysteme vermittelt werden kann.

Eine optische Stimulation der dopaminergen VTA/Sn-Neurone zeigt nun, dass der additive Effekt auf die BOLD-Antwort im mPFC nicht durch dopaminerge Rezeptoren vermittelt werden.

Die vorliegenden Resultate dieser Arbeit deuten darauf hin, dass DAerge Eingänge unter speziellen Bedingungen die Ausprägung einer BOLD-Antwort beeinflussen können. Zum einen waren die BOLD-Antworten im mPFC/ACi nur dann von der Aktivität der Dopamin-Rezeptoren abhängig, wenn das Stimulationsparadigma gleichzeitig eine Aktivierung des Hippocampus und des VTA/Sn-Komplexes induzierte (also durch kontinuierliche hochfrequente Stimulation). Zum anderen konnte eine BOLD-Signalintensitätsänderungen im mPFC/ACi nicht durch eine pharmakologisch Dopamin-Rezeptor-Aktivierung induziert werden, wenn der *Tractus perforans* durch diskontinuierliche hochfrequente Stimulationsphasen mit vergleichbar niedriger Pulsintensität stimuliert wurde. Folglich führt eine pharmakologisch-induzierte direkte Aktivierung von Dopamin-Rezeptoren im mPFC/ACi nicht zu lokalen neuronalen Aktivierungsänderungen, die durch die fMRT nachweisbar sind, da kontinuierliche und diskontinuierliche TP-Stimulation zu unterschiedlichen Aktivierungsmustern im HC und damit zur unterschiedlichen Erregungsweiterleitung in die mPFC/ACi-Region führen. Dies deutet darauf hin, dass DA bei bestimmten neuronalen Aktivierungsmustern einen Effekt auf die resultierende BOLD-Antwort besitzt, d.h. der Einfluss des dopaminergen

Transmittersystems auf die Generierung einer BOLD-Antwort ist kontext-abhängig. Zukünftige Untersuchungen müssten nun klären, inwieweit DA-Agonisten oder optogenetische Co-Aktivierung DAerger Neurone die BOLD-Antwort während der kontinuierlichen Stimulation beeinflussen.

Anatomische und elektrophysiologische Studien zeigten, dass der HC und der mPFC/ACi reziproke Wechselbeziehungen besitzen. Die exzitatorischen Afferenzen des HC zum mPFC innervieren hauptsächlich die Pyramidenzellen und die Interneurone der tieferen Schichten V und VI (Jay & Witter 1991; Sesack & Pickel 1990b). Umgekehrt bestehen vom mPFC/ACi über den temporalen Cortex indirekte Afferenzen zum HC (Fuster 1997). Kyd und Bilkey (2003) demonstrierten, dass Läsionen im mPFC Änderungen der neuronalen Aktivität in den hippocampalen Platz-Zellen im Zusammenhang mit räumlicher Lokalisierung verursachen (Kyd & Bilkey 2003). Eine Unterbindung der Dopamin-modulierten HC-Afferenzen zum mPFC/ACi beeinträchtigt die Funktion des Arbeitsgedächtnisses (Seamans et al. 1998). Auch die Induktion der synaptischen Plastizität (LTP) über hippocampale Afferenzen im mPFC/ACi wird beispielsweise durch die Aktivierung der D<sub>1</sub>-Rezeptoren und ihren Interaktionen mit NMDA-Rezeptoren kontrolliert (Gurden & Takita 2000). Wirkner et al. (2004) konnten demonstrieren, dass Dopamin über D<sub>1</sub>-Rezeptoren die exzitatorischen Einflüsse des Glutamat in der Schicht V der Pyramidenzellen des PFC auf die NMDA-Rezeptoren erhöhen, damit verlängern sie die Zeit der geöffneten NMDA-Kanäle und können damit die Stärke des Kalziumsignals vergrößern (Wirkner et al. 2004). Diese Studien würden die Vermutung stützen, dass die Aktivität im mPFC/ACi nicht nur durch Innervation einer Struktur begünstigt wird. Die bidirektionalen Interaktionen zwischen dem mPFC/ACi und dem HC scheinen also essentiell für die Fähigkeit zu sein, Gedächtnisprozesse optimal aufeinander abzustimmen (Goto & A. a. Grace 2005; Goto & Grace 2008).

Neben der mPFC/ACi-Region und dem NAcc wurde die BOLD-Antwort während kontinuierlicher Stimulation in einer weiteren Region des limbischen Systems durch den selektiven D<sub>1/5</sub>-Rezeptoran-Antagonisten SCH23390 reduziert, die basolaterale Amygdala (BLA). Die BLA wird zum einen durch dopaminerge Axone der VTA/Sn innerviert, enthält gleichzeitig sowohl glutamaterge Hauptneurone und wird zudem auch durch extrinsische glutamaterge Afferenzen, wie zum Beispiel aus dem HC

angeregt, welche durch Dopamin moduliert werden können (Asan 1997). Elektrophysiologische Untersuchungen lassen vermuten, dass die Aktivierung von Neuronen in der BLA durch den mPFC durch dopaminerge Neurone reguliert wird (Rosenkranz & Grace 2002). Sesack und Carr (2003) führten Untersuchungen zur Hypothese, ob die in der Amygdala terminierenden Afferenzen des mPFC/ACi auch konvergente synaptische Signale von Dopamin-Nervenenden empfangen, durch (Sesack et al. 2003). Solch ein System funktioneller Wechselwirkungen zwischen Dopamin und Glutamat des mPFC lässt vermuten, dass in erster Linie extrasynaptische Mechanismen in der Amygdala einbezogen werden (Pinto & Sesack 2003).

Diese Triade von Elementen: die Glutamat-Synapse, die Dopamin-Synapse und die dendritischen Dornen, bilden das Potential für Dopamin diskret auf spezifische Quellen der Glutamat-Übertragung dendritischer Kompartimente einzuwirken, anstatt den allgemeineren Effekt auf die Gesamtzellerregbarkeit zu modulieren. Diese strukturelle Konfiguration ermöglicht auch präsynaptische Wechselwirkungen zwischen Dopamin und Glutamat durch den begrenzten Diffusionsabstand, der für jeden Neurotransmitter nötig ist, um extrasynaptische Rezeptoren auf der Nervenendigung zu erreichen (Moss & Bolam 2008; Yao et al. 2008).

Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass unter Bedingungen mit komplexen afferenten Eingängen, etwa aus verschiedenen Regionen, das dopaminerge System die lokale Signalverarbeitung in einer Weise steuern kann, dass es auch anhand des BOLD-Kontrasts der fMRT nachweisbar wird. Aus den in dieser Arbeit vorgenommenen pharmakologischen Untersuchungen lässt sich schlussfolgern, dass glutamaterge Neurone erforderlich sind, da NMDA-Rezeptor-Antagonisierung die Wirkung auf BOLD-Signalintensitäten subcorticaler und corticaler Regionen deutlich reduzierte.

Dopamin kann sowohl kurzzeitige als auch langanhaltende Veränderungen der synaptischen Plastizität im mPFC und NAcc modulieren (Gurden & Takita 2000; Otani 2003). Ein Großteil dieser Modulation wird durch die cAMP/PKA-Signalkaskade vermittelt, welche zur Rezeptor-Phosphorylierung, einer Hemmung der Rezeptor-Dephosphorylierung, einer Rezeptor-Gen-Transkription und Proteinsynthese führt (Greengard 2001; Seamans & Yang 2004). Diese

intrazellulären Prozesse können der andauernden, Proteinsynthese-abhängigen Aufrechterhaltung der synaptischen Plastizität zugrunde liegen (Huang et al. 1995; Huang & Kandel 1995; Smith & Otis 2005).

Die bisher gezeigten Effekte von Dopamin wurden nur unter dem Aspekt der kurzzeitigen, akuten Veränderungen der neuronalen Signalverarbeitung und der daraus resultierenden BOLD Antwort untersucht. Allerdings weisen sowohl elektrophysiologische (Lisman & Grace 2005; Carroll & Morris 2004; Lemon & Manahan-Vaughan 2006) als auch (elektrochemisch bzw. fMRT-kombinierte) Verhaltensstudien auch auf langanhaltende Veränderung neuronaler Netzwerke durch Dopamin hin, welche zu plastischen Veränderungen innerhalb des Hippocampus (Li et al. 2003; Gribkoff & Ashe 1984; Gurden & Takita 2000; Lemon & Manahan-Vaughan 2006; Huang et al. 1995; Huang & Kandel 1995) als auch in den corticalen Zielregion (Thomas & Malenka 2003; Robinson et al. 1988; Chen et al. 2004; Seamans & Yang 2004) führen können. Eine solch langanhaltende Veränderung der synaptischen Effizienz des neuronalen Netzwerks einer oder mehrerer Strukturen durch Dopamin kann auch Auswirkungen auf die Aktivierung globaler Netzwerke haben. Sowohl die Stimulus-induzierte Freisetzung von Dopamin durch die optische oder elektrische Stimulation der VTA/Sn als auch die pharmakologische Modifikation der Dopamin-Rezeptoren durch verschiedene Agonisten könnten demzufolge auch Relevanz für langfristige Untersuchungen mit bildgebenden fMRT-Verfahren haben.



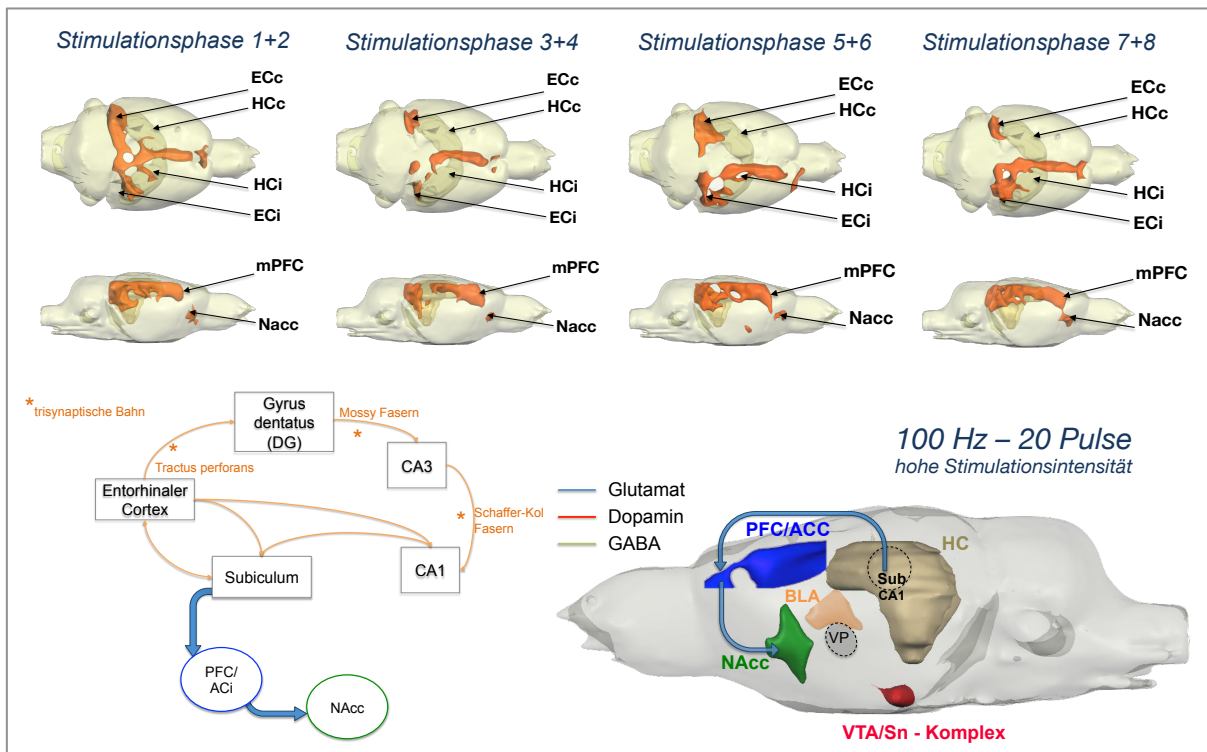


Abbildung 5.1 | Zusammenfassung der NMDA-Rezeptor-unabhängigen Signalverarbeitung diskontinuierlicher Stimulationen des *Tractus perforans*.

(Oben) Die exzitatorische Erregungsweiterleitung eingehender Stimulationen führt bereits in den ersten Stimulationsphasen zur BOLD-Aktivierung im medialen präfrontalen Cortex (mPFC/ACi) und im Nucleus accumbens (NAcc). (B) Diese sofortige Aktivierung subcorticaler Regionen lässt folgenden Verarbeitungsweg vermuten: erhöhte neuronale Aktivität löst eine schnelle Erregungsweiterleitung durch die Subareale des Hippocampus (über die trisynaptische Bahn oder eine direkte Aktivierung der CA1 durch den TP) zum Subiculum aus. Glutamaterge Efferenzen vom Subiculum projizieren zum mPFC und induzieren dort eine Erregungsweiterleitung über efferente Faserbahnen zum Nucleus accumbens .

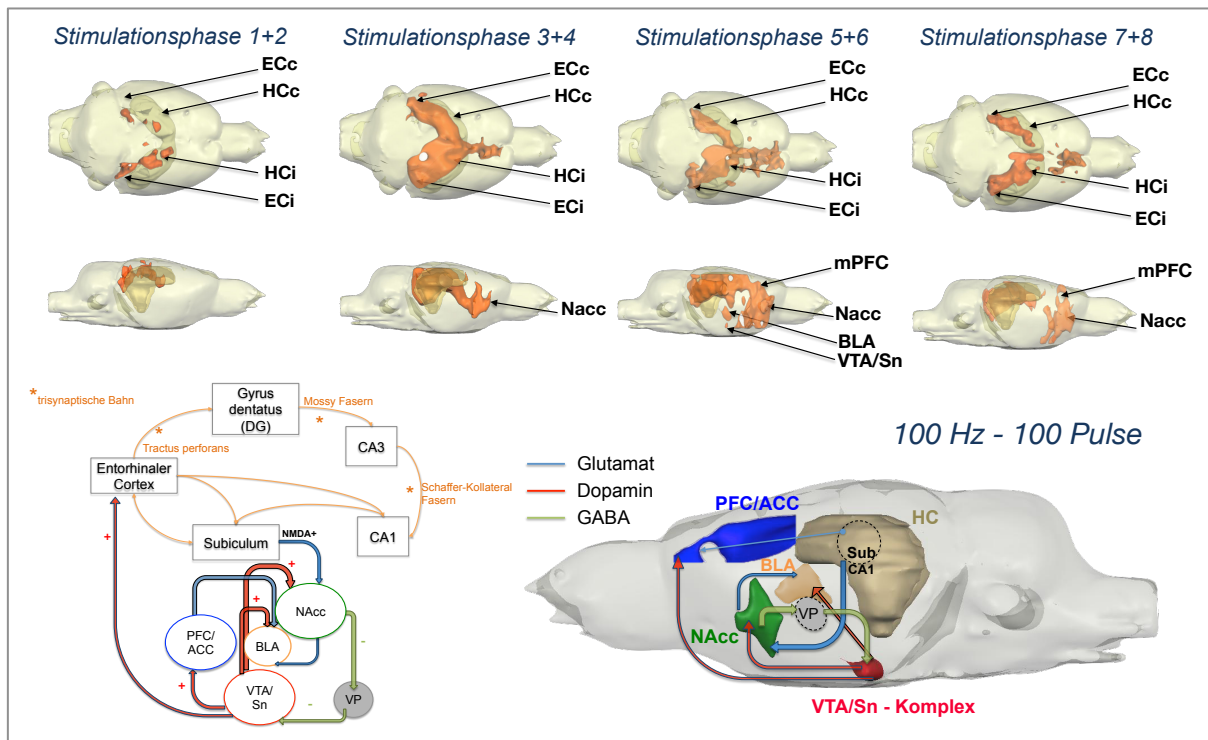


Abbildung 5.2 | Zusammenfassung der NMDA-Rezeptor-abhängigen Signalverarbeitung kontinuierlicher Stimulationen des *Tractus perforans*

(Oben) Eingehende Signale des *Tractus perforans* werden zunächst im Hippocampus lokal verarbeitet und führen so zur BOLD-Aktivierung der hippocampalen Formation (Stimulationsphase 1 und 2). Alle folgenden Stimulationen werden so prozessiert, dass die eingehende Aktivität zu subcorticalen und corticalen Regionen projiziert wird. Dadurch werden in folgenden Stimulationsphasen BOLD-Aktivierung des Nucleus accumbens (NAcc), der ventralen Tegmentum-Substantia nigra pars compacta (VTA/Sn)-Region und des medialen präfrontalen Cortex (mPFC) generiert.

(Unten) Die schematische Übersicht stellt den oben beschriebenen polysynaptischen Verarbeitungsweg dar: Das Subiculum aktiviert über exzitatorische glutamaterge Projektionen den Nucleus accumbens (NAcc), dieser wiederum hemmt über GABAerge Afferenzen das ventrale Pallidum (VP). Durch die Inhibition des VP wird der tonisch-hemmende Einfluss auf die VTA/Sn-Region unterbunden. Die nun aktivierten Fasern der VTA/Sn projizieren über dopaminerge, glutamaterge und GABAerge Afferenzen in subcorticalen und corticalen Regionen und können so die BOLD-Antwort modulieren.

## 6 Ausblick

Die in dieser Studie dargestellte unterschiedliche Signalverarbeitung der hochfrequenten Stimulationsmuster verdeutlichte, dass der Hippocampus aktivitätsabhängig eingehende Signale an subcorticale und corticale Regionen propagiert. Es kann jedoch noch keine Aussage darüber getroffen werden, inwieweit das durch den *Tractus perforans* eingehende Stimulationsmuster quantitativ bzw. qualitativ durch die Sub-Strukturen CA3-CA1 zum Subiculum verarbeitet werden. Die bisherigen Untersuchungen konzentrierten sich auf den *Gyrus dentatus*. Um eine Aussage über die Aktivierung und Weiterverarbeitung subcorticaler und corticaler Regionen treffen zu können, sollte daher eine zentrale efferente Ausgangsstruktur des HC, wie zum Beispiel die Fasern des Fornix/Fimbria-Faserbündels oder des Subiculus, stimuliert werden. Elektrophysiologische Studien konnten so bereits die Aktivierung von monosynaptisch und polysynaptisch angebundenen Zielregionen nachweisen (Boeijinga et al. 1993; Yang & Mogenson 1984; Brudzynski & Gibson 1997; Blaha et al. 1997).

In dieser Arbeit wurde der kurzfristige Einfluss des durch Stimulus-induzierter oder pharmakologisch verabreichten Dopamins in Kombination mit elektrischer Stimulation des DG auf das BOLD-Signal untersucht. Inwieweit sich dieser Einfluss des Katecholamins auf wiederholte Messungen auswirkt, wurde bisher nur ansatzweise beschrieben. Ein Ansatzpunkt wäre daher, die Langzeitwirkungen von freigesetzten Dopamin oder Dopamin-Agonisten (z.B. SKF83959 und SKF38393) auf das resultierende BOLD-Signal zu untersuchen. Für Dopamin-Rezeptoren und deren Aktivierung durch Agonisten wurden bereits Langzeit-Effekte in Verhaltensrelevanten Studien als auch auf zellulärer Ebene nachgewiesen (Kähne et al. 2012; Schicknick et al. 2012; Schicknick et al. 2008; Reichenbach et al. 2015).

Bisher wurde die elektrische Stimulation separat in Kombination mit Voltammetrie- oder fMRT-Experimenten durchgeführt. Ein Vorteil für zukünftige Untersuchungen wäre eine simultane Ableitung von elektrophysiologischer, elektrochemischer und hämodynamischer Antwort innerhalb eines Experiments und an einem Versuchstier. Dies würde nicht nur die *in vivo*-Untersuchung unter identischen Narkose-Zuständen des Versuchstiers ermöglichen, sondern ließe auch Mehrfach-Messungen zu, die unter den in der Arbeit beschriebenen akuten experimentellen Voraussetzungen nicht möglich waren. Dafür müssten einige experimentelle Parameter angepasst

werden, zum Beispiel das Synchronisieren der Voltammetrie-, der Stimulations- und der MRT-Frequenz. Zudem haben die für fMRT verwendeten Wolfram-Stimulationselektroden für die elektrochemischen Messungen ein schlechtes „Signal-zu-Rausch“-Verhältnis, sodass geringe Konzentrationen vom freigesetzten Transmitter nur schwer messbar wären. Daher sollte ein Kompromiss zwischen den Wolfram-Stimulationselektroden und den in den voltammetrischen Messungen verwendeten (und nicht-MRT kompatiblen) Stahlelektroden gefunden werden.

