

Aus dem Institut für Neurophysiologie
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Die Langzeit-Depression in der lateralen Amygdala

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Tobias Benno Kaschel

aus Schwedt/Oder

Gutachter: 1. Priv.-Doz. Dr. rer. nat. D. Albrecht
2. Prof. Dr. D. Manahan-Vaughan
3. Prof. Dr. U. Zippel

Datum der Promotion: 03.09.2010

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1. Lernen, Angst und Emotionen – Die Rolle der Amygdala	1
1.2. Die Amygdala und ihre neuronalen Verbindungen	3
1.2.1. Lokalisation und Anatomie.....	3
1.2.2. Die funktionelle Organisation der Amygdala und ihre Verbindungen.....	5
1.3. Die afferenten und efferenten Verbindungen der lateralen Amygdala in der horizontalen Schnittpräparation.....	8
1.4. Die Bedeutung der Amygdala bei der Pawlowschen Konditionierung	9
1.5. Zelltypen und ihre synaptische Aktivität in der lateralen Amygdala	12
1.5.1. Zellen der lateralen Amygdala	12
1.5.2. Die synaptische Aktivität in der lateralen Amygdala	14
1.5.2.1. Langzeit – Potenzierung (LTP).....	14
1.5.2.2. Langzeit – Depression (LTD)	14
1.6. Ziele der Arbeit.....	18
2. Material und Methoden	20
2.1. Versuchstiere	20
2.1.1. Versuchstiere und Zuchtbedingungen	20
2.1.2. Anzahl und Herkunft	20
2.2. Anästhesie und Präparation	20
2.3. Versuchsanordnung	22
2.3.1. Messplatz.....	22
2.3.1.1. Messplatz für extrazelluläre Messungen	22
2.3.1.2. Messplatz für intrazelluläre Messungen	24
2.3.2. Elektroden.....	26
2.3.2.1. Reizelektroden	26
2.3.2.2. Ableitelektroden für extrazelluläre Ableitungen	26
2.3.2.3. Ableitelektroden für intrazelluläre Ableitungen	26
2.3.3. Versuchskammer	27

2.3.4.	ACSF	27
2.3.5.	Pharmakologie	28
2.3.5.1.	Picrotoxin	28
2.3.5.2.	APV	29
2.3.5.3.	MCCG	29
2.3.5.4.	CPPG	29
2.3.6.	Elektrodenpositionen	29
2.3.6.1.	Positionen der extrazellulären Ableitelektrode	29
2.3.6.2.	Position der intrazellulären Messelektrode	30
2.3.6.3.	Positionen der Reizelektroden	30
2.4.	Versuchsablauf	31
2.4.1.	Extrazelluläre Experimente und Reizparadigmen	31
2.4.1.1.	Input/Output-Kurven	31
2.4.1.2.	Paired-Pulse-Fazilitierung	32
2.4.1.3.	Long-Term-Depression	32
2.4.1.4.	Long-Term-Depression mit Reversal	32
2.4.2.	Intrazelluläre Experimente und Paradigmen	33
2.4.2.1.	Stabilisierung	33
2.4.2.2.	IV – Kurve	34
2.4.2.3.	Akkommodation	34
2.4.3.	Applikation der Pharmaka	34
2.5.	Auswertung und Statistik	35
2.5.1.	Auswertung der extrazellulären Daten	35
2.5.2.	Auswertung der intrazellulären Daten	36
2.5.3.	Statistik	37
3.	Ergebnisse	38
3.1.	Intrazelluläre Messungen	38
3.1.1.	Zellcharakterisierung	38
3.1.2.	EPSP – Amplituden bei intranukleärer Reizung	40
3.2.	Extrazelluläre Messungen	41
3.2.1.	Input/Output (I/O) – Verhalten	41
3.2.1.1.	Inputspezifisches I/O – Verhalten (Züchter: Charles-River)	41