Ein zusätzlicher Vorteil wäre, die Weiterentwicklung der optogenetischen Stimulations- und fMRT-kombinierten Untersuchungen. Zukünftig könnte durch einen entsprechend ausgewählten Vektor zum einen gezielt dopaminerge, glutamaterge und GABAerge Neurone durch aktiviert oder inhibiert werden, zum anderen bietet die optische Stimulation nahezu optimale Bedingungen für die FSCV, sodass die Freisetzung von geringsten Dopamin-Konzentrationen aufgezeichnet werden kann, da der Lichtleiter im Gegensatz zur elektrischen Stimulationselektrode kein Hintergrundrauschen verursacht.

## 7 Abkürzungsverzeichnis

AA	Arachidonsäure
ACi	anteriores Cingulum
AMPA	$\alpha$ -Amino-3-hydro-5-methyl-4-isoazol-propionsäure
AP	anterior-posterior
AP5	D-2-amino-5-phosponovaleriansäure
ATP	Adenosintriphosphat
BLA	basolaterale Amygdala
BOLD	<i>blood oxygenation level dependent</i>
CA1	Cornu ammonis 1
CA3	Cornu ammonis 3
CBF	cerebraler Blutfluss
CBV	cerebrales Blutvolumen
COX	Cyclooxygenase
DA	Dopamin
DG	Gyrus dentatus
3d	3-dimensional
DV	dorsoventral
EC	entorhinaler Cortex
ECc	contralateraler entorhinaler Cortex
ECi	ipsilateraler entorhinaler Cortex
EPSP	exzitatorisches postsynaptisches Potential
fEPSP	Feld-exzitatorisches postsynaptisches Potential
fMRT	funktionelle Magnetresonanztomographie
FSCV	<i>fast scan cyclic voltammetry</i> – zyklische Voltammetrie

---

FOV	<i>field of view</i>
FWHM	<i>full width half maximum</i>
GABA	$\gamma$ -Aminobuttersäure
HC	Hippocampus
HCc	contralateraler Hippocampus
HCi	ipsilateraler Hippocampus
HPLC	<i>high performance liquid chromatography</i>
HRF	<i>hemodynamic response function</i>
iGluR	ionotroper Glutamat-Rezeptor
i.p.	intraperitoneal
IPSP	inhibitorisches postsynaptisches Potential
LFP	lokales Feldpotential
LTD	<i>long-term depression</i> - Langzeitdepression
LTP	<i>long-term potentiation</i> – Langzeitpotenzierung
r	PEARSON Korrelationskoeffizient
ROI	<i>region of interest</i>
mGluR	metabotroper Glutamat-Rezeptor
MK801	Dizocilpin
ML	medio-lateral
mPFC	medialer präfrontaler Cortex
NAcc	Nucleus accumbens
NMDA	N-Methyl-D-aspartat
NMDAR	N-Methyl-D-aspartat-Rezeptor
NO	Stickoxid
NOS	Stickoxid Synthase
NPY	Neuropeptid Y

---

p	Überschreitungswahrscheinlichkeit
PET	Positronenemissionstomographie
PFC	präfrontaler <i>Cortex</i>
PLA2	Phospholipase 2
PSA	<i>population spike amplitude</i> – Summenaktionspotenzial-Amplitude
PSL	<i>population spike latency</i> – Summenaktionspotenzial-Latenz
Sn	Substantia nigra pars compacta
SOM	Somatostatin
Sub	Subiculum
TE	<i>echo time</i> - Echozeit
TP	Tractus perforans
TR	<i>repetition time</i> - Repetitionszeit
T1	longitudinale Relaxationszeit
T2	transversale Relaxationszeit
T2*	transversale Relaxationszeit aufgrund von Inhomogenitäten des statistischen Magnetfelds
VIP	vasoaktives intestinales Peptid
VTA	ventrales Tegmentum

## 8 Literaturverzeichnis

- Abel, T. et al., 1997. Genetic demonstration of a role for PKA in the late phase of LTP and in hippocampus-based long-term memory. *Cell*, 88(5), pp.615–626.
- Abercrombie, E.D., Keller, R.W. & Zigmond, M.J., 1988. Characterization of hippocampal norepinephrine release as measured by microdialysis perfusion: pharmacological and behavioral studies. *Neuroscience*, 27(3), pp.897–904.
- Abounader, R. & Hamel, E., 1997. Associations between neuropeptide Y nerve terminals and intraparenchymal microvessels in rat and human cerebral cortex. *Journal of Comparative Neurology*, 388(3), pp.444–453.
- Abraham, W.C. & Mason, S.E., 1988. Effects of the NMDA receptor/channel antagonists CPP and MK801 on hippocampal field potentials and long-term potentiation in anesthetized rats. *Brain research*, 462, pp.40–46.
- Abraham, W.C. & McNaughton, N., 1984. Differences in Synaptic Transmission Between Medial and Lateral Components of the Perforant Path. *Brain research*, 303, pp.251–260.
- Aggleton, J.P., Hunt, P.R. & Rawlins, J.N., 1986. The effects of hippocampal lesions upon spatial and non-spatial tests of working memory. *Behavioural brain research*, 19(2), pp.133–146.
- Alger, B.E. & Nicoll, R.A., 1982. Pharmacological evidence for two kinds of GABA receptor on rat hippocampal pyramidal cells studied in vitro. *Journal of Physiology*, 328, pp.125–141.
- Alger, B.E. & Teyler, T.J., 1976. Long-term and short-term plasticity in the CA1, CA3, and dentate regions of the rat hippocampal slice. *Brain Research*, 110(3), pp.463–480.



- Alle, H., Jonas, P. & Geiger, J.R., 2001. PTP and LTP at a hippocampal mossy fiber-interneuron synapse. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98(25), pp.14708–14713.
- Amaral, D.G., 1993. Emerging principles of intrinsic hippocampal organization. *Current opinion in neurobiology*, 3, pp.225–229.
- Amaral, D.G. & Kurz, J., 1985. An analysis of the origins of the cholinergic and noncholinergic septal projections to the hippocampal formation of the rat. *The Journal of comparative neurology*, 240(1), pp.37–59.
- Amaral, D.G. & Witter, M.P., 1989. The three-dimensional organization of the hippocampal formation: a review of anatomical data. *Neuroscience*, 31(3), pp.571–591.
- Amenta, F. et al., 1998. Astrocyte changes in aging cerebral cortex and hippocampus: A quantitative immunohistochemical study. *Microscopy Research and Technique*, 43(1), pp.29–33.
- Anderson, P., Eccles, J.C. & Loyning, Y., 1963. Recurrent Inhibition in the Hippocampus with Identification of the Inhibitory Cell and its Synapses. *Nature*, 198, pp.540–542.
- Angenstein, F. et al., 2007. Frequency-dependent activation pattern in the rat hippocampus, a simultaneous electrophysiological and fMRI study. *NeuroImage*, 38(1), pp.150–63.
- Angenstein, F. et al., 2013. Perforant pathway stimulation as a conditioned stimulus for active avoidance learning triggers BOLD responses in various target regions of the hippocampus: A combined fMRI and electrophysiological study. *NeuroImage*, 75, pp.221–235.
- Angenstein, F., 2014. The Actual Intrinsic Excitability of Granular Cells Determines the Ruling Neurovascular Coupling Mechanism in the Rat Dentate Gyrus. *Journal of Neuroscience*, 34(25), pp.8529–8545.

- Angenstein, F., Krautwald, K. & Scheich, H., 2010. The current functional state of local neuronal circuits controls the magnitude of a BOLD response to incoming stimuli. *NeuroImage*, 50(4), pp.1364–75.
- Aoki, C. & Pickel, V.M., 1989. Neuropeptide Y in the cerebral cortex and the caudate-putamen nuclei: ultrastructural basis for interactions with GABAergic and non-GABAergic neurons. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 9(12), pp.4333–4354.
- Arthurs, O.J. & Boniface, S., 2002. How well do we understand the neural original of the fMRI BOLD signal? *Trends in Neurosciences*, 2236(1), pp.27–31.
- Artola, A. & Singer, W., 1987. Long-term potentiation and NMDA receptors in rat visula cortex. *Nature*, 329, pp.855–857.
- Ascher, P. & Nowak, L., 1988. Quisqualate- and kainate-activated channels in mouse central neurones in culture. *The Journal of physiology*, 399, pp.227–245.
- Asztély, F. & Gustafsson, B., 1996. Ionotropic glutamate receptors. Their possible role in the expression of hippocampal synaptic plasticity. *Molecular neurobiology*, 12(1), pp.1–11.
- Attwell, D. et al., 2010. Glial and neuronal control of brain blood flow. *Nature*, 468, pp.232–243.
- Attwell, D. & Iadecola, C., 2002. The neural basis of functional brain imaging signals. *Trends in neurosciences*, 25(12), pp.621–625.
- Attwell, D. & Laughlin, S.B., 2001. An energy budget for signaling in the grey matter of the brain. *Journal of cerebral blood flow and metabolism: official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 21, pp.1133–1145.
- Axmacher, N. et al., 2006. Memory formation by neuronal synchronization. *Brain Research Reviews*, 52(1), pp.170–182.
- Bartesaghi, R., Gessi, T. & Migliore, M., 1995. Input-output relations in the entorhinal-hippocampal-entorhinal loop: Entorhinal cortex and dentate gyrus. *Hippocampus*, 5, pp.440–451.

- Bartos, M. et al., 2001. Rapid signaling at inhibitory synapses in a dentate gyrus interneuron network. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 21(8), pp.2687–98.
- Bear, F. & Kirkwood, A., 1993. Neocortical long-term potentiation. *Current Opinion in Neurobiology*, 3, pp.197–202.
- Beckstead, R.M., Domesick, V.B. & Nauta, W.J.H., 1979. Efferent connections of the substantia nigra and ventral tegmental area in the rat. *Brain Research*, 175, pp.191–217.
- Behr, J. et al., 2000. Dopamine depresses excitatory synaptic transmission onto rat subicular neurons via presynaptic D1-like dopamine receptors. *Journal of neurophysiology*, 84, pp.112–119.
- Behr, J., Lyson, K.J. & Mody, I., 1998. Enhanced propagation of epileptiform activity through the kindled dentate gyrus. *Journal of neurophysiology*, 79, pp.1726–1732.
- Berendse, H.W., Galis-de Graaf, Y. & Groenewegen, H.J., 1992. Topographical organization and relationship with ventral striatal compartments of prefrontal corticostriatal projections in the rat. *The Journal of comparative neurology*, 316, pp.314–347.
- Bernado, L. & Prince, D., 1982. Dopamine action on hippocampal pyramidal cells. *Journal of Neuroscience*, 2(4), pp.415–423.
- Bertoglio, L.J., Joca, S.R.L. & Guimarães, F.S., 2006. Further evidence that anxiety and memory are regionally dissociated within the hippocampus. *Behavioural Brain Research*, 175(1), pp.183–188.
- Bethus, I., Tse, D. & Morris, R.G.M., 2010. Dopamine and memory: modulation of the persistence of memory for novel hippocampal NMDA receptor-dependent paired associates. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 30(5), pp.1610–1618.

- Birrell, J.M. & Brown, V.J., 2000. Medial frontal cortex mediates perceptual attentional set shifting in the rat. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 20(11), pp.4320–4324.
- Blackstad, T.W., 1956. Commissural connections of the hippocampal region in the rat, with special reference to their mode of termination. *Journal of Comparative Neurology*, 105(3), pp.417–537.
- Blaha, C.D. et al., 1997. Stimulation of the Ventral Subiculum of the Hippocampus Evokes Glutamate Receptor-mediated Changes in Dopamine Efflux in the Rat Nucleus Accumbens. *European Journal of Neuroscience*, 9, pp.902–911.
- Blanco, M., Stern, J.E. & Filosa, J.A., 2008. Tone-dependent vascular responses to astrocyte-derived signals. *American Physiological Society*, 294, pp.2855–2863.
- Bliss, T.V.P. & Collingridge, G.L., 1993. A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature*, 361, pp.31–39.
- Bliss, T.V.P. & Gardner-Medwin, A.R., 1973. Long-lasting potentiation of the synaptic transmission in the dentate area of the unanaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *Journal of Physiology*, 232, pp.357–374.
- 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. *Journal of Physiology*, 232, pp.331–356.
- Bloodgood, B.L. & Sabatini, B.L., 2008. Regulation of synaptic signalling by postsynaptic, non-glutamate receptor ion channels. *The Journal of physiology*, 586(6), pp.1475–1480.
- Bockstaele, E.J. Van & Pickel, V.M., 1995. GABA-containing neurons in the ventral tegmental area project to the nucleus accumbens in rat brain. *Brain research*, 682, pp.215–221.
- Van Bockstaele, E.J. & Pickel, V.M., 1995. GABA-containing neurons in the ventral tegmental area project to the nucleus accumbens in rat brain. *Brain Research*, 682(1-2), pp.215–221.

- Boeijinga, H. et al., 1993. Responses of the nucleus accumbens following fornix / fimbria stimulation in the rat: identification and long-term potentiation of mono- and polysynaptic pathways. *Neuroscience*, 53(4), pp.1049–1058.
- Bonvento, G., Sibson, N. & Pellerin, L., 2002. Does glutamate image your thoughts? *Trends in Neurosciences*, 25(7), pp.359–364.
- Bortolotto, Z.A. et al., 1994. A molecular switch activated by metabotropic glutamate receptors regulates induction of long-term potentiation. *Nature*, 368, pp.740–743.
- Bowery, N.G., Hudson, L. & Price, G.W., 1987. GABA A and GABA B receptor site distribution in the rat central nervous system. *Neuroscience*, 20(2), pp.365–383.
- Braak, E. & Braak, H., 1995. Staging of Alzheimer ' s Disease-Related Neurofibrillary Changes. *Neurobiology of Aging*, 16(3), pp.271–278.
- Brady, A.M. & O'Donnell, P., 2004. Dopaminergic modulation of prefrontal cortical input to nucleus accumbens neurons in vivo. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 24(5), pp.1040–1049.
- Brand-Schieber, E., Lowery, S.L. & Werner, P., 2004. Select ionotropic glutamate AMPA/kainate receptors are expressed at the astrocyte-vessel interface. *Brain Research*, 1007(1-2), pp.178–182.
- Breiter, H.C. et al., 1997. Acute effects of cocaine on human brain activity and emotion. *Neuron*, 19(3), pp.591–611.
- Brog, J.S. et al., 1993. The patterns of afferent innervation of the core and shell in the “accumbens” part of the rat ventral striatum: Immunohistochemical detection of retrogradely transported fluoro-gold. *Journal of Comparative Neurology*, 338, pp.255–278.
- Brudzynski, S.M. & Gibson, C.J., 1997. Release of dopamine in the nucleus accumbens caused by stimulation of the subiculum in freely moving rats. *Brain research bulletin*, 42(4), pp.303–8.

- Burwell, R.D., Witter, M.P. & Amaral, D.G., 1995. Perhinal and postrhinal cortices of the rat: a review of the neuroanatomical literature and comparison with findings from the monkey brain. *Hippocampus*, 5, pp.390–408.
- Busija, D.W. et al., 2008. Mechanisms involved in the cerebrovascular dilator effects of N-methyl-D-aspartate in cerebral cortex. *Brain Research*, 56(1), pp.89–100.
- Buzsáki, G., 2001. Hippocampal GABAergic interneurons: a physiological perspective. *Neurochemical research*, 26(8-9), pp.899–905.
- Buzsáki, G. & Draguhn, A., 2004. Neuronal oscillations in cortical networks. *Science (New York, N.Y.)*, 304(2004), pp.1926–1929.
- Buzsáki, G. & Eidelberg, E., 1982. Direct afferent excitation and long-term potentiation of hippocampal interneurons. *Journal of neurophysiology*, 48(3), pp.597–607.
- Calabresi, P. et al., 1992. Long-term synaptic depression in the striatum: physiological and pharmacological characterization. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 12(11), pp.4224–4233.
- Callaway, C.W., Hakan, R.L. & Henriksen, S.J., 1991. Distribution of amygdala input to the nucleus accumbens septi: an electrophysiological investigation. *Journal of Neural Transmission*, 83, pp.215–225.
- Cameron, D. & Williams, J.T., 1993. Dopamine D1 receptors facilitate transmitter release. *Nature*, 366, pp.344–347.
- Cameron, I.R. & Caronna, J., 1976. The effect of local changes in potassium and bicarbonate concentration on hypothalamic blood flow in the rabbit. *Journal of Phy*, 262, pp.415–430.
- Canals, S. et al., 2008a. Electric stimulation fMRI of the perforant pathway to the rat hippocampus. *Magnetic resonance imaging*, 26(7), pp.978–86.
- Canals, S. et al., 2008b. Electric stimulation fMRI of the perforant pathway to the rat hippocampus. *Magnetic resonance imaging*, 26(7), pp.978–86.

- Canals, S. et al., 2009. Functional MRI evidence for LTP-induced neural network reorganization. *Current biology : CB*, 19(5), pp.398–403.
- Cantrell, A.R. et al., 1997. Dopaminergic modulation of sodium current in hippocampal neurons via cAMP-dependent phosphorylation of specific sites in the sodium channel alpha subunit. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 17(19), pp.7330–7338.
- Cappaert, N.L.M., Wadman, W.J. & Witter, M.P., 2007. Spatiotemporal Analyses of Interactions Between Entorhinal and CA1 Projections to the Subiculum in Rat Brain Slices. *Hippocampus*, 921, pp.909–921.
- Carelli, R.M. & Wightman, R.M., 2004. Functional microcircuitry in the accumbens underlying drug addiction: Insights from real-time signaling during behavior. *Current Opinion in Neurobiology*, 14, pp.763–768.
- Carlén, M. et al., 2012. A critical role for NMDA receptors in parvalbumin interneurons for gamma rhythm induction and behavior. *Molecular Psychiatry*, 17, pp.537–548.
- Carmignoto, G. & Gómez-Gonzalo, M., 2010. The contribution of astrocyte signalling to neurovascular coupling. *Brain Research Reviews*, 63(1-2), pp.138–148. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.brainresrev.2009.11.007>.
- Carr, D. & Sesack, S., 2000. GABA-containing neurons in the rat ventral tegmental area project to the prefrontal cortex. *Synapse (New York, N.Y.)*, 38(September 1999), pp.114–123.
- Carr, D.B. et al., 1999. Dopamine terminals in the rat prefrontal cortex synapse on pyramidal cells that project to the nucleus accumbens. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 19(24), pp.11049–11060.
- Carr, D.B. & Sesack, S.R., 1996. Hippocampal afferents to the rat prefrontal cortex: synaptic targets and relation to dopamine terminals. *The Journal of comparative neurology*, 369, pp.1–15.

- Carr, D.B. & Sesack, S.R., 1996. Hippocampal afferents to the rat prefrontal cortex: Synaptic targets and relation to dopamine terminals. *Journal of Comparative Neurology*, 369(1), pp.1–15.
- Carroll, C.M. & Morris, R.G.M., 2004. Heterosynaptic co-activation of glutamatergic and dopaminergic afferents is required to induce persistent long-term potentiation. *Neuropharmacology*, 47, pp.324–332.
- Carroll, R.C. & Zukin, R.S., 2002. NMDA-receptor trafficking and targeting: Implications for synaptic transmission and plasticity. *Trends in Neurosciences*, 25(11), pp.571–577.
- Cauli, B. et al., 2004. Cortical GABA interneurons in neurovascular coupling: relays for subcortical vasoactive pathways. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 24(41), pp.8940–8949.
- Cauli, B. & Hamel, E., 2010. Revisiting the role of neurons in neurovascular coupling. *Frontiers in neuroenergetics*, 2(June), p.9.
- Cavada, C. & Reinoso-Suárez, F., 1983. Afferent connections of area 20 in the cat studied by means of the retrograde axonal transport of horseradish peroxidase. *Brain research*, 270(2), pp.319–324.
- Charpier, S. & Deniau, J.M., 1997. In vivo activity-dependent plasticity at cortico-striatal connections: evidence for physiological long-term potentiation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 94(13), pp.7036–7040.
- Chen, G., Greengard, P. & Yan, Z., 2004. Potentiation of NMDA receptor currents by dopamine D1 receptors in prefrontal cortex. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(8), pp.2596–2600.
- Chen, Y. et al., 1997. Detection of dopaminergic neurotransmitter activity using pharmacologic MRI: Correlation with PET, microdialysis, and behavioral data. *Magnetic Resonance in Medicine*, 38(3), pp.389–398.



- Chesselet, M.-F., 1984. Commentary Regulation of Neurotransmitter Release in the Brain : *Neuroscience*, 12(2), pp.347–375.
- Choi, J.K. et al., 2006. Brain hemodynamic changes mediated by dopamine receptors: Role of the cerebral microvasculature in dopamine-mediated neurovascular coupling. *NeuroImage*, 30, pp.700–712.
- Chrissobolis, S. et al., 2000. Role of inwardly rectifying K(+) channels in K(+)-induced cerebral vasodilatation in vivo. *American journal of physiology. Heart and circulatory physiology*, 279(6), pp.H2704–H2712.
- Chrobak, J.J., Lrincz, A. & Buzsáki, G., 2000. Physiological patterns in the hippocampo-entorhinal cortex system. *Hippocampus*, 10, pp.457–465.
- Chrobak, J.J. & Napier, T.C., 1993. Opioid and GABA modulation of accumbens-evoked ventral pallidal activity. *Journal of neural transmission. General section*, 93(2), pp.123–143.
- Clugnet, M.C. & LeDoux, J.E., 1990. Synaptic plasticity in fear conditioning circuits: induction of LTP in the lateral nucleus of the amygdala by stimulation of the medial geniculate body. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 10(8), pp.2818–2824.
- Coan, E.J. & Collingridge, G.L., 1987. Characterization of an N-Methyl-D-Aspartate receptor component of synaptic transmission in rat hippocampal slices. *Neuroscience*, 22(1), pp.1–8.
- Collingridge, G.L. & Bliss, T.V.P., 1988. NMDA receptors - their role in long-term potentiation. *TINS*, 10(7), pp.419–424.
- Collingridge, G.L., Kehl, S.J. & McLennan, H., 1983. Excitatory amino acids in synaptic transmission. *Journal of physiology*, 334, pp.33–46.
- Collingridge, G.L., Kehl, S.J. & McLennan, H., 1983. The antagonism of amino acid-induced excitations of rat hippocampal CA1 neurones in vitro. *The Journal of physiology*, 334, pp.19–31.

- Cooper, D.C., 2002. The significance of action potential bursting in the brain reward circuit. *Neurochemistry international*, 41(5), pp.333–40.
- Coulter, D. a, 1999. Chronic epileptogenic cellular alterations in the limbic system after status epilepticus. *Epilepsia*, 40 Suppl 1, pp.S23–S33; discussion S40–S41.
- Coulter, D. a. & Carlson, G.C., 2007. Functional regulation of the dentate gyrus by GABA-mediated inhibition. *Progress in Brain Research*, 163(07), pp.235–244.
- Dabertrand, F. et al., 2013. Prostaglandin E2, a postulated astrocyte-derived neurovascular coupling agent, constricts rather than dilates parenchymal arterioles. *Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 33(4), pp.479–82.
- Daoudal, G. & Debanne, D., 2003. Long-Term Plasticity of Intrinsic Excitability : Learning Rules and Mechanisms. *Learning & Memory*, pp.456–465.
- Davies, C.H. et al., 1991. GABAB autoreceptors regulate the induction of LTP. *Nature*, 349, pp.609–611.
- Davis, S., Butcher, S.P. & Morris, R.G., 1992. The NMDA receptor antagonist D-2-amino-5-phosphonopentanoate (D-AP5) impairs spatial learning and LTP in vivo at intracerebral concentrations comparable to those that block LTP in vitro. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 12(1), pp.21–34.
- Daw, N.W., Stein, P.S.G. & Fox, 1993. The Role of NMDA receptors in information processing. *Annual review of neuroscience*, 16, pp.207–222.
- Day, J.J. et al., 2007. Associative learning mediates dynamic shifts in dopamine signaling in the nucleus accumbens. *Nature neuroscience*, 10(8), pp.1020–1028.
- Deadwyler, S. a. & Hampson, R.E., 2004. Differential but complementary mnemonic functions of the hippocampus and subiculum. *Neuron*, 42, pp.465–476.
- DeFrance, J.F., Sikes, R.W. & Chronister, R.B., 1985. Dopamine action in the nucleus accumbens. *Journal of neurophysiology*, 54(6), pp.1568–1577.

- DeFrance, J.F. & Yoshihara, H., 1975. Fimbria input to the nucleus accumbens septi. *Brain Research*, 90, pp.159–163.
- Dingledine, B.Y.R., Hynes, M.A. & King, G.L., 1986. Involvement of n-methyl-d-aspartate receptors in epileptiform bursting in the rat hippocampal slice. *Journal of Physiology*, 380, pp.175–189.
- Dingledine, R. et al., 1999. The glutamate receptor ion channels. *Pharmacological reviews*, 51(1), pp.7–61.
- Donnell, O. & Grace, A., 1995. Synaptic Interactions Accumbens Neurons: Input among Excitatory Afferents to Nucleus Hippocampal Gating of Prefrontal Cortical. , 15(May), pp.3622–3639.
- Douglas, R.M. & Goddard, G. V, 1975. Long-term potentiation of the perforant path-granule cell synapse in the rat hippocampus. *Brain research*, 86, pp.205–215.
- Drake, C.T. & Iadecola, C., 2007. The role of neuronal signaling in controlling cerebral blood flow. *Brain and Language*, 102(2), pp.141–152.
- Dunah, A.W. et al., 2004. Dopamine D1-dependent trafficking of striatal N-methyl-D-aspartate glutamate receptors requires Fyn protein tyrosine kinase but not DARPP-32. *Molecular pharmacology*, 65(1), pp.121–129.
- Dunn, K.M. & Nelson, M.T., 2010. Potassium Channels and Neurovascular Coupling. *Circulation Journal*, 74(April), pp.608–616.
- Duva, C. a et al., 1997. Disruption of spatial but not object-recognition memory by neurotoxic lesions of the dorsal hippocampus in rats. *Behavioral neuroscience*, 111(6), pp.1184–1196.
- Edvinsson, L. & Krause, D.N., 1979. Pharmacological characterization of GABA receptors mediating vasodilation of cerebral arteries in vitro. *Brain research*, 173, pp.89–97.
- Edvinsson, L., Larsson, B. & Sk, T.O.R., 1980. Effect of the GABA receptor agonist muscimol on regional cerebral blood flow in the rat. *Brain research*, 185, pp.445–448.

- Edvinsson, L., McCulloch, J. & Sharkey, J., 1985. Vasomotor responses of cerebral arterioles in situ to putative dopamine receptor agonists. *British journal of pharmacology*, 85, pp.403–410.
- Eichenbaum, H., 2000. A cortical-hippocampal system for declarative memory. *Nature Reviews Neuroscience*, 1, pp.41–50.
- Eichenbaum, H., 2000. A cortical-hippocampal system for declarative memory. *Nature reviews. Neuroscience*, 1(October), pp.41–50.
- Eichenbaum, H., 2004. Hippocampus: Cognitive Processes and Neural Representations that Underlie Declarative Memory The hippocampus serves a critical role in declarative. *Neuron*, 44, pp.109–120.
- Enager, P. et al., 2009. Pathway-specific variations in neurovascular and neurometabolic coupling in rat primary somatosensory cortex. *Journal of cerebral blood flow and metabolism: official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 29(5), pp.976–986.
- Engin, E. & Treit, D., 2008. The effects of intra-cerebral drug infusions on animals' unconditioned fear reactions: A systematic review. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 32(6), pp.1399–1419.
- Erickson, S.L., Sesack, S.R. & Lewis, D. a., 2000. Dopamine innervation of monkey entorhinal cortex: Postsynaptic targets of tyrosine hydroxylase-immunoreactive terminals. *Synapse*, 36(1), pp.47–56.
- Errington, M.L., Lynch, G.S. & Bliss, T.V.P., 1987. Long-term potentiation in the dentate gyrus: induction and increase glutamate release are blocked by D(-)Aminophosphonovalerate. *Neuroscience*, 20(1), pp.279–284.
- Fallon, J.H. & Moore, R.Y., 1978. Catecholamine Innervation of the Basal Forebrain. *The Journal of comparative neurology*, 180, pp.545–580.
- Farr, H. & David, T., 2011. Models of neurovascular coupling via potassium and EET signalling. *Journal of Theoretical Biology*, 286, pp.13–23.

- Ferreira, J.G.P. et al., 2008. Organization of ventral tegmental area projections to the ventral tegmental area-nigral complex in the rat. *Neuroscience*, 153, pp.196–213.
- Fields, H.L. et al., 2007. Ventral tegmental area neurons in learned appetitive behavior and positive reinforcement. *Annual review of neuroscience*, 30, pp.289–316.
- Filosa, J. a, Bonev, A.D. & Nelson, M.T., 2004. Calcium dynamics in cortical astrocytes and arterioles during neurovascular coupling. *Circulation research*, 95(10), pp.e73–e81.
- Filosa, J. a. et al., 2015. Beyond neurovascular coupling, role of astrocytes in the regulation of vascular tone. *Neuroscience*.
- Fitch, T.E. et al., 2006. Dopamine D1/5 receptor modulation of firing rate and bidirectional theta burst firing in medial septal/vertical limb of diagonal band neurons in vivo. *Journal of neurophysiology*, 95(February 2006), pp.2808–2820.
- Floresco, S.B. et al., 2003. Afferent modulation of dopamine neuron firing differentially regulates tonic and phasic dopamine transmission. *Nature neuroscience*, 6(9), pp.968–73.
- Floresco, S.B., Blaha, C.D., et al., 2001. Modulation of hippocampal and amygdalar-evoked activity of nucleus accumbens neurons by dopamine: cellular mechanisms of input selection. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 21(8), pp.2851–2860.
- Floresco, S.B. & Phillips, a G., 2001. Delay-dependent modulation of memory retrieval by infusion of a dopamine D1 agonist into the rat medial prefrontal cortex. *Behavioral neuroscience*, 115(4), pp.934–939.
- Floresco, S.B., Todd, C.L. & Grace, a a, 2001. Glutamatergic afferents from the hippocampus to the nucleus accumbens regulate activity of ventral tegmental area dopamine neurons. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 21(13), pp.4915–4922.

- Fox, K., 2002. Anatomical pathways and molecular mechanisms for plasticity in the barrel cortex. *Neuroscience*, 111(4), pp.799–814.
- Fox, P.T. & Raichle, M.E., 1986. Focal physiological uncoupling of cerebral blood flow and oxidative metabolism during somatosensory stimulation in human subjects. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 83(February), pp.1140–1144.
- Freneau, R.T. et al., 1991. Localization of D1 dopamine receptor mRNA in brain supports a role in cognitive, affective, and neuroendocrine aspects of dopaminergic neurotransmission. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 88(May), pp.3772–3776.
- French, S.J. & Totterdell, S., 2002. Hippocampal and prefrontal cortical inputs monosynaptically converge with individual projection neurons of the nucleus accumbens. *The Journal of comparative neurology*, 446(2), pp.151–65.
- French, S.J. & Totterdell, S., 2003. Individual nucleus accumbens-projection neurons receive both basolateral amygdala and ventral subicular afferents in rats. *Neuroscience*, 119(1), pp.19–31.
- Freund, T.F. & Buzsáki, G., 1996. Interneurons of the hippocampus. *Hippocampus*, 6(4), pp.347–470.
- Frey, J.U. & Morris, R.G.M., 1997. Synaptic tagging and long-term potentiation. *Nature*, 385, pp.533–536.
- Frey, S. & Frey, J.U., 2008. Chapter 7 “Synaptic tagging” and “cross-tagging” and related associative reinforcement processes of functional plasticity as the cellular basis for memory formation. *Progress in Brain Research*, 169(07), pp.117–143.
- Frey, S. & Frey, J.U., 2009. Synaptic plasticity and the analysis of the field-EPSP as well as the population spike using separate recording electrodes in the dentate gyrus in freely moving rats. *Journal of neuroscience methods*, 184(1), pp.79–87.

- Frey, U. & Morris, R.G.M., 1998. Synaptic tagging: Implications for late maintenance of hippocampal long-term potentiation. *Trends in Neurosciences*, 21, pp.181–188.
- Frotscher, M. & Léránth, C., 1985. Cholinergic innervation of the rat hippocampus as revealed by choline acetyltransferase immunocytochemistry: a combined light and electron microscopic study. *The Journal of comparative neurology*, 239(2), pp.237–246.
- Fuster, J.M., 1997. Network memory. *TINS*, 20(10), pp.451–459.
- Gähwiler, B.H. & Brown, D. a, 1985. GABAB-receptor-activated K<sup>+</sup> current in voltage-clamped CA3 pyramidal cells in hippocampal cultures. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 82(5), pp.1558–1562.
- Gale, G.D., 2004. Role of the Basolateral Amygdala in the Storage of Fear Memories across the Adult Lifetime of Rats. *Journal of Neuroscience*, 24(15), pp.3810–3815.
- Garris, P. a et al., 1999. Dissociation of dopamine release in the nucleus accumbens from intracranial self-stimulation. *Nature*, 398(1985), pp.67–69.
- Garris, P.A. et al., 1994. Efflux of Dopamine from the Synaptic Cleft in the Nucleus Accumbens of the Rat Brain. *The Journal of Neuroscience*, 14(October), pp.6084–6093.
- Garthwaite, J., 2008. Concepts of neural nitric oxide-mediated transmission. *European Journal of Neuroscience*, 27(11), pp.2783–2802.
- Garthwaite, J., Charles, S.L. & Chess-Williams, R., 1988. Endothelium-derived relaxing factor release on activation of NMDA receptors suggests role as intercellular messenger in the brain. *Nature*, 336, pp.403–405.
- Gasbarri, A., Packard, M.G., et al., 1994. Anterograde and Retrograde Tracing of Projections From the Ventral Tegmental Area to the Hippocampal Formation in the Rat. *Brain research bulletin*, 33, pp.445–452.

- Gasbarri, A., Innocenzi, R., et al., 1994. Mesolimbic dopaminergic neurons innervating the hippocampal formation in the rat: a combined retrograde tracing and immunohistochemical study. *Brain Research*, 668, pp.71–79.
- Gasbarri, A., Sulli, A. & Packard, M.G., 1997. The dopaminergic mesencephalic projections to the hippocampal formation in the rat. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 21, pp.1–22.
- Gaykema, R.P. et al., 1990. Cortical projection patterns of the medial septum-diagonal band complex. *The Journal of comparative neurology*, 293(1), pp.103–124.
- Geisler, S. & Wise, R.A., 2008. Functional Implications of Glutamatergic Projections to the Ventral Tegmental Area. *Reviews in the Neurosciences*, 19(4), pp.227–244.
- Girouard, H. et al., 2010. Astrocytic endfoot Ca<sup>2+</sup> and BK channels determine both arteriolar dilation and constriction. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(8), pp.3811–3816.
- Girouard, H. et al., 2007. Cerebrovascular nitrosative stress mediates neurovascular and endothelial dysfunction induced by angiotensin II. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 27(2), pp.303–309.
- Golding, E.M. et al., 2001. Nitric oxide in the potassium-induced response of the rat middle cerebral artery: A possible permissive role. *Brain Research*, 889(1-2), pp.98–104.
- Golding, E.M. et al., 2000. The effects of potassium on the rat middle cerebral artery. *Brain Research*, 880(1-2), pp.159–166.
- Goldman-Rakic, P.S. et al., 1989. Dopamine synaptic complex with pyramidal neurons in primate cerebral cortex. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 86(22), pp.9015–9019.



- Goldman-Rakic, P.S., Selemon, L.D. & Schwartz, M.L., 1984. Dual pathways connecting the dorsolateral prefrontal cortex with the hippocampal formation and parahippocampal cortex in the rhesus monkey. *Neuroscience*, 12(3), pp.719–743.
- Goldsmith, S.K. & Joyce, J.N., 1994. Dopamine D2 receptor expression in hippocampus and parahippocampal cortex of rat, cat, and human in relation to tyrosine hydroxylase-immunoreactive fibers. *Hippocampus*, 4(3), pp.354–373.
- Gonzalez-Islas, C. & Hablitz, J.J., 2003. Dopamine enhances EPSCs in layer II-III pyramidal neurons in rat prefrontal cortex. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 23(3), pp.867–875.
- Goodrich-Hunsaker, N.J., Hunsaker, M.R. & Kesner, R.P., 2008. The interactions and dissociations of the dorsal hippocampus subregions: how the dentate gyrus, CA3, and CA1 process spatial information. *Behavioral neuroscience*, 122(1), pp.16–26.
- Goto, Y. & Grace, A. a., 2005. Dopaminergic modulation of limbic and cortical drive of nucleus accumbens in goal-directed behavior. *Nature neuroscience*, 8(6), pp.805–812.
- Goto, Y. & Grace, A. a., 2008. Dopamine modulation of hippocampal-prefrontal cortical interaction drives memory-guided behavior. *Cerebral Cortex*, 18(6), pp.1407–1414.
- Goto, Y. & Grace, A. a., 2005. Dopamine-dependent interactions between limbic and prefrontal cortical plasticity in the nucleus accumbens: Disruption by cocaine sensitization. *Neuron*, 47(2), pp.255–266.
- Gouaux, E., 2004. Structure and function of AMPA receptors. *The Journal of physiology*, 554(Pt 2), pp.249–253.
- Grace, A. a et al., 2007. Regulation of firing of dopaminergic neurons and control of goal-directed behaviors. *Trends in neurosciences*, 30(5), pp.220–7.

- Greengard, P., 2001. The neurobiology of slow synaptic transmission. *Science (New York, N.Y.)*, 294(5544), pp.1024–1030.
- Greenstein, Y.J., Pavlides, C. & Winson, J., 1988. Long-term potentiation in the dentate gyrus is preferentially induced at theta rhythm periodicity. *Brain research*, 438(1-2), pp.331–4.
- Gribkoff, V.K. & Ashe, J.H., 1984. Modulation by dopamine of population spikes in area CA1 hippocampal neurons elicited by paired stimulus pulses. *Cellular and molecular neurobiology*, 4(2), pp.177–183.
- Groenewegen, H.J. et al., 1987. Organization of the projections from the subiculum to the ventral striatum in the rat. A study using anterograde transport of Phaseolus vulgaris leucoagglutinin. *Neuroscience*, 23(1), pp.103–120.
- Groenewegen, H.J., Wright, C.I. & Uylings, H.B., 1997. The anatomical relationships of the prefrontal cortex with limbic structures and the basal ganglia. *Journal of psychopharmacology (Oxford, England)*, 11(2), pp.99–106.
- Gruber, A.J., Hussain, R.J. & O'Donnell, P., 2009. The nucleus accumbens: A switchboard for goal-directed behaviors. *PLoS ONE*, 4(4), pp.1–10.
- Grunze, H.C. et al., 1996. NMDA-dependent modulation of CA1 local circuit inhibition. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 16(6), pp.2034–2043.
- Gsell, W. et al., 2006. Differential effects of NMDA and AMPA glutamate receptors on functional magnetic resonance imaging signals and evoked neuronal activity during forepaw stimulation of the rat. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 26(33), pp.8409–8416.
- Gurden, H. & Takita, M., 2000. Essential Role of D1 But Not D2 Receptors in the NMDA Receptor- Dependent Long-Term Potentiation at Hippocampal – Prefrontal Cortex Synapses In Vivo. *The Journal of Neuroscience*, 20, pp.1–5.

- Halasy, K. & Somogyi, P., 1993. Subdivisions in the multiple GABAergic innervation of granule cells in the dentate gyrus of the rat hippocampus. *The European journal of neuroscience*, 5(5), pp.411–429.
- Hall, C.N. et al., 2014. Capillary pericytes regulate cerebral blood flow in health and disease. *Nature*, 508(7494), pp.55–60.
- Hamilton, T.J. et al., 2010. Dopamine modulates synaptic plasticity in dendrites of rat and human dentate granule cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(42), pp.18185–18190.
- Hampson, R.E., Hedberg, T. & Deadwyler, S. a, 2000. Differential information processing by hippocampal and subicular neurons. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 911, pp.151–165.
- Han, Z.-S. et al., 1993. A High Degree of Spatial Selectivity in the Axonal and Dendritic Domains of Physiologically Identifi. *European Journal of Neuroscience*, 5, pp.395–410.
- Hansen, N. & Manahan-Vaughan, D., 2012. Dopamine D1/D5 receptors mediate informational saliency that promotes persistent hippocampal long-term plasticity. *Cerebral cortex (New York, N.Y. : 1991)*, 24(4), pp.845–58.
- Harris, S. et al., 2010. Does neural input or processing play a greater role in the magnitude of neuroimaging signals? *Frontiers in neuroenergetics*, 2(August), pp.1–7.
- Haydon, P.G. & Carmignoto, G., 2006. Astrocyte control of synaptic transmission and neurovascular coupling. *Physiological reviews*, 86, pp.1009–1031.
- Hebb, D.O., 1949. The Organization of Behaviour. *Organization*, p.62.
- Heeger, D.J. & Ress, D., 2002a. What does fMRI tell us about neuronal activity? *Nature reviews. Neuroscience*, 3(2), pp.142–51.
- Heeger, D.J. & Ress, D., 2002b. What does fMRI tell us about neuronal activity? *Nature reviews. Neuroscience*, 3(2), pp.142–51.