3.2.1.2.	Der Einfluss des GABA-Antagonisten Picrotoxin auf das I/O-Verhalten ..	42
3.3.	Die LTD im lateralen Kern der Amygdala	43
3.3.1.	Ableitungen mit der scharfen Mikroelektrode.....	43
3.3.2.	Extrazelluläre Ableitungen	45
3.3.2.1.	Die LTD in Abhängigkeit vom Geschlecht der Versuchstiere	45
3.3.2.2.	Unterschiede innerhalb des Wistarstammes in Abhängigkeit vom Züchter– Der Einfluss GABAerger Interneurone auf die Induktion der LTD	47
3.3.2.3.	Nachweis der Inputspezifität der LTD	50
3.3.2.4.	Einfluss des Paradigmas auf die Induktion der LTD.....	52
3.3.2.5.	Reversibilität und Priming	53
3.3.2.6.	NMDA – Abhängigkeit der LTD.....	55
3.3.2.7.	Rolle der metabotropen Glutamatrezeptoren bei der Induktion der LTD ..	58
3.4.	Paired Pulse Fazilitierung (PPF) – Kurzzeitplastizität.....	60
3.4.1.	Abhängigkeit der PPF vom Geschlecht	60
3.4.2.	Einfluss der GABA-Rezeptoren auf das Paired Pulse – Verhalten bei intranukleärer Reizung.....	62
3.4.3.	NMDA – Abhängigkeit des Paired Pulse – Verhaltens bei der intranukleären Stimulation	63
3.4.4.	Paired Pulse – Verhalten bei Stimulation in der externen Kapsel	64
3.4.5.	Einfluss des entorhinalen Kortex auf die PPF in der lateralen Amygdala ...	65
4.	Diskussion	67
4.1.	Basale synaptische Transmission	67
4.2.	LTD im lateralen Kern der Amygdala	69
4.2.1.	Intrazelluläre Messungen.....	69
4.2.2.	Extrazelluläre Messungen.....	69
4.2.2.1.	Geschlechtsspezifische Unterschiede.....	69
4.2.2.2.	Einfluss der Haltungs- bzw. Zuchtbedingungen auf die LA – LTD	70
4.2.2.3.	Einfluss der GABAergen Inhibition auf die Induktion der LA – LTD.....	71
4.2.2.4.	Inputspezifität	73
4.2.2.5.	Paradigmenabhängigkeit der LA – LTD	74
4.2.2.6.	Reversal, Priming und Metaplastizität	74
4.3.	Mechanismen der LA – LTD.....	76

4.4.	Kurzzeitplastizität – Paired pulse Fazilitierung	77
4.5.	Prä- versus postsynaptische Mechanismen der LTD	79
4.6.	Ausblick.....	79
5.	Zusammenfassung	81
6.	Literatur.....	83
7.	Anhang.....	102
7.1.	Abkürzungsverzeichnis	102
7.2.	Publikationen.....	104
7.3.	Eidesstattliche Erklärung.....	105
7.4.	Lebenslauf.....	106
7.5.	Danksagung	107

1. Einleitung

1.1. Lernen, Angst und Emotionen – Die Rolle der Amygdala

Lernen, Angst und Emotionen sind Leistungen neuronaler Strukturen des zentralen Nervensystems. Dabei dient der Prozess des Lernens dem Erwerb neuen Verhaltens und dadurch einer besseren Anpassung an die Umwelt. Bei diesem Prozess, vor allem im Zusammenhang mit Angst und Emotionen, spielt die Amygdala eine wesentliche Rolle. Die Amygdala gehört neben dem Gyrus cinguli, dem Gyrus parahippocampalis und dem Hippocampus zum limbischen System (Rolls, 1992).

Die als klassische Konditionierung bekannt gewordene Form eines Lernmodells war die erste detaillierte Untersuchung und beschrieb dabei eine einfache Erscheinung des assoziativen Lernens. Dazu machte Iwan Petrowitch Pawlow 1927 zufällig die Entdeckung, dass ein neutraler Reiz (konditionierender Stimulus, CS) nach der wiederholten Präsentation mit einem unkonditionierten Reiz (US) in der Lage war, die gleiche Reaktion auszulösen wie der unkonditionierte Reiz allein (Blair et al., 2001; LeDoux, 2000). Die Konsequenz wäre eine charakteristisch ausgeprägte Änderung des Verhaltens und die Antwort des autonomen und endokrinen Systems während der Präsenz einer möglichen Gefahr (Blanchard and Blanchard, 1969; Bolles and Fanselow, 1982; Smith et al., 1980). Besonders die Angstkonditionierung erfolgt schnell und ist lang anhaltend, vorausgesetzt, sie erfolgt durch klar definierte Reize mit entsprechenden Reaktionen. Dieses Phänomen ist im Tierreich weit verbreitet. Dabei sind in verschiedenen Wirbeltierarten ähnliche neuronale Vernetzungen involviert. Daher ist die Angstkonditionierung eines der am besten untersuchten Modelle für Lernen und Gedächtnis (Davis and Lee, 1998; LeDoux, 2000; Maren and Fanselow, 1996; Rogan et al., 2001).

Die gleichzeitige Verarbeitung eines konditionierenden und eines unkonditionalen Reizes in Form von sensorischen Informationen in der Amygdala ist die Voraussetzung für die Angstkonditionierung (Campeau and Davis, 1995; Davis and Lee, 1998; Fanselow and LeDoux, 1999). Dieses wurde für die auditorische Angstkonditionierung am deutlichsten gezeigt. Dabei erreichen direkt auditorische Eingänge vom Thalamus und vom auditorischen Kortex den lateralen Kern der Amygdala. Dieser Kern dient dabei als sensorische Schnittstelle in der Amygdala (Doron and LeDoux, 1999;

McDonald, 1998; Pitkanen et al., 1997). Die laterale Amygdala sendet direkt und indirekt Efferenzen zum zentralen Kern der Amygdala (Pare et al., 1995b; Pitkanen et al., 1997), welche in Projektionen zum Hirnstamm und Hypothalamus umgeschaltet werden. Diese Regionen regulieren dann das Abwehrverhalten und die damit verbundenen autonomen und endokrinen Reaktionen in der Gegenwart eines aversiven Reizes. Weitere Verbindungen bestehen auch zum Hippocampus, in dem dann Gedächtnisinhalte generiert werden. Im Hippocampus findet im Gegensatz zur Amygdala die Verarbeitung der Stresssituation statt (Kim and Fanselow, 1992; Maren et al., 1997; Maren and Fanselow, 1997; Phillips and LeDoux, 1992).