- Helbing, C. et al., submitted. The role of the mesolimbic dopamine system in the formation of BOLD responses in the medial prefrontal / anterior cingulate cortex during high-frequency stimulation of the rat perforant pathway.
- Helbing, C., Werner, G. & Angenstein, F., 2013. Variations in the temporal pattern of perforant pathway stimulation control the activity in the mesolimbic pathway. *NeuroImage*, 64, pp.43–60.
- Hennig, J., Nauerth, a. & Friedburg, H., 1986. RARE imaging: A fast imaging method for clinical MR. *Magnetic Resonance in Medicine*, 3(6), pp.823–833.
- Henze, D.A. et al., 2000. Intracellular Features Predicted by Extracellular Recordings in the Hippocampus In Vivo. *Journal of Neurophysiology*, 84(1), pp.390–400.
- Herkenham, M., Edley, S.M. & Stuart, J., 1984. Cell clusters in the nucleus accumbens of the rat, and the mosaic relationship of opiate receptors, acetylcholinesterase and subcortical afferent terminations. *Neuroscience*, 11(3), pp.561–593.
- Hermer, L. and E.S., 1996. Modularity and development: the case of spatial reorientation. *Cognition*, 61(3), pp.195–232.
- Herron, C.E. et al., 1986. Frequency-dependent involvement of NMDA receptors in the hippocampus: a novel synaptic mechanism. *Nature*, 322, pp.265–268.
- Hjorth-Simonsen, a, 1972. Projection of the lateral part of the entorhinal area to the hippocampus and fascia dentata. *The Journal of comparative neurology*, 146(2), pp.219–32.
- Hjorth-Simonsen, A. & Jeune, B., 1972. Origin and Termination of the Hippocampal Perforant Path in the Rat Studied by Silver Impregnation. *Journal of Comparative Neurology*, 144(2), pp.215–231.
- Hnasko, T.S. et al., 2012. Ventral Tegmental Area Glutamate Neurons: Electrophysiological Properties and Projections. *Journal of Neuroscience*, 32(43), pp.15076–15085.

- Van Hoesen, G.W., Parvizi, J. & Chu, C., 2000. Orbitofrontal Cortex Pathology in Alzheimer ' s Disease. *Cerebral cortex*, 10(1), pp.243–251.
- Hsu, D., 2007. The dentate gyrus as a filter or gate: a look back and a look ahead. *Progress in Brain Research*, 163, pp.601–613.
- Huang, V.Y. et al., 1995. A genetic test of the effects of mutations in PKA on mossy fiber LTP and its relation to spatial and contextual learning. *Cell*, 83(7), pp.1211–1222.
- Huang, 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 Sciences of the United States of America*, 92(March), pp.2446–2450.
- Huang, Y.Y., Li, X.C. & Kandel, E.R., 1994. cAMP Contributes to mossy fiber LTP by initiating both a covalently mediated early phase and macromolecular synthesis-dependent late phase. *Cell*, 79(1), pp.69–79.
- Huettner, J.E. & Bean, B.P., 1988. Block of N-methyl-D-aspartate-activated current by the anticonvulsant MK-801: selective binding to open channels. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 85(February), pp.1307–1311.
- Humphries, M.D. & Prescott, T.J., 2010. The ventral basal ganglia, a selection mechanism at the crossroads of space, strategy, and reward. *Progress in Neurobiology*, 90(4), pp.385–417.
- Hyman, B.T. et al., 1984. Alzheimer's disease: cell-specific pathology isolates the hippocampal formation. *Science (New York, N.Y.)*, 225(June), pp.1168–1170.
- Hyman, J.M. et al., 2003. Stimulation in hippocampal region CA1 in behaving rats yields long-term potentiation when delivered to the peak of theta and long-term depression when delivered to the trough. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 23(37), pp.11725–31.

- Iadecola, C. & Nedergaard, M., 2007. Glial regulation of the cerebral microvasculature. *Nature neuroscience*, 10(11), pp.1369–76.
- Iijima, T. et al., 1995. Entorhinal-hippocampal interactions revealed by real-time imaging. *Science*, 272, pp.1176–1179.
- Ikemoto, S., 2007. Dopamine reward circuitry: Two projection systems from the ventral midbrain to the nucleus accumbens-olfactory tubercle complex. *Brain Research Reviews*, 56, pp.27–78.
- Ishizuka, N., Weber, J. & Amaral, D.G., 1990. Organization of intrahippocampal projections originating from CA3 pyramidal cells in the rat. *Journal of Comparative Neurology*, 295(4), pp.580–623.
- Ito, H.T. & Schuman, E.M., 2007. Frequency-dependent gating of synaptic transmission and plasticity by dopamine. *Frontiers in neural circuits*, 1, p.1.
- Izquierdo, I. et al., 1993. Memory processing by the limbic system: role of specific neurotransmitter systems. *Behavioural brain research*, 58(1-2), pp.91–98.
- Izumi, Y. & Zorumski, C.F., 1999. Norepinephrine promotes long-term potentiation in the adult rat hippocampus in vitro. *Synapse (New York, N.Y.)*, 31(3), pp.196–202.
- Jas, J. et al., 2000. Lesioning the fimbria-fornix impairs basolateral amygdala induced reinforcement of LTP in the dentate gyrus. *Brain Research*, 861, pp.186–189.
- Jay, T.M. et al., 1992. Excitatory amino acid pathway from the hippocampus to the prefrontal cortex . Contribution of AMPA receptors in Hippocampo-prefrontal Cortex Transmission. , 4(August), pp.1285–1295.
- Jay, T.M., Glowinski, J. & Thierry, a M., 1989. Selectivity of the hippocampal projection to the prelimbic area of the prefrontal cortex in the rat. *Brain research*, 505(2), pp.337–40.

- Jay, T.M. & Witter, M.P., 1991. Distribution of hippocampal CA1 and subicular efferents in the prefrontal cortex of the rat studied by means of anterograde transport of Phaseolus u vulgaris-Leucoagglutinin. *The Journal of comparative neurology*, 313, pp.574–586.
- Jessen, S.B. et al., 2014. GABA A receptor-mediated bidirectional control of synaptic activity, intracellular Ca<sup>2+</sup>, cerebral blood flow, and oxygen consumption in mouse somatosensory cortex in vivo. *Cerebral cortex (New York, N.Y. : 1991)*.
- Johnson, S.W. & North, R. a, 1992. Two types of neurone in the rat ventral tegmental area and their synaptic inputs. *The Journal of physiology*, 450, pp.455–468.
- Johnston, D. & Wu, S.M.-S., 1995. Foundations of cellular neurophysiology. *Foundations of Cellular Neurophysiology*, p.676.
- Jung, M.W., Wiener, S.I. & McNaughton, B.L., 1994. Comparison of spatial firing characteristics of units in dorsal and ventral hippocampus of the rat. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 14(December), pp.7347–7356.
- Kähne, T. et al., 2012. Synaptic proteome changes in mouse brain regions upon auditory discrimination learning. *Proteomics*, 12(15-16), pp.2433–44.
- Kalivas, P.W. & Duffy, P., 1997. Dopamine regulation of extracellular glutamate in the nucleus accumbens. *Brain research*, 761(1), pp.173–177.
- Kandel, E.R., 2001. The molecular biology of memory storage: a dialogue between genes and synapses. *Science (New York, N.Y.)*, 294(5544), pp.1030–8.
- Kandel, E.R. & Spencer, W.A., 1961. Electrophysiology of hippocampal neurons II. After-potentials and repetitive firing. *American Physiological Society*, pp.243–259.
- Karnup, S. & Stelzer, a, 1999. Temporal overlap of excitatory and inhibitory afferent input in guinea pig CA1 pyramidal cells. *The Journal of physiology*, 516.2(1999), pp.485–504.

- Kebabian, J.W. & Calne, D.B., 1979. Multiple receptors for dopamine. *Nature*, 277, pp.93–96.
- Kelley, A. & Domesick, V., 1982. The distribution of the projection from the hippocampal-formation to the nucleus accumbens in the rat: an anterograde-and retrograde-horseradish peroxidase study. *Neuroscience*, 7(10), pp.2321–2335.
- Kemp, A. & Manahan-Vaughan, D., 2008. Beta-Adrenoreceptors comprise a critical element in learning-facilitated long-term plasticity. *Cerebral Cortex*, 18(June), pp.1326–1334.
- Kemp, A. & Manahan-Vaughan, D., 2004. Hippocampal long-term depression and long-term potentiation encode different aspects of novelty acquisition. *PNAS*, 101(21), pp.8192–8197.
- Kemp, A. & Manahan-Vaughan, D., 2007. Hippocampal long-term depression: master or minion in declarative memory processes? *Trends in Neurosciences*, 30(3), pp.111–118.
- Kemp, A. & Manahan-Vaughan, D., 2005. The 5-hydroxytryptamine<sub>4</sub> receptor exhibits frequency-dependent properties in synaptic plasticity and behavioural metaplasticity in the hippocampal CA1 region in vivo. *Cerebral cortex (New York, N.Y. : 1991)*, 15(7), pp.1037–43.
- Kesner, R.P., 2000. Subregional analysis of mnemonic functions of the prefrontal cortex in the rat. *Psychology*, 28(2), pp.219–228.
- Kim, J.J. & Diamond, D.M., 2002. The stressed hippocampus, synaptic plasticity and lost memories. *Nature reviews. Neuroscience*, 3(6), pp.453–62.
- Klausberger, T. & Somogyi, P., 2008. Neuronal diversity and temporal dynamics: the unity of hippocampal circuit operations. *Science (New York, N.Y.)*, 321(July), pp.53–57.
- Knutson, B. & Gibbs, S.E.B., 2007. Linking nucleus accumbens dopamine and blood oxygenation. *Psychopharmacology*, 191(3), pp.813–22.



- Kocharyan, A. et al., 2008. Specific subtypes of cortical GABA interneurons contribute to the neurovascular coupling response to basal forebrain stimulation. *Journal of cerebral blood flow and metabolism: official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 28, pp.221–231.
- Koehler, R.C., Roman, R.J. & Harder, D.R., 2009. Astrocytes and the regulation of cerebral blood flow. *Trends in Neurosciences*, 32(3), pp.160–169.
- Kombian, S.B. & Malenka, R.C., 1994. Simultaneous LTP of non-NMDA- and LTD of NMDA-receptor-mediated responses in the nucleus accumbens. *Nature*, 368, pp.242–246.
- Krautwald, K. et al., 2013. Synchronized electrical stimulation of the rat medial forebrain bundle and perforant pathway generates an additive BOLD response in the nucleus accumbens and prefrontal cortex. *NeuroImage*, 77, pp.14–25.
- Krimer, L.S. et al., 1998. Dopaminergic regulation of cerebral cortical microcirculation. *Nature neuroscience*, 1(4), pp.286–289.
- Kubota, Y., Hattori, R. & Yui, Y., 1994. Three distinct subpopulations of GABAergic neurons in rat frontal agranular cortex. *Brain Research*, 649(1-2), pp.159–173.
- Kuhr, W.G. & Wightman, R.M., 1986. Real-time measurement of dopamine release in rat brain. *Brain research*, 381(1), pp.168–171.
- Kuhr, W.G., Wightman, R.M. & Rebec, G. V, 1987. Dopaminergic neurons: simultaneous measurements of dopamine release and single-unit activity during stimulation of the medial forebrain bundle. *Brain research*, 418(1), pp.122–128.
- Kulla, A. & Manahan-vaughan, D., 2000. Depotentiation in the Dentate Gyrus of Freely Moving Rats is Modulated by D1 / D5 Dopamine Receptors. *Cerebral Cortex*, 10, pp.614–620.
- Kulla, A. & Manahan-Vaughan, D., 2000. Depotentiation in the dentate gyrus of freely moving rats is modulated by D1/D5 dopamine receptors. *Oxford Journals*, 10(6), pp.614–620.

- Kullmann, D.M., 2011. Interneuron networks in the hippocampus. *Current opinion in neurobiology*, 21(5), pp.709–16.
- Kullmann, D.M. et al., 2005. Presynaptic, extrasynaptic and axonal GABA A receptors in the CNS: Where and why? *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, 87, pp.33–46.
- Kullmann, D.M. & Lamsa, K.P., 2007. Long-term synaptic plasticity in hippocampal interneurons. *Nature reviews. Neuroscience*, 8(9), pp.687–99.
- Kyd, R.J. & Bilkey, D.K., 2003. Prefrontal cortex lesions modify the spatial properties of hippocampal place cells. *Cerebral cortex (New York, N.Y.: 1991)*, 13(5), pp.444–451.
- De Labra, C. et al., 2009. Different sources of nitric oxide mediate neurovascular coupling in the lateral geniculate nucleus of the cat. *Frontiers in systems neuroscience*, 3(September), p.9.
- Laroche, S., Jay, T.M. & Thierry, a M., 1990. Long-term potentiation in the prefrontal cortex following stimulation of the hippocampal CA1/subicular region. *Neuroscience letters*, 114(2), pp.184–90.
- Lauritzen, M., 2005. Reading vascular changes in brain imaging: is dendritic calcium the key? *Nature reviews. Neuroscience*, 6(January), pp.77–85.
- Lavenex, P. & Amaral, D.G., 2000. Hippocampal-neocortical interaction: A hierarchy of associativity. *Hippocampus*, 10, pp.420–430.
- Law-Tho, D., Hirsch, J.C. & Crepel, F., 2006. Dopamine modulation of synaptic transmission in rat prefrontal cortex: an in vitro electrophysiological study. *Neuroscience Research*, 55, pp.151–160.
- Lecrux, C. et al., 2011. Pyramidal neurons are “neurogenic hubs” in the neurovascular coupling response to whisker stimulation. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 31(27), pp.9836–9847.

- Lecrux, C. & Hamel, E., 2011. The neurovascular unit in brain function and disease. *Acta Physiologica*, 203(1), pp.47–59.
- Lee, I. et al., 2004. Comparison of population coherence of place cells in hippocampal subfields CA1 and CA3. *Nature*, 430(July), pp.456–459.
- Leffler, C.W. et al., 2006. Contributions of astrocytes and CO to pial arteriolar dilation to glutamate in newborn pigs. *American journal of physiology. Heart and circulatory physiology*, 291(6), pp.H2897–H2904.
- Legault, M., Rompre, P. & Wise, R.A., 2000. Chemical Stimulation of the Ventral Hippocampus Elevates Nucleus Accumbens Dopamine by Activating Dopaminergic Neurons of the Ventral Tegmental Area. *The Journal of Neuroscience*, 20(4), pp.1635–1642.
- Legault, M. & Wise, R.A., 2001a. Novelty-evoked elevations of nucleus accumbens dopamine: dependence on impulse flow from the ventral subiculum and glutamatergic neurotransmission in the ventral tegmental area. *European Journal of Neuroscience*, 13, pp.819–828.
- Legault, M. & Wise, R.A., 2001b. Novelty-evoked elevations of nucleus accumbens dopamine: dependence on impulse flow from the ventral subiculum and glutamatergic neurotransmission in the ventral tegmental area. *European Journal of Neuroscience*, 13(4), pp.819–828.
- Legault, M. & Wise, R.O.Y.A., 1999. Injections of N-Methyl-D-Aspartate Into the Ventral Hippocampus Increase Extracellular Dopamine in the Ventral Tegmental Area and Nucleus Accumbens. *Synapse*, 31(4), pp.241–249.
- Leithner, C. et al., 2010. Pharmacological uncoupling of activation induced increases in CBF and CMRO<sub>2</sub>. *Journal of cerebral blood flow and metabolism: official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 30(2), pp.311–322.

- Lemon, N. & Manahan-Vaughan, D., 2006. Dopamine D1/D5 receptors gate the acquisition of novel information through hippocampal long-term potentiation and long-term depression. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 26(29), pp.7723–9.
- Leutgeb, J.K. et al., 2007. Pattern separation in the dentate gyrus and CA3 of the hippocampus. *Science (New York, N.Y.)*, 315, pp.961–966.
- Lewis, P., Shute, C. & Silver, A., 1967. Confirmation from choline acetylase analyses of a massive cholinergic innervation to the rat hippocampus. *Journal of Physiology*, 191, pp.215–224.
- Li, S. et al., 2003. Dopamine-dependent facilitation of LTP induction in hippocampal CA1 by exposure to spatial novelty. *Nature neuroscience*, 6(5), pp.526–31.
- Lisman, J.E., 1999. Relating hippocampal circuitry to function: recall of memory sequences by reciprocal dentate-CA3 interactions. *Neuron*, 22(2), pp.233–42.
- Lisman, J.E. & Grace, A. a, 2005. The hippocampal-VTA loop: controlling the entry of information into long-term memory. *Neuron*, 46(5), pp.703–13.
- Lisman, J.E. & Otmakhova, N. a, 2001. Storage, recall, and novelty detection of sequences by the hippocampus: elaborating on the SOCRATIC model to account for normal and aberrant effects of dopamine. *Hippocampus*, 11(5), pp.551–68.
- Lodge, D.J. & Grace, A. a, 2006. The hippocampus modulates dopamine neuron responsivity by regulating the intensity of phasic neuron activation. *Neuropsychopharmacology: official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 31, pp.1356–1361.
- Logman, M.J. et al., 2000. Quantitation of in vivo measurements with carbon fiber microelectrodes. *Journal of neuroscience methods*, 95, pp.95–102.
- Logothetis, N.K. et al., 2001. Neurophysiological investigation of the basis of the fMRI signal. *Nature*, 412(6843), pp.150–7.

- Lømo, T., 1971. Patterns of activation in a monosynaptic cortical pathway: The perforant path input to the dentate area of the hippocampal formation. *Experimental Brain Research*, 12, pp.18–45.
- Lovinger, D.M., 2010. Neurotransmitter roles in synaptic modulation, plasticity and learning in the dorsal striatum. *Neuropharmacology*, 58(7), pp.951–961. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuropharm.2010.01.008>.
- Lund, R.D., 1972. Synaptic patterns of the superficial layers of the superior colliculus of the rat. *Journal of Comparative Neurology*, 144(2), pp.215–231.
- Lynch, M. a, Errington, M.L. & Bliss, T. V, 1989. The increase in [3H]glutamate release associated with long-term potentiation in the dentate gyrus is blocked by commissural stimulation. *Neuroscience letters*, 103(2), pp.191–196.
- Malenka, R.C. & Nicoll, R.A., 1999. Long-term potentiation — a decade of progress? *Neuroscience*, 285(September), pp.1870–1874.
- Manahan-Vaughan, D. et al., 2008. A Single Application of MK801 Causes Symptoms of Acute Psychosis , Deficits in Spatial Memory , and Impairment of Synaptic Plasticity in Rats. *Hippocampus*, 18(2), pp.125–134.
- Manahan-Vaughan, D., 1997. Group 1 and 2 metabotropic glutamate receptors play differential roles in hippocampal long-term depression and long-term potentiation in freely moving rats. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 17(9), pp.3303–3311.
- Manahan-Vaughan, D. & Braunewell, K.H., 1999. Novelty acquisition is associated with induction of hippocampal long-term depression. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 96(July), pp.8739–8744.
- Mangiavacchi, S. & Wolf, M.E., 2004. D1 dopamine receptor stimulation increases the rate of AMPA receptor insertion onto the surface of cultured nucleus accumbens neurons through a pathway dependent on protein kinase A. *Journal of Neurochemistry*, 88(5), pp.1261–1271.

- Maren, S. & Fanselow, M.S., 1995. Synaptic plasticity in the basolateral amygdala induced by hippocampal formation stimulation in vivo. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 15(November), pp.7548–7564.
- Marota, J.J. et al., 2000. Cocaine activation discriminates dopaminergic projections by temporal response: an fMRI study in Rat. *NeuroImage*, 11, pp.13–23.
- Martin, S.J., Grimwood, P.D. & Morris, R.G., 2000. Synaptic plasticity and memory: an evaluation of the hypothesis. *Annual review of neuroscience*, 23, pp.649–711.
- Mayer, M.L., 2005. Glutamate receptor ion channels. *Current Opinion in Neurobiology*, 15(3 SPEC. ISS.), pp.282–288.
- Mayer, M.L. & Westbrook, G.L., 1987. The physiology of excitatory amino acids in the vertebrate central nervous system. *Progress in Neurobiolog*, 28, pp.197–276.
- Mayer, M.L., Westbrook, G.L. & Guthrie, P.B., 1984. Voltage-dependent block by Mg<sup>2+</sup> of NMDA responses in spinal cord neurons. *Nature*, 309, pp.261–263.
- McCarren, M. & Alger, B.E., 1985. Use-dependent depression of IPSPs in rat hippocampal pyramidal cells in vitro. *Journal of neurophysiology*, 53(2), pp.557–571.
- McCarron, J.G. & Halpern, W., 1990. Potassium dilates rat cerebral arteries by two independent mechanisms. *The American journal of physiology*, 259(3 Pt 2), pp.H902–H908.
- McNaughton, B.L., Douglas, R.M. & Goddard, G. V, 1978. Synaptic enhancement in fascia dentata: cooperativity among coactive afferents. *Brain research*, 157, pp.277–293.
- Mcnaughton, B.Y.B.L., 1982. Long-term synaptic enhancement and short-term potentiation in rat fascia dentata act through different mechanisms. *Journal of Physiology*, 324, pp.249–262.

- Mcnaughton, L. & Neuroscience, C., 1987. Hippocampal synaptic enhancement and information storage within a distributed memory system. *TINS*, 10(10), p.408–.
- Mellor, J.R., 2006. Synaptic plasticity of kainate receptors. *Biochemical Society transactions*, 34, pp.949–951.
- Metea, M.R. & Newman, E. a, 2006. Glial cells dilate and constrict blood vessels: a mechanism of neurovascular coupling. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 26(11), pp.2862–2870.
- Miles, R. et al., 1996. Differences between somatic and dendritic inhibition in the hippocampus. *Neuron*, 16, pp.815–823.
- Miles, R., Wong, R.K.S. & others, 1987. Latent synaptic pathways revealed after tetanic stimulation in the hippocampus. *Nature*, 329(6141), pp.724–726.
- Millar, J. et al., 1985. Electrochemical, pharmacological and electrophysiological evidence of rapid dopamine release and removal in the rat caudate nucleus following electrical stimulation of the median forebrain bundle. *European Journal of Pharmacology*, 109, pp.341–348.
- Min, H.K. et al., 2012. Deep brain stimulation induces BOLD activation in motor and non-motor networks: An fMRI comparison study of STN and EN/GPi DBS in large animals. *NeuroImage*, 63(3), pp.1408–1420.
- Mitchell, S.N. et al., 2000. Activation of the retrohippocampal region in the rat causes dopamine release in the nucleus accumbens: disruption by fornix section. *European Journal of Pharmacology*, 407, pp.131–138.
- Mody, I. & Heinemann, U., 1987. NMDA receptors of dentate gyrus granule cells participate in synaptic transmission following kindling. *Nature*, 329, pp.855–857.
- Mody, I. & Pearce, R. a., 2004. Diversity of inhibitory neurotransmission through GABA A receptors. *Trends in Neurosciences*, 27(9), pp.569–575.
- Mogenson, G.J., Jones, D.L. & Yim, C., 1980. From motivation to action: functional interface between the limbic system and the motor system. *Progress in Neurobiology*, 14, pp.69–97.

- Momiyama, T. & Sim, J. a, 1996. Modulation of inhibitory transmission by dopamine in rat basal forebrain nuclei: activation of presynaptic D1-like dopaminergic receptors. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 16(23), pp.7505–7512.
- Mori, H. & Mishina, M., 1995. Structure and function of the NMDA receptor channel. *Neuropharmacology*, 34(10), pp.1219–1237.
- Morley, P. et al., 1998. Evidence that functional glutamate receptors are not expressed on rat or human cerebrovascular endothelial cells. *Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 18(4), pp.396–406.
- Morris, R.G., 1989. Synaptic plasticity and learning: selective impairment of learning rats and blockade of long-term potentiation in vivo by the N-methyl-D-aspartate receptor antagonist AP5. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 9(9), pp.3040–3057.
- Morris, R.G.M. et al., 2003. Elements of a neurobiological theory of the hippocampus: the role of activity-dependent synaptic plasticity in memory. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, 358(1432), pp.773–86.
- Morris, R.G.M. et al., 1982. Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions. *Nature*, 297, pp.681–683.
- Moscovitch, M. & Nadel, L., 1998. Consolidation and the hippocampal complex revisited: In defense of the multiple-trace model. *Current Opinion in Neurobiology*, 8(2), pp.297–300.
- Moss, J. & Bolam, J.P., 2008. A dopaminergic axon lattice in the striatum and its relationship with cortical and thalamic terminals. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 28(44), pp.11221–11230.
- Mulligan, S.J. & MacVicar, B. a, 2004. Calcium transients in astrocyte endfeet cause cerebrovascular constrictions. *Nature*, 431(7005), pp.195–199.



- Muñoz, M.F., Puebla, M. & Figueroa, X.F., 2015. Control of the neurovascular coupling by nitric oxide-dependent regulation of astrocytic Ca<sup>2+</sup> signaling. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 9(March), pp.1–9
- Murphy, B.L. et al., 1996. Increased dopamine turnover in the prefrontal cortex impairs spatial working memory performance in rats and monkeys. *Neurobiology*, 93(February), p.5.
- Nadel, L. & Moscovitch, M., 1998. Hippocampal contribution to cortical plasticity. *Neuropharmacology*, 37, p.431.
- Nadel, L. & Moscovitch, M., 1997. Memory consolidation , retrograde amnesia and the hippocampal complex. *Current opinion in neurobiology*, 7(2), pp.217–227.
- Nakahata, K. et al., 2006. Vasodilation mediated by inward rectifier K<sup>+</sup> channels in cerebral microvessels of hypertensive and normotensive rats. *Anesthesia and Analgesia*, 102(2), pp.571–576.
- Nauta, W.J. et al., 1978. Efferent connections and nigral afferents of the nucleus accumbens septi in the rat. *Neuroscience*, 3, pp.385–401.
- Nedergaard, M., Ransom, B. & Goldman, S. a., 2003. New roles for astrocytes: Redefining the functional architecture of the brain. *Trends in Neurosciences*, 26(10), pp.523–530.
- Neve, K. a., Seamans, J.K. & Trantham-Davidson, H., 2004. Dopamine Receptor Signaling. *Journal of Receptor and Signal Transduction Research*, 24(3), pp.165–205.
- Neves, G., Cooke, S. & Bliss, T.V.P., 2008. Synaptic plasticity, memory and the hippocampus: a neural network approach to causality. *Nat. Rev. Neurosci.*, 9(January 2008), pp.65–75.
- Newberry, N.R. & Nicoll, R.A., 1985. Comparison of the action of baclofen with  $\gamma$ -Aminobutyric acid on rat hippocampal pyramidal cells in vitro. *Journal of Physiology*, 360, pp.161–185.

- Neyman, S. & Manahan-Vaughan, D., 2008. Metabotropic glutamate receptor 1 (mGluR1) and 5 (mGluR5) regulate late phases of LTP and LTD in the hippocampal CA1 region in vitro. *The European journal of neuroscience*, 27(6), pp.1345–52.
- Nguyen, P. V & Kandel, E.R., 1997. Brief theta-burst stimulation induces a transcription-dependent late phase of LTP requiring cAMP in area CA1 of the mouse hippocampus. *Learning & memory (Cold Spring Harbor, N.Y.)*, 4(2), pp.230–243.
- Nicola, S.M., Kombian, S.B. & Malenka, R.C., 1996. Psychostimulants depress excitatory synaptic transmission in the nucleus accumbens via presynaptic D1-like dopamine receptors. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 16(5), pp.1591–1604.
- Nicola, S.M., Surmeier, D.J. & Malenka, R.C., 2000. Dopaminergic modulation of synaptic transmission in cortex and striatum. *Annual review of neuroscience*, 23, pp.185–215.
- Nielsen, A.N. & Lauritzen, M., 2001. Coupling and uncoupling of activity-dependent increases of neuronal activity and blood flow in rat somatosensory cortex. *Journal of Physiology*, 533(3), pp.773–785.
- Nieuwenhuys, R., Geeraedts, L.M. & Veening, J.G., 1982. *The medial forebrain bundle of the rat. I. General introduction.*,
- Nimmerjahn, A., 2009. Astrocytes going live: advances and challenges. *The Journal of physiology*, 587(Pt 8), pp.1639–1647.
- Norup Nielsen, A. & Lauritzen, M., 2001. Coupling and uncoupling of activity-dependent increases of neuronal activity and blood flow in rat somatosensory cortex. *The Journal of physiology*, 533(Pt 3), pp.773–785.
- Nowak, L. et al., 1984. Magnesium gates glutamate-activated channels in mouse central neurones. *Nature*, 307, pp.462–465.

- Nugent, F.S. & Kauer, J. a, 2008. LTP of GABAergic synapses in the ventral tegmental area and beyond. *The Journal of physiology*, 586, pp.1487–1493.
- Nugent, F.S., Penick, E.C. & Kauer, J. a, 2007. Opioids block long-term potentiation of inhibitory synapses. *Nature*, 446(7139), pp.1086–1090.
- Nusser, Z. & Mody, I., 2002. Selective modulation of tonic and phasic inhibitions in dentate gyrus granule cells. *Journal of neurophysiology*, 87, pp.2624–2628.
- O'Doherty, J.P., 2004. Reward representations and reward-related learning in the human brain: Insights from neuroimaging. *Current Opinion in Neurobiology*, 14(6), pp.769–776.
- O'Keefe, J., 1979. A review of the hippocampal place cells. *Progress in Neurobiology*, 13, pp.419–439. Available at: <http://discovery.ucl.ac.uk/95546/>.
- 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), pp.171–175.
- Ogawa, S. et al., 1993. Functional brain mapping by blood oxygenation level-dependent contrast magnetic resonance imaging. A comparison of signal characteristics with a biophysical model. *Biophysical journal*, 64(3), pp.803–12.
- Ogawa, S., Lee, T.M. & Kay, A.R., 1990. Brain magnetic resonance imaging with contrast dependent on blood oxygenation. , 87(December), pp.9868–9872.
- Öngür, D. & Price, J.L., 2000. The organization of networks within the orbital and medial prefrontal cortex of rats, monkeys and humans. *Cerebral Cortex*, 3(10), pp.206–219.
- Otani, S., 2003. Dopaminergic modulation of long-term synaptic plasticity in rat prefrontal neurons. *Cerebral Cortex*, 13(11), pp.1251–1256.
- 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), pp.7478–7486.

- Otto, T. et al., 1991. Learning-related patterns of CA1 spike trains parallel stimulation parameters optimal for inducing hippocampal long-term potentiation. *Hippocampus*, 1(2), pp.181–92.
- Parfenova, H. et al., 2012. Functional role of astrocyte glutamate receptors and carbon monoxide in cerebral vasodilation response to glutamate. *AJP: Heart and Circulatory Physiology*, 302(11), pp.H2257–H2266.
- Park, J. et al., 2010. In vivo voltammetric monitoring of catecholamine release in subterritories of the nucleus accumbens shell. *Neuroscience*, 169(1), pp.132–142.
- Paspalas, C.. & Papadopoulos, G., 1998. Ultrastructural Evidence for Combined Action of Noradrenaline and Vasoactive Intestinal Polypeptide Upon Neurons, Astrocytes, and Blood Vessels of the Rat Cerebral Cortex. *Brain Research Bulletin*, 45(3), pp.247–259.
- Paxinos, G. & Watson, C., 1998. The Rat Brain in stereotaxic coordinates. *Academic Press*, 4.
- Pennartz, C., Groenewegen, H. & Lopes Da Silva, F., 1994. The nucleus accumbens as a complex of functionally distinct neuronal ensembles: an intergration of behavioural, electrophysiological and anatomical data. *Progress in Neurobiology*, 42, pp.719–761.
- Pennartz, C.M. et al., 1992. Presynaptic dopamine D1 receptors attenuate excitatory and inhibitory limbic inputs to the shell reg. *Journal of Neurophysiology*, 67(5), pp.1325–1334.
- Pennartz, C.M. a et al., 2011. The hippocampal-striatal axis in learning, prediction and goal-directed behavior. *Trends in Neurosciences*, 34(10), pp.548–559. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tins.2011.08.001>.
- Pentkowski, N.S. et al., 2006. Effects of lesions to the dorsal and ventral hippocampus on defensive behaviors in rats. *European Journal of Neuroscience*, 23(8), pp.2185–2196.

- Pepicelli, O. et al., 2005. Cyclo-oxygenase-1 and -2 differently contribute to prostaglandin E<sub>2</sub> synthesis and lipid peroxidation after in vivo activation of N-methyl-D-aspartate receptors in rat hippocampus. *Journal of Neurochemistry*, 93(6), pp.1561–1567.
- Peppiatt, C.M. et al., 2006. Bidirectional control of CNS capillary diameter by pericytes. *Nature*, 443(7112), pp.700–704.
- Petzold, G.C. & Murthy, V.N., 2011. Role of astrocytes in neurovascular coupling. *Neuron*, 71(5), pp.782–796.
- Pinault & Invernizzi, D., 2008. NMDA receptor antagonists ketamine and MK-801 induce wake-related aberrant  $\gamma$  oscillations in the rat neocortex by Didier Pinault. *Biological psychiatry*, 63, pp.730–5.
- Pinto, A. & Sesack, S.R., 2003. Prefrontal cortex projections to the rat amygdala: spatial relationships to dopamine and serotonin afferents. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 985, pp.542–544.
- Pitler, T.A. & Alger, B.E., 1992. Postsynaptic spike firing reduces synaptic GABA<sub>A</sub> responses in hippocampal pyramidal cells. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 12(October), pp.4122–4132.
- Popkirov, S.G. & Manahan-Vaughan, D., 2011. Involvement of the metabotropic glutamate receptor mGluR5 in NMDA receptor-dependent, learning-facilitated long-term depression in CA1 synapses. *Cerebral cortex (New York, N.Y. : 1991)*, 21(3), pp.501–9.
- Pouille, F. & Scanziani, M., 2004. Routing of spike series by dynamic circuits in the hippocampus. *Nature*, 429(June), pp.717–723.
- Pralong, E. & Jones, R.S., 1993. Interactions of dopamine with glutamate- and GABA-mediated synaptic transmission in the rat entorhinal cortex in vitro. *The European journal of neuroscience*, 5, pp.760–767.
- Ragozzino, M.E., Wilcox, C., et al., 1999. Involvement of rodent prefrontal cortex subregions in strategy switching. *Behavioral neuroscience*, 113(1), pp.32–41.

- Ragozzino, M.E., Detrick, S. & Kesner, R.P., 1999. Involvement of the prelimbic-infralimbic areas of the rodent prefrontal cortex in behavioral flexibility for place and response learning. *The Journal of neuroscience*, 19(11), pp.4585–4594.
- Rao, V.R. & Finkbeiner, S., 2007. NMDA and AMPA receptors: old channels, new tricks. *Trends in Neurosciences*, 30(6), pp.284–291.
- Rausche, G., Sarvey, J.M. & Heinemann, U., 1989. Slow synaptic inhibition in relation to frequency habituation in dentate granule cells of rat hippocampal slices. *Experimental brain research. Experimentelle Hirnforschung. Experimentation cerebrale*, 78(2), pp.233–242.
- Reichenbach, N. et al., 2015. Differential effects of dopamine signalling on long-term memory formation and consolidation in rodent brain. *Proteome Science*, 13(1), pp.1–17.
- Reymann, K.G. & Frey, J.U., 2007. The late maintenance of hippocampal LTP: Requirements, phases, “synaptic tagging”, “late-associativity” and implications. *Neuropharmacology*, 52, pp.24–40.
- Richter-Levin, G. & Akirav, I., 2001. Amygdala-hippocampus dynamic interaction in relation to memory. *Molecular neurobiology*, 22, pp.11–20.
- Riedel, G. & Reymann, K.G., 1996. Metabotropic glutamate receptors in hippocampal long-term potentiation and learning and memory. *Acta physiologica Scandinavica*, 157, pp.1–19.
- Robinson, D.L. et al., 2003. Detecting subsecond dopamine release with fast-scan cyclic voltammetry in vivo. *Clinical Chemistry*, 49, pp.1763–1773.
- Robinson, T.E. et al., 1988. Persistent sensitization of dopamine neurotransmission in ventral striatum (nucleus accumbens) produced by prior experience with (+)-amphetamine: a microdialysis study in freely moving rats. *Brain research*, 462(2), pp.211–222.

- Rogan, M.T., Stäubli, U.V. & LeDoux, J.E., 1997. Fear conditioning induces associative long-term potentiation in the amygdala. *Nature*, 390(December), pp.604–607.
- Rosenkranz, J.A. & Grace, A. a, 2002. Cellular mechanisms of infralimbic and prelimbic prefrontal cortical inhibition and dopaminergic modulation of basolateral amygdala neurons in vivo. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 22(1), pp.324–337.
- Rossato, J.I. et al., 2009. Dopamine controls persistence of long-term memory storage. *Science (New York, N.Y.)*, 325(5943), pp.1017–20.
- Sabeti, J., Gerhardt, G. a. & Zahniser, N.R., 2003. Chloral hydrate and ethanol, but not urethane, alter the clearance of exogenous dopamine recorded by chronoamperometry in striatum of unrestrained rats. *Neuroscience Letters*, 343(1), pp.9–12.
- Saddoris, M.P. et al., 2013. Rapid dopamine dynamics in the accumbens core and shell: learning and action. *Frontiers in Bioscience*, 5, pp.273–288.
- Scharfman, H.E. & Schwartzkroin, P. a, 1990. Responses of cells of the rat fascia dentata to prolonged stimulation of the perforant path: sensitivity of hilar cells and changes in granule cell excitability. *Neuroscience*, 35(3), pp.491–504.
- Schicknick, H. et al., 2012. Dopamine modulates memory consolidation of discrimination learning in the auditory cortex. *European Journal of Neuroscience*, 35(5), pp.763–774.
- Schicknick, H. et al., 2008. Dopaminergic modulation of auditory cortex-dependent memory consolidation through mTOR. *Cerebral Cortex*, 18(11), pp.2646–2658.
- Schotanus, S.M. & Chergui, K., 2008. Dopamine D1 receptors and group I metabotropic glutamate receptors contribute to the induction of long-term potentiation in the nucleus accumbens. *Neuropharmacology*, 54(5), pp.837–844.

- Schott, B.H. et al., 2004. Activation of midbrain structures by associative novelty and the formation of explicit memory in humans. *Learning & memory (Cold Spring Harbor, N.Y.)*, 11, pp.383–387.
- Schultz, R.R., De Castro, C.C. & Bertolucci, P.H.F., 2009. Memory with emotional content, brain amygdala and Alzheimer's disease. *Acta Neurologica Scandinavica*, 120, pp.101–110.
- Schultz, W., 2001. Reward signaling by dopamine neurons. *The Neuroscientist*, 7(4), pp.293–302.
- Schulz, D.J., 2006. Plasticity and stability in neuronal output via changes in intrinsic excitability: it's what's inside that counts. *The Journal of experimental biology*, 209, pp.4821–4827.
- Schummers, J., Yu, H. & Sur, M., 2008. Tuned Responses of Astrocytes and Their Influence on Hemodynamic Signals in the Visual Cortex. *Science*, 320(June), pp.1638–1644.
- Schwarz, A.J. et al., 2004. Concurrent pharmacological MRI and in situ microdialysis of cocaine reveal a complex relationship between the central hemodynamic response and local dopamine concentration. *NeuroImage*, 23, pp.296–304.
- Schwarz, A.J. et al., 2007. In vivo mapping of functional connectivity in neurotransmitter systems using pharmacological MRI. *NeuroImage*, 34, pp.1627–1636.
- Scoville, W.B. & Milner, B., 1957. Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 20(1), pp.11–21.
- Seamans, J.K., Floresco, S.B. & Phillips, a G., 1998. D1 receptor modulation of hippocampal-prefrontal cortical circuits integrating spatial memory with executive functions in the rat. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 18(4), pp.1613–1621.



- Seamans, J.K. & Yang, C.R., 2004. The principal features and mechanisms of dopamine modulation in the prefrontal cortex. *Progress in neurobiology*, 74(1), pp.1–58.
- Séguéla, P., Watkins, K.C. & Descarries, L., 1988. Ultrastructural features of dopamine axon terminals in the anteromedial and the suprarhinal cortex of adult rat. *Brain research*, 442(1), pp.11–22.
- Seress, L. & Ribak, C.E., 1983. GABAergic cells in the dentate gyrus appear to be local circuit and projection neurons. *Experimental Brain Research*, 50, pp.173–182.
- Seress, L. & Ribak, C.E., 1983. GABAergic cells in the dentate gyrus appear to be local circuit and projection neurons. *Experimental Brain Research*, 50, pp.173–182.
- Sesack, S.R. et al., 2003. Anatomical substrates for glutamate-dopamine interactions. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1003(1), pp.36–52.
- Sesack, S.R. & Grace, A. a, 2010. Cortico-basal ganglia reward network: microcircuitry. *Neuropsychopharmacology: official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 35(1), pp.27–47.
- Sesack, S.R. & Pickel, V.M., 1990a. In the rat medial nucleus accumbens, hippocampal and catecholaminergic terminals converge on spiny neurons and are in apposition to each other. *Brain Research*, 527(2), pp.266–279.
- Sesack, S.R. & Pickel, V.M., 1990b. In the rat medial nucleus accumbens, hippocampal and catecholaminergic terminals converge on spiny neurons and are in apposition to each other. *Brain Research*, 527, pp.266–279.
- Setlow, B., 1997. The nucleus accumbens and learning and memory. *Journal of Neuroscience Research*, 521(June), pp.515–521.
- Shulman, R.G. et al., 2004. Energetic basis of brain activity: Implications for neuroimaging. *Trends in Neurosciences*, 27(8), pp.489–495.

- Sigurdsson, T. et al., 2007. Long-term potentiation in the amygdala: A cellular mechanism of fear learning and memory. *Neuropharmacology*, 52(1), pp.215–227.
- Smith, S.L. & Otis, T.S., 2005. Pattern-dependent, simultaneous plasticity differentially transforms the input-output relationship of a feedforward circuit. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(41), pp.14901–14906.
- Sokoloff, L., 1999. Energetics of functional activation in neural tissues. *Neurochemical Research*, 24(2), pp.321–329.
- Somers, L.A. et al., 2009. Synaptic overflow of dopamine in the nucleus accumbens arises from neuronal activity in the ventral tegmental area. *Journal of Neuroscience*, 29(6), pp.1735–1742.
- Somogyi, P., Freund, T.F. & Cowey, a, 1982. The axo-axonic interneuron in the cerebral cortex of the rat, cat and monkey. *Neuroscience*, 7(11), pp.2577–2607.
- Spencer, 1961. Electrophysiology of hippocampal neurons. *Journal of Physiology*, 60(2), pp.203–217.
- Sprouse, J.S. & Aghajanian, G.K., 1988. Responses of hippocampal pyramidal cells to putative serotonin 5-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>1B</sub> agonists: a comparative study with dorsal raphe neurons. *Neuropharmacology*, 27(7), pp.707–715.
- Squire, L.R., 1992. Memory and the hippocampus : A synthesis from findings with rats, monkeys, and humans. *Psychological Review*, 99(2), pp.195–231.
- Squire, L.R., Stark, C.E.L. & Clark, R.E., 2004. The medial temporal lobe. *Annual review of neuroscience*, 27, pp.279–306.
- Stamford, J. a, Kruk, Z.L. & Millar, J., 1988. Actions of dopamine antagonists on stimulated striatal and limbic dopamine release: an in vivo voltammetric study. *British journal of pharmacology*, 94, pp.924–932.

- Stark, H., Reichert, U. & Graßmann, S., 2000. Struktur , Funktion und potentielle therapeutische Bedeutung von NMDA-Rezeptoren. *Pharmazie in Unserer Zeit*, 2(3), pp.228–236.
- Stefani, M.R. & Moghaddam, B., 2006. Rule learning and reward contingency are associated with dissociable patterns of dopamine activation in the rat prefrontal cortex, nucleus accumbens, and dorsal striatum. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 26(34), pp.8810–8818.
- Stefanovic, B. et al., 2005. Hemodynamic and metabolic responses to activation, deactivation and epileptic discharges. *NeuroImage*, 28(1), pp.205–215.
- Stelzer, a et al., 1994. Synaptic disinhibition during maintenance of long-term potentiation in the CA1 hippocampal subfield. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 91(April), pp.3058–3062.
- Steward, O., 1976. Topographic organization of the projections from the entorhinal area to the hippocampal formation of the rat. *Journal of Comparative Neurology*.
- Steward, O. & Scoville, S.A., 1976. Cells of origin of entorhinal cortical afferents to the hippocampus and fascia dentata of the rat. *Journal of Comparative Neurology*.
- Storm-Mathisen, J. & Guldborg, H.C., 1974. 5-Hydroxytryptamine and noradrenaline in the hippocampal region: effect of transection of afferent pathways on endogenous levels, high affinity uptake and some transmitter-related enzymes. *Journal of neurochemistry*, 22(5), pp.793–803.
- Stringer, J.L. & Lothman, E.W., 1992. Bilateral maximal dentate activation is critical for the appearance of an afterdischarge in the dentate gyrus. *Neuroscience*, 46(2), pp.309–314.
- Surmeier, D.J. et al., 1995. Modulation of calcium currents by a D1 dopaminergic protein kinase/phosphatase cascade in rat neostriatal neurons. *Neuron*, 14, pp.385–397.

- Surmeier, D.J., Plotkin, J. & Shen, W., 2009. Dopamine and synaptic plasticity in dorsal striatal circuits controlling action selection. *Current Opinion in Neurobiology*, 19, pp.621–628.
- Swanson, L.W., 1982. The projections of the ventral tegmental area and adjacent regions: a combined fluorescent retrograde tracer and immunofluorescence study in the rat. *Brain research bulletin*, 9, pp.321–353.
- Swanson, L.W. & Cowan, W.M., 1977. An autoradiographic study of the organization of the efferent connections of the hippocampal formation in the rat. *The Journal of comparative neurology*, 172(1), pp.49–84.
- Swanson-Park, J.L. et al., 1999. A double dissociation within the hippocampus of dopamine D1/D5 receptor and  $\alpha$ -adrenergic receptor contributions to the persistence of long-term potentiation. *Neuroscience*, 92(2), pp.485–497.
- Tabatabaei, S.N. & Girouard, H., 2005. *Nitric Oxide and Cerebrovascular Regulation*,
- Takano, T. et al., 2006. Astrocyte-mediated control of cerebral blood flow. *Nature neuroscience*, 9(2), pp.260–267.
- Thalman, R.H. & Ayala, G.F., 1982. A late increase in potassium conductance follows synaptic stimulation of granule neurons of the dentate gyrus. *Neuroscience letters*, 29, pp.243–248.
- Thomas, M.J. & Malenka, R.C., 2003. Synaptic plasticity in the mesolimbic dopamine system. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, 358(1432), pp.815–9.
- Thulborn, K.R., 2012. My starting point: the discovery of an NMR method for measuring blood oxygenation using the transverse relaxation time of blood water. *NeuroImage*, 62(2), pp.589–93.
- Tiede, R. et al., 2012. NMDA-dependent mechanisms only affect the BOLD response in the rat dentate gyrus by modifying local signal processing. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 32(3), pp.570–584.

- Tseng, K.Y. & O'Donnell, P., 2004. Dopamine-glutamate interactions controlling prefrontal cortical pyramidal cell excitability involve multiple signaling mechanisms. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 24(22), pp.5131–5139.
- Valtschanoff, J.G. et al., 1993. Neurons in rat hippocampus that synthesize nitric oxide. *The Journal of comparative neurology*, 331(1), pp.111–121.
- Vargha-Khadem, F. et al., 1997. Differential effects of early hippocampal pathology on episodic and semantic memory. *Science (New York, N.Y.)*, 9042(1995), pp.376–380.
- Venton, B.J. & Wightman, R.M., 2003. Psychoanalytical electrochemistry: dopamine and behavior. *Analytical Chemistry*, pp.414–421.
- Viswanathan, A. & Freeman, R.D., 2007. Neurometabolic coupling in cerebral cortex reflects synaptic more than spiking activity. *Nature neuroscience*, 10(10), pp.1308–12.
- Völlm, B. a et al., 2004. Methamphetamine activates reward circuitry in drug naïve human subjects. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 29(9), pp.1715–1722.
- Volterra, A. & Steinhäuser, C., 2004. Glial modulation of synaptic transmission in the hippocampus. *Glia*, 47(3), pp.249–57.
- Voorn, P. et al., 1986. The dopaminergic innervation of the ventral striatum in the rat: a light- and electron-microscopical study with antibodies against dopamine. *The Journal of comparative neurology*, 251, pp.84–99.
- Walaas, I. & Fonnum, F., 1979. The distribution and origin of glutamate decarboxylase and choline actetyltransferase in ventral pallidum and othe basal forebrain regions. *Brain Research*, 177, pp.325–336.
- Wang, J. & O'Donnell, P., 2001. D(1) dopamine receptors potentiate nmda-mediated excitability increase in layer V prefrontal cortical pyramidal neurons. *Cerebral cortex (New York, N.Y. : 1991)*, 11(May), pp.452–462.

- Wang, X. et al., 2006. Astrocytic Ca<sup>2+</sup> signaling evoked by sensory stimulation in vivo. *Nature neuroscience*, 9(6), pp.816–823.
- Weber, R. et al., 2006. A fully noninvasive and robust experimental protocol for longitudinal fMRI studies in the rat. *NeuroImage*, 29, pp.1303–1310.
- Whittington, M. a. & Traub, R.D., 2003. Interneuron Diversity series: Inhibitory interneurons and network oscillations in vitro. *Trends in Neurosciences*, 26(12), pp.676–682.
- Wightman, R.M. et al., 1988. Real-time characterization of dopamine overflow and uptake in the rat striatum. *Neuroscience*, 25(2), pp.513–523.
- Winship, I.R., Plaa, N. & Murphy, T.H., 2007. Rapid astrocyte calcium signals correlate with neuronal activity and onset of the hemodynamic response in vivo. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 27(23), pp.6268–6272.
- Wirkner, K. et al., 2004. Adenine nucleotides inhibit recombinant N-type calcium channels via G protein-coupled mechanisms in HEK 293 cells; involvement of the P2Y<sub>13</sub> receptor-type. *British journal of pharmacology*, 141(1), pp.141–151.
- Wisden, W. & Seeburg, P.H., 1993. Mammalian ionotropic glutamate receptors. *Current Opinion in Neurobiology*, 3(3), pp.291–298.
- Wise, R. a, 2004. Dopamine, learning and motivation. *Nature reviews. Neuroscience*, 5(6), pp.483–494.
- Witter, M.P. et al., 2000. Cortico-hippocampal communication by way of parallel parahippocampal-subicular pathways. *Hippocampus*, 10(May), pp.398–410.
- Witter, M.P. et al., 1989. Functional organization of the extrinsic and intrinsic circuitry of the parahippocampal region. *Progress in Neurobiology*, 33, pp.161–253.
- Witter, M.P. & Groenewegen, H.J., 1984. Laminar origin and septotemporal distribution of entorhinal and perirhinal projections to the hippocampus in the cat. *The Journal of comparative neurology*, 224, pp.371–385.

- Witter, M.P., Ostendorf, R.H. & Groenewegen, H.J., 1990. Heterogeneity in the Dorsal Subiculum of the Rat . Distinct Neuronal Zones Project to Different Cortical and Subcortical Targets. *European Journal of Neuroscience*, 2(8), pp.718–725.
- Witter, M.P., Ostendorf, R.H. & Groenewegen, H.J., 1990. Heterogeneity in the dorsal subiculum of the rat. Distinct neuronal zones project to different cortical and subcortical targets. *European Journal of Neuroscience*, 2(March), pp.718–725.
- Wolf, M.E. et al., 2004. Psychomotor stimulants and neuronal plasticity. *Neuropharmacology*, 47(SUPPL. 1), pp.61–79.
- Wolf, O.T., 2009. Stress and memory in humans: Twelve years of progress? *Brain Research*, 1293, pp.142–154.
- Wollmuth, L.P. & Sobolevsky, A.I., 2004. Structure and gating of the glutamate receptor ion channel. *Trends in Neurosciences*, 27(6), pp.321–328.
- Wright, C.I. & Groenewegen, H.J., 1996. Patterns of overlap and segregation between insular cortical, intermediodorsal thalamic and basal amygdaloid afferent in the nucleus accumbens. *Neuroscience*, 73(2), pp.359–373.
- Xi, Q. et al., 2011. Glutamate-induced calcium signals stimulate CO production in piglet astrocytes. *American journal of physiology. Heart and circulatory physiology*, 301(2), pp.H428–H433.
- Yamaguchi, T., Sheen, W. & Morales, M., 2007. Glutamatergic neurons are present in the rat ventral tegmental area. *The European journal of neuroscience*, 25(1), pp.106–18.
- Yang, C.R. & Mogenson, G.J., 1984. Electrophysiological responses of neurones in the nucleus accumbens to hippocampal stimulation and the attenuation of the excitatory responses by the mesolimbic dopaminergic system. *Brain research*, 324, pp.69–84.

- Yang, G. & Iadecola, C., 1998. Activation of cerebellar climbing fibers increases cerebellar blood flow: role of glutamate receptors, nitric oxide, and cGMP. *Stroke; a journal of cerebral circulation*, 29, pp.499–507; discussion 507–508.
- Yao, W.D., Spealman, R.D. & Zhang, J., 2008. Dopaminergic signaling in dendritic spines. *Biochemical Pharmacology*, 75(11), pp.2055–2069.
- Yeckel, M.F. & Berger, T.W., 1990. Feedforward excitation of the hippocampus by afferents from the entorhinal cortex: redefinition of the role of the trisynaptic pathway. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 87(15), pp.5832–6.
- Zaczek, R., Hedreen, J.C. & Coyle, J.T., 1979. Evidence for a hippocampal-septal glutamatergic pathway in the rat. *Experimental neurology*, 65(1), pp.145–156.
- Zahm, D.S., 2000. An integrative neuroanatomical perspective on some subcortical substrates of adaptive responding with emphasis on the nucleus accumbens. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 24(1), pp.85–105.
- Zahm, D.S., 2006. The evolving theory of basal forebrain functional - Anatomical “macrosystems.” *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 30(2), pp.148–172.
- Zahrt, J. et al., 1997. Supranormal stimulation of D1 dopamine receptors in the rodent prefrontal cortex impairs spatial working memory performance. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 17(21), pp.8528–8535.
- Zola-Morgan, S., Larry, R. & Amaral, D.G., 1986. Human Amnesia and the Medial Temporal Region: Enduring Memory Impairment Following a Bilateral Lesion Limited to Field CA1 of the Hippocampus. *The Journal of Neuroscience*, 6(10), pp.2950–2967.
- Zonta, M. et al., 2003. Neuron-to-astrocyte signaling is central to the dynamic control of brain microcirculation. *Nature neuroscience*, 6(1), pp.43–50.
- Zucker, R.S. & Regehr, W.G., 2002. Short-term synaptic plasticity. *Annual review of physiology*, 64, pp.355–405.



## 9 Anhang

### 9.1 Stimulation des Tractus perforans mit 20 Pulsen je Sekunde

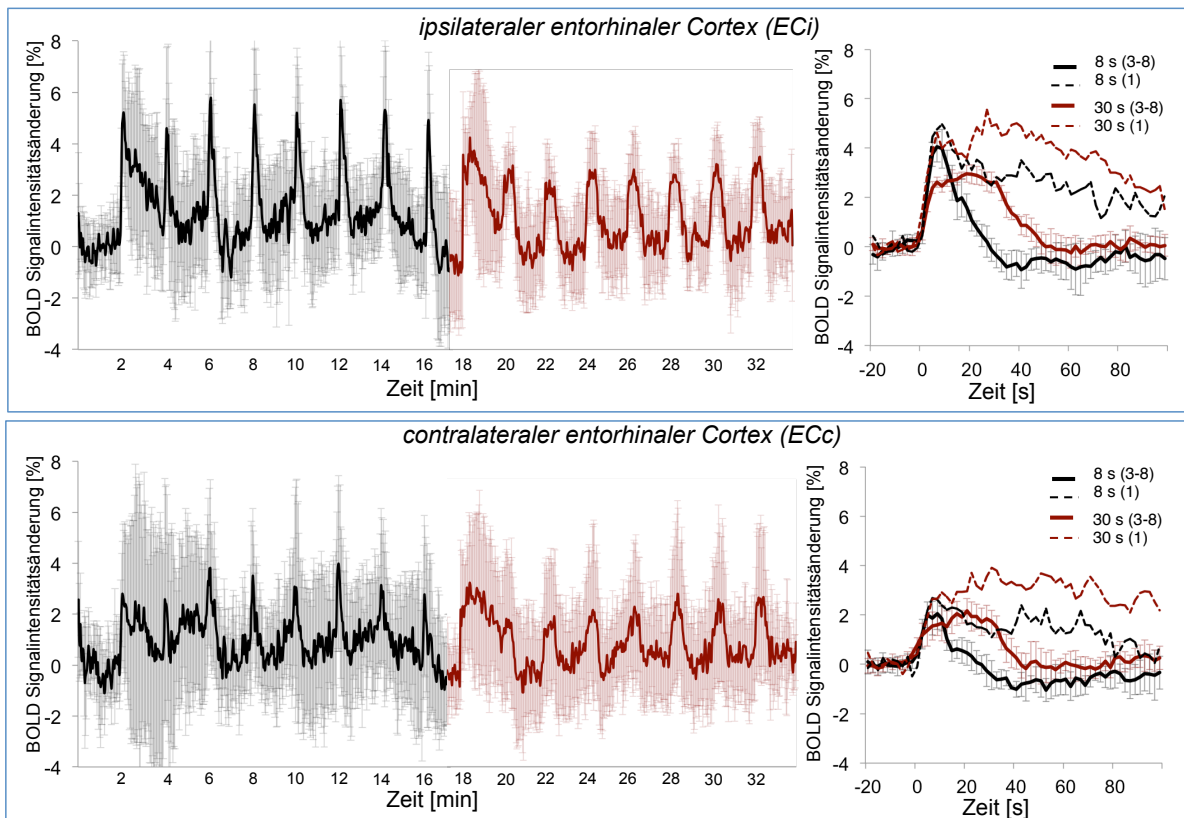


Abbildung 9.1 | Zeitliche Verläufe der generierten BOLD-Antwort kurzer (schwarz) und langer (rot) hochfrequenter Stimulation des *Tractus Perforans* mit 20 Pulsen im ipsilateralen und contralateralen entorhinalen Cortex. Die HRF stellt den Verlauf der gemittelten BOLD-Antwort dar (MW  $\pm$  Stabw der Stimulationsphasen 3-8, glatte Linie) im Vergleich zur generierten BOLD-Antwort der ersten Stimulationsphase (gestrichelte Linie).

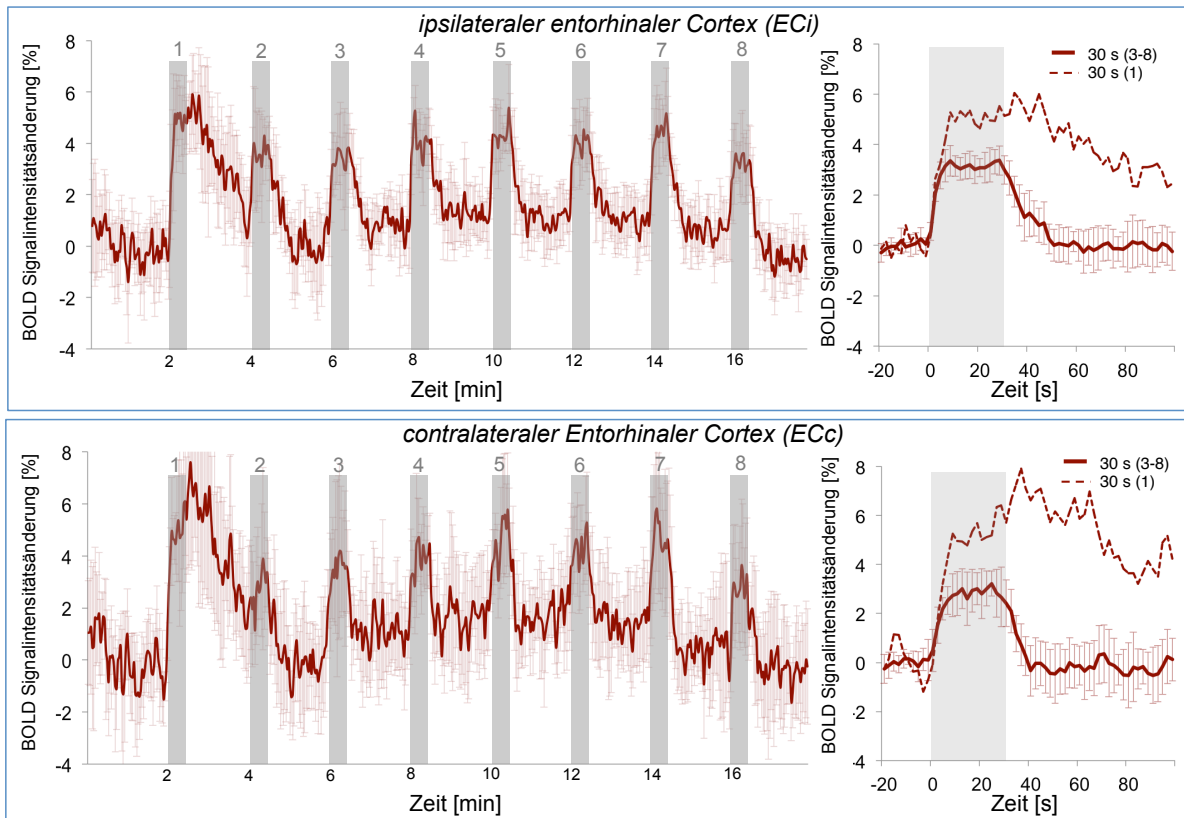


Abbildung 9.2 | Zeitlicher Verläufe der generierten BOLD-Antwort langer (rot) hochfrequenter Stimulation des *Tractus Perforans* mit 20 Pulsen im ipsilateralen und contralateralen entorhinalen Cortex. Die HRF stellt den Verlauf der gemittelten BOLD-Antwort dar (glatte MW  $\pm$  Stabw der Stimulationsphasen 3-8, glatte Linie) im Vergleich zur generierten BOLD-Antwort der ersten Stimulationsphase (gestrichelte Linie).

## 9.2 Stimulation des Tractus perforans mit 20 Pulsen je Sekunde bei doppelter Stimulationsintensität

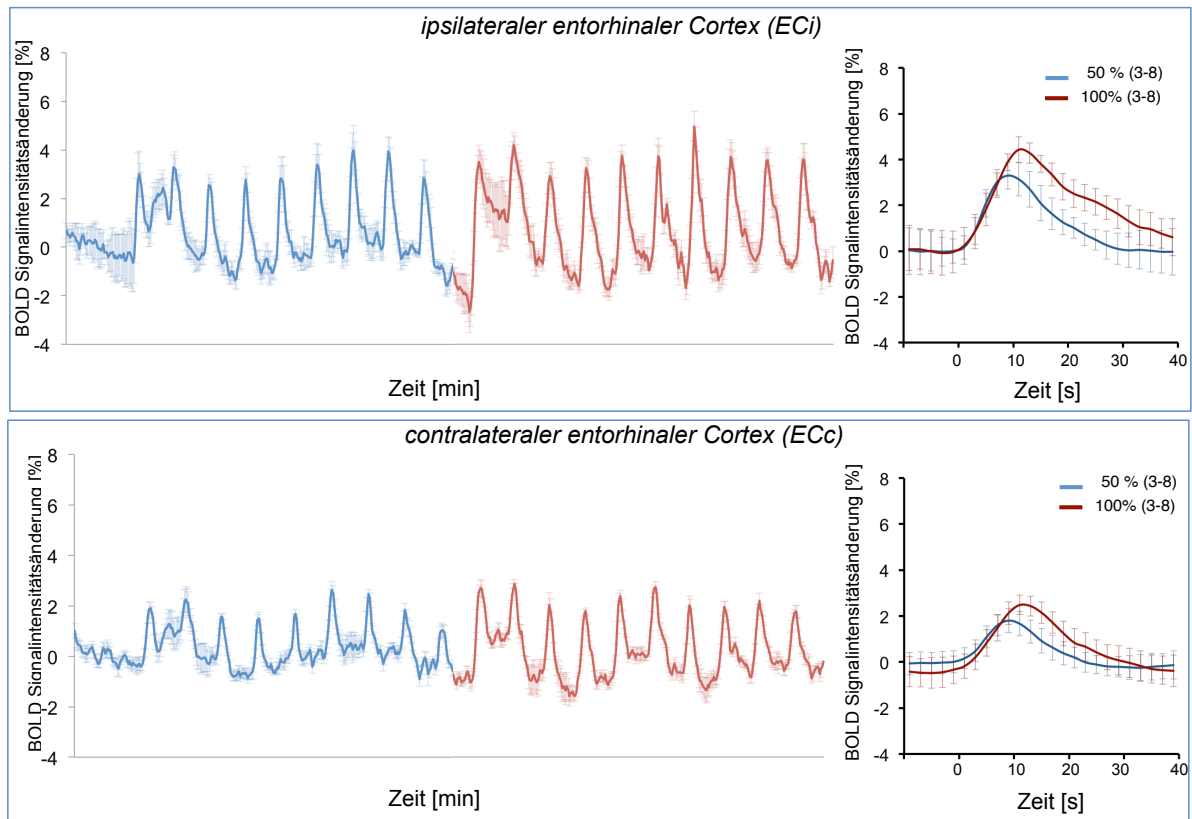


Abbildung 9.3 | Zeitlicher Verläufe der generierten BOLD-Antwort der Stimulationsphasen mit 50 % Stimulationsintensität (Phase 1-10, blaue Markierung) und doppelter Stimulationsintensität (Phase 11-20) der hochfrequenten Stimulation des *TP* mit 20 Pulsen im ipsilateralen und kontralateralen entorhinalen Cortex. Die HRF stellt den Verlauf der gemittelten BOLD-Antwort dar (MW ± Stabw der Stimulationsphasen 3-8, glatte Linie) im Vergleich zur generierten BOLD-Antwort der ersten Stimulationsphase (gestrichelte Linie).

## 9.3 Stimulation des Tractus perforans mit 50 Pulsen je Sekunde

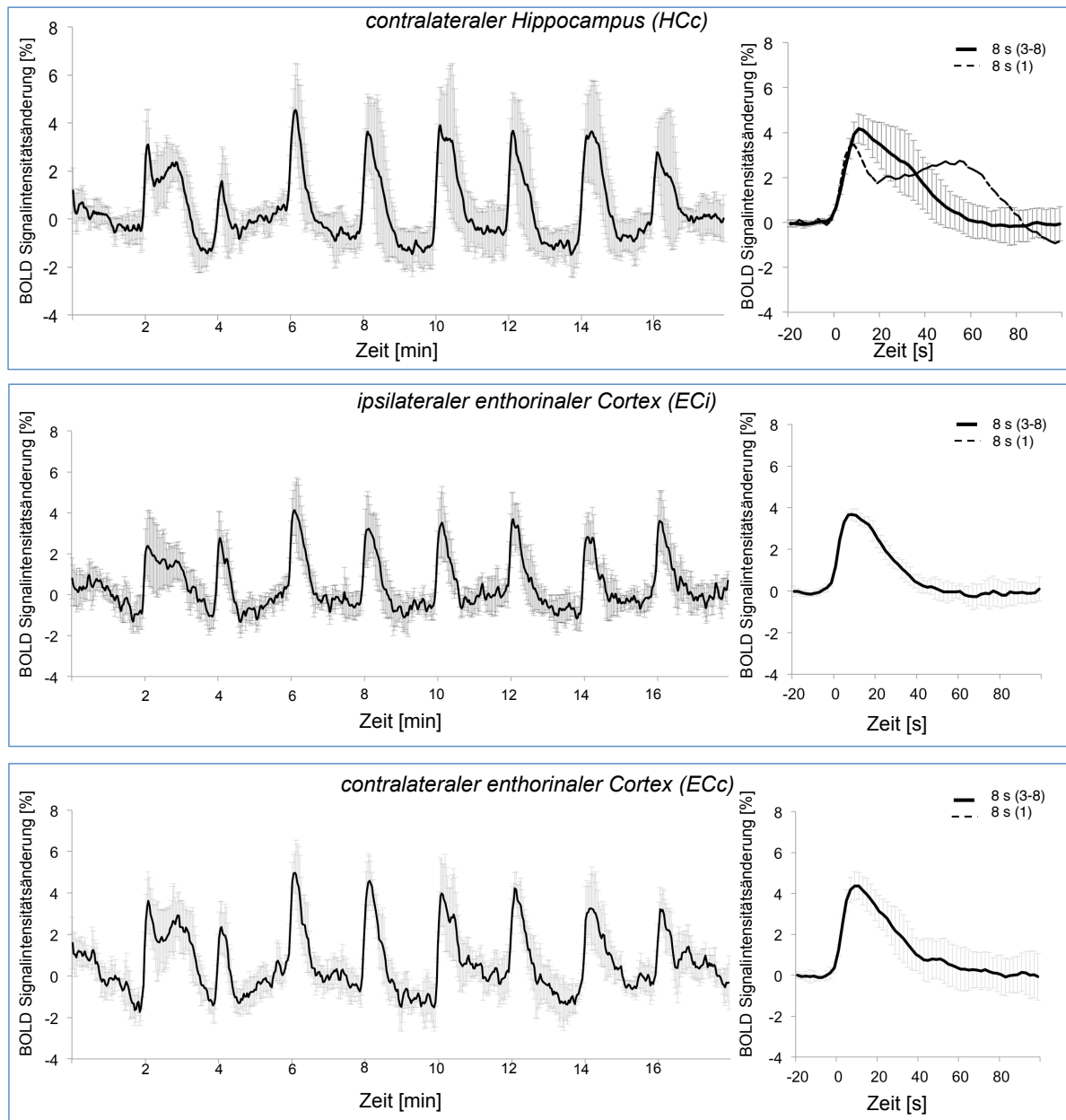


Abbildung 9.4 | Zeitliche Verläufe der generierten BOLD-Antwort kurzer hochfrequenter Stimulationen des *Tractus Perforans* mit 50 Pulsen im contralateralen Hippocampus, im ipsilateralen und contralateralen entorhinalen Cortex. Die HRF stellt den Verlauf der gemittelten BOLD-Antwort dar (MW  $\pm$  Stabw der Stimulationsphasen 3-8).

## 9.4 Stimulation des Tractus perforans mit 100 Pulsen je Sekunde

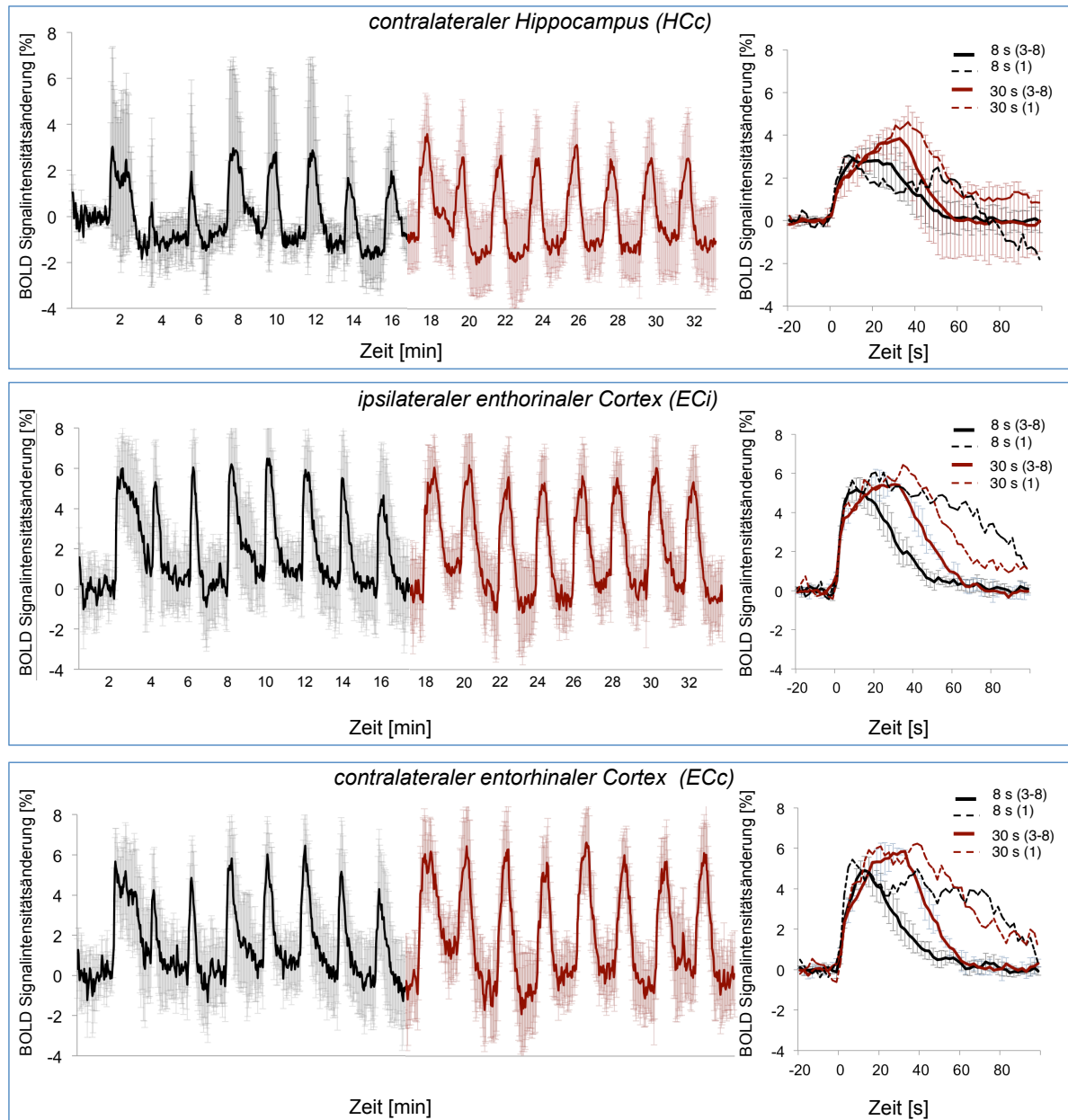


Abbildung 9.5 | Zeitlicher Verläufe der generierten BOLD-Antwort kurzer (schwarz) und langer (rot) hochfrequenter Stimulation des *Tractus Perforans* mit 100 Pulsen im contralateralen Hippocampus, im ipsilateralen und contralateralen entorhinalen Cortex. Die HRF stellt den Verlauf der gemittelten BOLD-Antwort dar (MW  $\pm$  Stabw der Stimulationsphasen 3-8, glatte Linie) im Vergleich zur generierten BOLD-Antwort der ersten Stimulationsphase (gestrichelte Linie).

## 9.5 Pharmakologische Untersuchungen

### 9.5.1 Stimulation mit 20 Pulsen je Sekunde

Tabelle 9.1 | Elektrophysiologisch gemessene Parameter der Aktivität der Körnerzellen im DG und den dazugehörigen maximalen BOLD-Antworten in sich wiederholenden hochfrequenten Stimulationen des *Tractus perforans* mit 20 Pulsen mit 50 % Stimulationsintensität (250  $\mu$ A) in Anwesenheit des D<sub>1/5</sub>-Rezeptor-Antagonisten SCH23390, des D1-Rezeptor-Agonisten SKF83959 und des NMDA-Rezeptor-Antagonisten MK801 im Vergleich zur pharmakologischen Kontrollgruppe.

		Gyrus dentatus (DG)		ipsilateraler Hippocampus (HCi)		
		PSA [mV]	Latenz [ms]	BOLD Anstieg	BOLD max [%]	
<b>250 <math>\mu</math>A</b>	<b>Kontrolle</b>					
	Stimulationsphase 1	13,23	4,30	0,29	3,05	
	<b>100 Hz 20 Pulse 8s</b>	Stimulationsphase 2	8,06	5,11	-0,02	-0,10
		Stimulationsphase 3	16,78	4,99	0,26	2,08
		Stimulationsphase 4	15,13	4,86	0,28	2,51
		Stimulationsphase 5	13,8	4,71	0,28	2,31
		Stimulationsphase 6	12,9	4,61	0,34	2,90
		Stimulationsphase 7	11,9	4,55	0,32	2,77
		Stimulationsphase 8	10,84	4,48	0,30	2,32
		<b>MW [1-8]</b>	<b>12,83</b>	<b>4,70</b>	<b>MW [3-8]</b>	<b>0,30</b>
<b>Stabw</b>	<b>2,66</b>	<b>0,27</b>	<b>Stabw</b>	<b>0,03</b>	<b>0,31</b>	
<b>SKF83959</b>	Stimulationsphase 1	10,64	4,37	0,25	2,51	
	<b>100 Hz 20 Pulse</b>	Stimulationsphase 2	13,97	4,60	0,07	0,45
		Stimulationsphase 3	17,64	4,92	0,13	1,72
		Stimulationsphase 4	15,76	4,70	0,21	1,96
		Stimulationsphase 5	14,61	4,53	0,21	2,36
		Stimulationsphase 6	14,17	4,39	0,24	2,37
		Stimulationsphase 7	13,07	4,35	0,28	2,53
		Stimulationsphase 8	13,19	4,30	0,20	2,43
		<b>MW [1-8]</b>	<b>14,13</b>	<b>4,52</b>	<b>MW [3-8]</b>	<b>0,21</b>
	<b>Stabw</b>	<b>2,05</b>	<b>0,21</b>	<b>Stabw</b>	<b>0,05</b>	<b>0,32</b>

Fortsetzung Tabelle 9.1

<b>SCH23390</b> <b>100 Hz 20 Pulse</b>	<i>Stimulationsphase 1</i>	12,07	4,08		0,34	3,08
	<i>Stimulationsphase 2</i>	7,39	4,33		0,11	1,41
	<i>Stimulationsphase 3</i>	13,21	4,77		0,26	1,87
	<i>Stimulationsphase 4</i>	14,97	4,86		0,32	2,89
	<i>Stimulationsphase 5</i>	14,4	4,68		0,35	2,95
	<i>Stimulationsphase 6</i>	13,82	4,58		0,44	3,10
	<i>Stimulationsphase 7</i>	13,08	4,52		0,41	2,95
	<i>Stimulationsphase 8</i>	12,41	4,47		0,42	3,20
	<i>MW [1-8]</i>	<b>12,67</b>	<b>4,54</b>	<i>MW [3-8]</i>	<b>0,37</b>	<b>2,83</b>
	<i>Stabw</i>	<b>2,34</b>	<b>0,25</b>	<i>Stabw</i>	<b>0,07</b>	<b>0,48</b>
<b>MK801</b> <b>100 Hz 20 Pulse</b>	<i>Stimulationsphase 1</i>	7,53	4,42		0,20	1,96
	<i>Stimulationsphase 2</i>	6,6	4,42		0,19	2,11
	<i>Stimulationsphase 3</i>	5,64	4,45		0,20	2,23
	<i>Stimulationsphase 4</i>	4,93	4,48		0,21	2,33
	<i>Stimulationsphase 5</i>	4,35	4,54		0,20	2,26
	<i>Stimulationsphase 6</i>	3,72	4,53		0,22	2,02
	<i>Stimulationsphase 7</i>	3,6	4,60		0,27	2,44
	<i>Stimulationsphase 8</i>	3,2	4,60		0,26	2,14
	<i>MW [1-8]</i>	<b>4,95</b>	<b>4,51</b>	<i>MW [3-8]</i>	<b>0,23</b>	<b>2,24</b>
	<i>Stabw</i>	<b>1,54</b>	<b>0,07</b>	<i>Stabw</i>	<b>0,03</b>	<b>0,15</b>

Werte werden als Mittelwert mit Standardabweichung (MW ± Stabw) aller gemessenen Versuchstiere (n=5 je Gruppe) angegeben.

Tabelle 9.2 | Elektrophysiologisch gemessene Parameter der Aktivität der Körnerzellen im DG und den dazugehörigen maximalen BOLD-Antworten in sich wiederholenden hochfrequenten Stimulationen des *Tractus perforans* mit 20 Pulsen mit doppelter Stimulationsintensität (500  $\mu$ A) in Anwesenheit des D<sub>1/5</sub>-Rezeptor-Antagonisten SCH23390, des D1-Rezeptor-Agonisten SKF83959 und des NMDA-Rezeptor-Antagonisten MK801 im Vergleich zur pharmakologischen Kontrollgruppe.

<b>500 <math>\mu</math>A</b>		<i>Gyrus dentatus (DG)</i>		<i>Gyrus dentatus (DG)</i>		
		<i>PSA [mV]</i>	<i>Latenz [ms]</i>	<i>PSA [mV]</i>	<i>Latenz [ms]</i>	
<b>Kontrolle</b> <b>100 Hz 20 Pulse 8s</b>	<i>Stimulationsphase 1</i>	11,38	4,30	0,47	4,94	
	<i>Stimulationsphase 2</i>	10,57	4,36	0,17	0,93	
	<i>Stimulationsphase 3</i>	15,66	4,44	0,28	2,48	
	<i>Stimulationsphase 4</i>	16,64	4,36	0,33	3,06	
	<i>Stimulationsphase 5</i>	15,68	4,37	0,39	3,32	
	<i>Stimulationsphase 6</i>	13,6	3,36	0,37	3,16	
	<i>Stimulationsphase 7</i>	14,48	4,40	0,38	3,24	
	<i>Stimulationsphase 8</i>	16,05	4,29	0,34	2,89	
	<b>MW [1-8]</b>	<b>14,26</b>	<b>4,20</b>	<b>MW [3-8]</b>	<b>0,35</b>	<b>3,02</b>
	<b>Stabw</b>	<b>2,24</b>	<b>0,36</b>	<b>Stabw</b>	<b>0,04</b>	<b>0,31</b>
<b>SKF83959</b> <b>100 Hz 20 Pulse</b>	<i>Stimulationsphase 1</i>	14,53	3,98	0,39	3,98	
	<i>Stimulationsphase 2</i>	13,93	4,15	0,31	2,81	
	<i>Stimulationsphase 3</i>	15,04	4,30	0,27	2,63	
	<i>Stimulationsphase 4</i>	15,16	4,19	0,40	3,43	
	<i>Stimulationsphase 5</i>	15,57	4,25	0,35	3,21	
	<i>Stimulationsphase 6</i>	15,65	4,19	0,32	3,00	
	<i>Stimulationsphase 7</i>	15,8	4,17	0,32	2,67	
	<i>Stimulationsphase 8</i>	14,53	4,16	0,35	3,54	
	<b>MW [1-8]</b>	<b>15,03</b>	<b>4,17</b>	<b>MW [3-8]</b>	<b>0,33</b>	<b>3,08</b>
	<b>Stabw</b>	<b>0,65</b>	<b>0,09</b>	<b>Stabw</b>	<b>0,04</b>	<b>0,38</b>

Werte werden als Mittelwert mit Standardabweichung (MW  $\pm$  Stabw) aller gemessenen Versuchstiere (n=5 je Gruppe) angegeben.



Fortsetzung Tabelle 9.2

<b>SCH23390</b> <b>100 Hz 20 Pulse</b>	<i>Stimulationsphase 1</i>	12,23	4,16		0,55	4,92
	<i>Stimulationsphase 2</i>	9,58	4,24		0,15	0,77
	<i>Stimulationsphase 3</i>	14,34	4,45		0,35	2,81
	<i>Stimulationsphase 4</i>	14,5	4,36		0,48	3,17
	<i>Stimulationsphase 5</i>	14,4	4,30		0,40	3,78
	<i>Stimulationsphase 6</i>	12,63	4,22		0,41	3,57
	<i>Stimulationsphase 7</i>	13,73	4,24		0,40	3,48
	<i>Stimulationsphase 8</i>	12,75	4,12		0,42	3,49
	<b>MW [1-8]</b>	<b>13,02</b>	<b>4,26</b>	<b>MW [3-8]</b>	<b>0,41</b>	<b>3,38</b>
	<b>Stabw</b>	<b>1,65</b>	<b>0,11</b>	<b>Stabw</b>	<b>0,04</b>	<b>0,34</b>
<b>MK801</b> <b>100 Hz 20 Pulse</b>	<i>Stimulationsphase 1</i>	10,09	4,31		0,39	3,35
	<i>Stimulationsphase 2</i>	9,39	4,55		0,30	2,10
	<i>Stimulationsphase 3</i>	9,54	4,54		0,29	2,27
	<i>Stimulationsphase 4</i>	9,16	4,53		0,36	2,96
	<i>Stimulationsphase 5</i>	8,68	4,54		0,36	3,00
	<i>Stimulationsphase 6</i>	8,23	4,56		0,39	2,97
	<i>Stimulationsphase 7</i>	7,75	4,59		0,36	2,98
	<i>Stimulationsphase 8</i>	7,26	4,59		0,39	2,92
	<b>MW [1-8]</b>	<b>8,76</b>	<b>4,53</b>	<b>MW [3-8]</b>	<b>0,36</b>	<b>2,85</b>
	<b>Stabw</b>	<b>0,96</b>	<b>0,09</b>	<b>Stabw</b>	<b>0,03</b>	<b>0,29</b>

Werte werden als Mittelwert mit Standardabweichung (MW ± Stabw) aller gemessenen Versuchstiere (n=5 je Gruppe) angegeben.

## 9.5.2 Stimulation mit 100 Pulsen je Sekunde

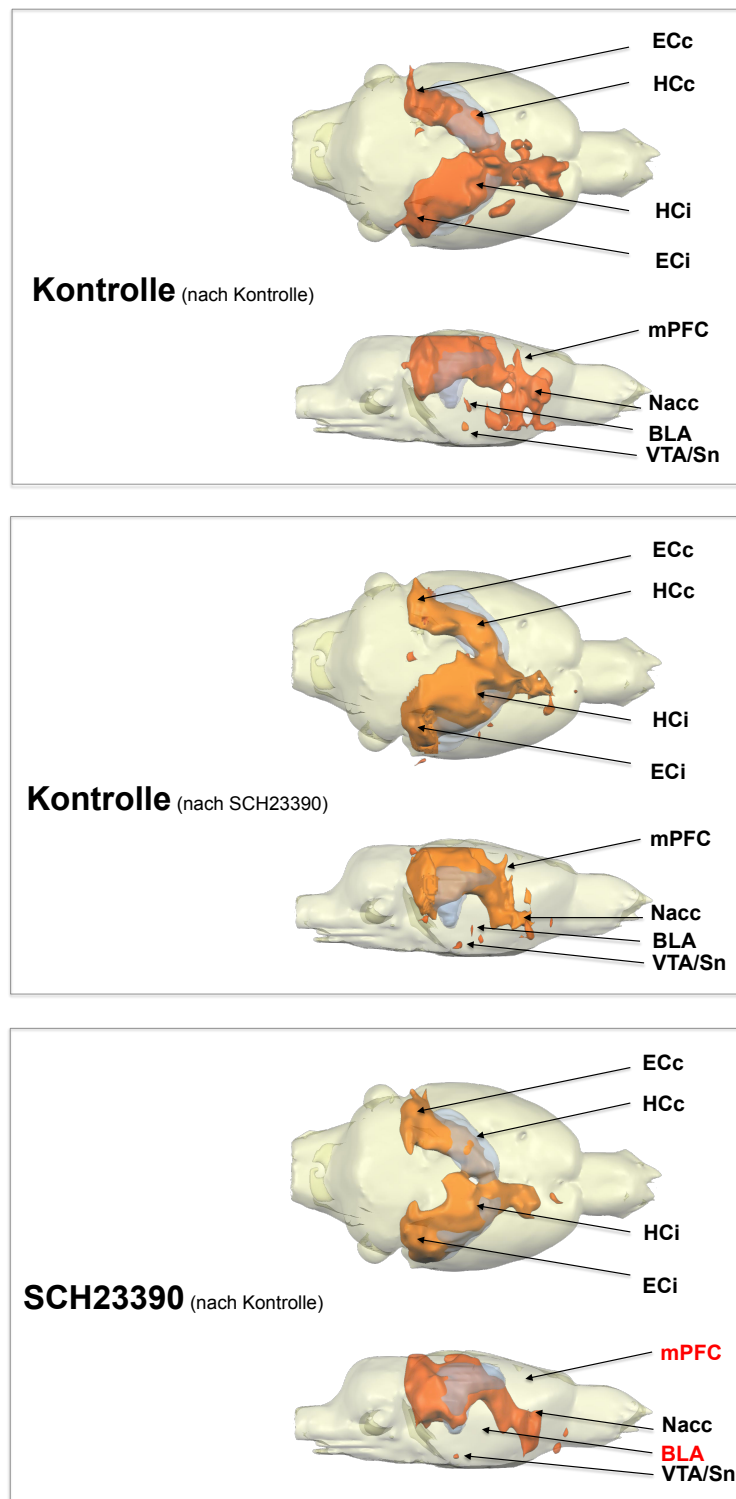


Abbildung 9.6 | Visualisierung der BOLD-Aktivierungsmuster der Experimentalgruppe SCH23390 und der pharmakologischen Kontrollgruppe während der Wiederholungsversuche kurzer Stimulationen mit 100 Pulsen des *Tractus perforans* im 3D-Modell des Rattengehirns. Die Klammern kennzeichnen die fMRT-Untersuchungen, die eine Woche an naiven Versuchstieren durchgeführt wurden. Die farblich markierten Regionen stellen signifikante Veränderungen im Vergleich zur fMRT-Untersuchung eine Woche zuvor dar.

Tabelle 9.3 | Elektrophysiologisch gemessene Parameter der Aktivität der Körnerzellen im DG und den dazugehörigen maximalen BOLD-Antworten in sich wiederholenden hochfrequenten Stimulationen des *Tractus perforans* mit 100 Pulsen in Anwesenheit des D<sub>1/5</sub>-Rezeptor-Antagonisten SCH23390 im Vergleich zur pharmakologischen Kontrollgruppe.

		<b>Gyrus dentatus (DG)</b>		<b>ipsilateraler Hippocampus (HCi)</b>		
		<i>PSA [mV]</i>	<i>Latenz [ms]</i>	<i>BOLD Anstieg</i>	<i>BOLD max [%]</i>	
<b>Kontrolle</b> <b>100 Hz 100 Pulse 8 s</b>	<i>Stimulationsphase 1</i>	4,75	4,71	0,36	3,46	
	<i>Stimulationsphase 2</i>	11,93	5,44	0,25	2,66	
	<i>Stimulationsphase 3</i>	6,67	5,27	0,40	4,17	
	<i>Stimulationsphase 4</i>	5,49	4,91	0,46	4,13	
	<i>Stimulationsphase 5</i>	5,21	4,73	0,44	4,65	
	<i>Stimulationsphase 6</i>	4,76	4,73	0,41	3,93	
	<i>Stimulationsphase 7</i>	4,39	4,62	0,39	3,55	
	<i>Stimulationsphase 8</i>	4,04	4,26	<b>0,44</b>	4,36	
	<i>MW [1-8]</i>	<b>5,90</b>	<b>4,83</b>	<i>MW [3-8]</i>	<b>0,39</b>	<b>4,13</b>
	<i>Stabw</i>	<b>2,56</b>	<b>0,37</b>	<i>Stabw</i>	<b>0,07</b>	<b>0,63</b>
<b>SCH23390</b> <b>100 Hz 100 Pulse 8 s</b>	<i>Stimulationsphase 1</i>	2,45	5,09	0,42	3,35	
	<i>Stimulationsphase 2</i>	10,35	5,47	0,25	2,33	
	<i>Stimulationsphase 3</i>	6,34	5,20	0,35	3,68	
	<i>Stimulationsphase 4</i>	2,56	4,83	0,46	4,37	
	<i>Stimulationsphase 5</i>	2,53	5,06	0,41	3,79	
	<i>Stimulationsphase 6</i>	2,55	5,05	0,43	3,75	
	<i>Stimulationsphase 7</i>	1,88	4,71	0,41	3,45	
	<i>Stimulationsphase 8</i>	1,10	5,09	0,37	3,78	
	<i>MW [1-8]</i>	<b>3,72</b>	<b>5,06</b>	<i>MW [3-8]</i>	<b>0,39</b>	<b>3,80</b>
	<i>Stabw</i>	<b>3,09</b>	<b>0,23</b>	<i>Stabw</i>	<b>0,06</b>	<b>0,58</b>

Zusammengefasst sind die aufgezeichneten Durchschnittswerte der experimentellen fMRT-Untersuchungen (n = 10 Tiere pro Gruppe). Die BOLD<sub>max</sub>-Werte stellen den prozentualen Anstieg der BOLD-Signalintensität und der BOLD<sub>Anstieg</sub> repräsentiert die Steigung zwischen Stimulationsbeginn und der maximal generierten BOLD-Signalintensität. Alle elektrophysiologischen Daten sind Mittelwerte der gemessenen Versuchstiere.

Tabelle 9.4 | Elektrophysiologisch gemessene Parameter der Aktivität der Körnerzellen im DG und den dazugehörigen maximalen BOLD-Antworten in sich wiederholenden hochfrequenten Stimulationen des *Tractus perforans* mit 100 Pulsen in Anwesenheit des NMDA-Rezeptor-Antagonisten MK801 im Vergleich zur pharmakologischen Kontrollgruppe.

		<b>Gyrus dentatus (DG)</b>		<b>ipsilateraler Hippocampus (HCi)</b>	
		PSA [mV]	Latenz [ms]	BOLD Anstieg	BOLD max [%]
<b>Kontrolle</b> <b>kontinuierliche Stimulation</b> <b>100 Hz 100 Pulse 8 s</b>	Stimulationsphase 1	5,30	4,61	0,36	3,16
	Stimulationsphase 2	12,72	5,16	0,24	2,34
	Stimulationsphase 3	8,74	5,30	0,47	4,21
	Stimulationsphase 4	4,55	5,26	0,40	3,79
	Stimulationsphase 5	2,92	4,90	0,49	3,77
	Stimulationsphase 6	2,38	4,81	0,47	4,11
	Stimulationsphase 7	2,00	4,86	0,38	3,45
	Stimulationsphase 8	1,51	4,80	0,45	3,87
	MW [1-8]	3,683	4,99	MW [3-8]	0,44
Stabw	2,690	0,25	Stabw	0,04	0,27
<b>MK801</b> <b>kontinuierliche Stimulation</b> <b>100 Hz 100 Pulse 8 s</b>	Stimulationsphase 1	2,642	4,60	0,26	2,55
	Stimulationsphase 2	5,900	5,49	0,28	2,73
	Stimulationsphase 3	1,464	6,00	0,39	3,52
	Stimulationsphase 4	0,693	6,20	0,36	3,30
	Stimulationsphase 5	0,498	6,38	0,33	3,13
	Stimulationsphase 6	0,732	6,73	0,37	2,86
	Stimulationsphase 7	0,689	6,83	0,34	2,76
	Stimulationsphase 8	0,794	6,77	0,32	2,63
	MW [1-8]	0,812	6,49	MW [3-8]	0,35
Stabw	0,335	0,77	Stabw	0,02	0,34

Zusammengefasst sind die aufgezeichneten Durchschnittswerte der experimentellen fMRT-Untersuchungen (n = 8 Tiere pro Gruppe). Die BOLD<sub>max</sub>-Werte stellen den prozentualen Anstieg der BOLD-Signalintensität und der BOLD<sub>Anstieg</sub> repräsentiert die Steigung zwischen Stimulationsbeginn und der maximal generierten BOLD-Signalintensität. Alle elektrophysiologischen Daten sind Mittelwerte der gemessenen Versuchstiere.

Tabelle 9.5 | Zusammenfassung der maximal generierten BOLD-Signalintensitätsänderungen aktivierter Regionen (ROI) der SCH23390-Experimentalgruppe im Vergleich zu pharmakologischen Kontrollgruppe während der kontinuierlichen Stimulation des *Tractus perforans*.

ROI	Kontrolle (MK801)		MK801		p-Wert (K-MK801)
	BOLD <sub>max</sub> [%]	BOLD Anstieg	BOLD <sub>max</sub> [%]	BOLD Anstieg	BOLD <sub>max</sub>
<b>HCI</b>	3,87 ± 0,6	0,44 ± 0,04	3,03 ± 0,34	0,35 ± 0,02	<b>0,013</b>
<b>HCc</b>	2,67 ± 0,91	0,28 ± 0,08	1,44 ± 0,11	0,12 ± 0,04	<b>0,017</b>
<b>ECi</b>	4,24 ± 0,70	0,50 ± 0,11	2,91 ± 0,29	0,30 ± 0,04	<b>0,003</b>
<b>ECc</b>	2,86 ± 0,21	0,33 ± 0,04	2,02 ± 0,22	0,19 ± 0,03	<b>0,001</b>
<b>mPFC</b>	0,86 ± 0,32	0,1 ± 0,05	0,37 ± 0,24	0,05 ± 0,04	<b>0,005</b>
<b>NAcc</b>	1,10 ± 0,28	0,09 ± 0,04	0,41 ± 0,14	0,019 ± 0,03	<b>&lt; 0,001</b>
<b>BLA</b>	2,24 ± 0,58	0,08 ± 0,03	0,37 ± 0,12	0,02 ± 0,08	<b>&lt; 0,002</b>
<b>VTA/Sn</b>	1,65 ± 0,32	0,15 ± 0,04	0,80 ± 0,26	0,06 ± 0,03	<b>&lt; 0,001</b>

Aufgeführt sind die Durchschnittswerte ± Stabw (n = 8 Versuchstiere pro Gruppe). Die BOLD<sub>max</sub>-Werte stellen den prozentualen Anstieg der BOLD-Signalintensitäten dar. Der BOLD<sub>Anstieg</sub> repräsentiert die Steigung der hämodynamischen Antwort vom Stimulationsbeginn bis zur maximal generierten BOLD-Signalintensität. Statistisch angegeben ist das Signifikanzniveau getestet durch Mann-Whitney-Test auf dem sich die maximale BOLD-Antwort in den aktivierten Regionen der Kontrollgruppe und der Experimentalgruppe unterscheiden. Die hervorgehobenen p-Werte zeigen Signifikanz-Veränderungen (p < 0.05).

Tabelle 9.6 | Zusammenfassung der Voxel-Anzahl signifikant aktivierter Regionen (ROI) während der hochfrequenten Stimulation des *Tractus perforans*.

ROI	20 Pulse			50 Pulse	100 Pulse			100 Pulse	
	8s	30s II	30s I	8s	8s	30s II	30s I	SCH23390	MK801
<i>HCI</i>	50 ± 20	134 ± 20	83 ± 13	233 ± 94	414 ± 88	625 ± 73	809 ± 92	517 ± 187	235 ± 91
<i>HCC</i>	2 ± 19	13 ± 20	10 ± 17	145 ± 73	220 ± 120	490 ± 57	574 ± 80	234 ± 178	43 ± 78
<i>ECi</i>	43 ± 20	84 ± 21	52 ± 8	183 ± 129	139 ± 25	95 ± 15	314 ± 31	90 ± 53	120 ± 40
<i>ECc</i>	21 ± 20	47 ± 20	29 ± 12	175 ± 119	132 ± 50	125 ± 18	306 ± 32	98 ± 56	74 ± 74
<i>mPFC</i>	11 ± 18	9 ± 19	0	45 ± 50	42 ± 10	65 ± 23	50 ± 8	<b>12 ± 16</b>	<b>0 ± 2</b>
<i>NAcc</i>	0	0	0	36 ± 30	50 ± 12	120 ± 12	95 ± 16	50 ± 26	<b>0 ± 1</b>
<i>VTA/Sn</i>	0	0	0	10 ± 8	24 ± 20	56 ± 12	58 ± 15	14 ± 13	<b>1 ± 2</b>

Aufgeführt sind die Durchschnittswerte ± Stabw aktivierter Voxel ( $n > 6$  Versuchstiere pro Gruppe). Statistisch angegeben ist das Signifikanzniveau getestet durch Mann-Whitney-Test auf dem sich die maximale BOLD-Antwort in den aktivierten Regionen der Kontrollgruppe und der Experimentalgruppe unterscheiden. Die hervorgehobenen p-Werte zeigen Signifikanz-Veränderungen ( $p < 0.05$ ).

## Erklärung

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

„Visualisierung aktivitätsabhängiger Interaktionen des Hippocampus mit subcorticalen und corticalen Regionen mit fMRT“

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

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

Magdeburg, d. 26. Mai 2015

Cornelia Helbing

# Lebenslauf

## Persönliche Daten:

Name: Cornelia Helbing  
Anschrift: Wittenberger Str. 26 A  
39106 Magdeburg  
geboren am: 12.10.1982  
in: Halle/Saale  
Staatsangehörigkeit: deutsch  
Familienstand: ledig

## Ausbildungsdaten:

09/1993 — 06/2002 Domgymnasium Merseburg (Abitur)  
Abschlussprädikat: „Gut“  
10/2002 — 5/2010 Martin-Luther-Universität Halle-Saale  
Studiengang: Diplom-Biologie  
Studienrichtung: Zoologie  
Erlangung des Akademischen Grades: Diplom-Biologin  
Abschlussprädikat: „sehr gut“

## Berufstätigkeit:

11/2010 — 02/2015 Wissenschaftliche Mitarbeiterin/Doktorandin am  
Leibniz-Institut für Neurobiologie Magdeburg  
Mitarbeit am DFG-Projekt: „*Untersuchungen von  
plastisch-adaptiven Prozessen im Hippokampus der Ratte  
und Maus mit Hilfe der funktionellen  
Magnetresonanztomographie*“  
(DFG-AN-200-06)  
seit 03/2015 Wissenschaftliche Mitarbeiterin/Doktorandin am  
Deutschen Zentrum für Neurodegenerative Erkrankungen

Magdeburg, d. 26.05.2015



## Publikationen

**Helbing C**, Werner G, Angenstein F (2013) Variations in the temporal pattern of perforant pathway stimulation control the activity in the mesolimbic pathway. *Neuroimage* 64C:43-60.

**Helbing C**, Brocka M, Scherf T, Lippert M, Angenstein F (submitted) The role of the mesolimbic dopamine system in the formation of BOLD responses in the medial prefrontal/anterior cingulate cortex during high-frequency stimulation of the rat perforant pathway.

Wilisch-Neumann A, Kliese N, Pachow D, Schneider T, Warnke JP, Braunsdorf WE, Bohmer FD, Hass P, Pasemann D, **Helbing C**, Kirches E, Mawrin C (2013) The integrin inhibitor cilengitide affects meningioma cell motility and invasion. *Clin Cancer Res* 19:5402-5412.