Die Rolle der Amygdala bei den Prozessen der Angstkonditionierung konnte in mehreren Läsionsstudien, in denen die Amygdala gezielt zerstört wurde, nachgewiesen werden. Dabei führen diese Läsionen zu einem ausgeprägten und zum Teil kompletten Verlust einer großen Anzahl der Pawlowschen konditionalen Angstreaktionen, wie Schreckstarre, verstärktes Erschrecken, Analgesie, Hypertension und ultraschallartige Stimmbildung (Davis, 1992; Fanselow and Kim, 1994; Goldstein et al., 1996; Helmstetter, 1992; Kapp et al., 1979; LeDoux et al., 1988). Bei Läsionen der lateralen Amygdala kommt es zu einer verminderten Schreckstarre und Blutdruckreaktion bei der Präsentation des konditionierenden Reizes mit der gleichen Ausprägung wie in der Kontrollgruppe mit ungepaarter Präsentation von konditionierendem und unkonditionalem Stimulus (LeDoux et al., 1990). Das bedeutet, dass solche Läsionen nicht mit der Möglichkeit der Wahrnehmung von CS und US interferieren, sondern mit der Fähigkeit der Assoziation zwischen dem CS und dem US (Fanselow and LeDoux, 1999).

Weiterhin spielt die Amygdala eine wichtige Rolle bei der Verarbeitung sozialer Informationen von Gesichtsausdrücken. Dieses wurde in mehreren Studien an Menschen und Affen nachgewiesen (Adolphs et al., 1994; Adolphs et al., 1998; Adolphs et al., 1999; Adolphs et al., 2001; Adolphs, 2002; Blair et al., 1999; Morris et al., 1996). Dabei bediente man sich sogenannter emotionaler Basisgesichtsausdrücke (Ekman and Friesen, 1976), wie Glückseligkeit, Überraschung, Angst, Zorn, Ekel und Trauer. Bei einer bilateralen Amygdalaläsion war die Beurteilung der Vertrauenswürdigkeit und Zugänglichkeit anhand des Gesichtsausdruckes beeinträchtigt (Adolphs et al., 1998). Klinisch zeigt sich diese Erscheinung beim Urbach – Wiethe – Syndrom, bei dem zwar die kognitiven Fähigkeiten nur gering beeinträchtigt sind, es aber zu einer deutlichen Reduktion der Urteilsfähigkeit bezüglich des emotionalen Gesichtsausdrucks kommt

(Siebert et al., 2003). Bei Erwachsenen scheinen negative Gesichtsausdrücke die Amygdala stärker zu aktivieren als neutrale, wobei es hauptsächlich zur Aktivität der linken Amygdala kommt (Breiter et al., 1996).

Ebenfalls haben Patienten mit einer Temporallappenepilepsie oder Morbus Alzheimer pathologische Veränderungen im Bereich der Amygdala. So kommt es im Verlauf der frontotemporalen Demenz vom Typ Alzheimer auch zur Atrophie des Amygdaloidkomplexes (Boccardi et al., 2002). Weiterhin zeigen Patienten nach der Entfernung des Temporallappens aufgrund einer Temporallappenepilepsie deutliche Defizite bei der klassischen Konditionierung (LaBar et al., 1995; LaBar and LeDoux, 1996). Zu nennen wäre außerdem auch das Klüver – Bucy – Syndrom. Es wurde 1939 von Klüver und Bucy bei Rhesusaffen beschrieben, bei denen beide Temporallappen mit Uncus, Amygdala und Teilen des Hippocampus entfernt wurden (Klüver and Bucy, 1997). Danach zeigten diese Tiere emotionale Blindheit, extreme orale Tendenzen, abnormes Essverhalten, Esspräferenzen, Hypersexualität und einen Mangel an Angst und affektiven Reaktionen.

Diese klinischen Erscheinungen verdeutlichen die Komplexität der integrativen Funktion der Amygdala im neuronalen Netzwerk und ihre klinische Relevanz bei Störungen dieser Struktur.

1.2. Die Amygdala und ihre neuronalen Verbindungen

1.2.1. Lokalisation und Anatomie

Die Amygdala, umgangssprachlich auch Mandelkern genannt, befindet sich im ventralen, anteriomedialen Teil des Temporallappens. Der Name wurde von Karl Friedrich Burdach schon im 19. Jahrhundert geprägt, als er eine mandelförmige Struktur im menschlichen Temporallappen beschrieb (McDonald, 2003). Dieser Teil der Amygdala wird heute als basolateraler Komplex bezeichnet (Sah et al., 2003). Die meisten anatomischen Studien, die weitestgehend die architektonische Struktur und die anatomischen Verbindungen der Amygdala beschreiben, wurden am Rattengehirn durchgeführt (Alheid et al., 1995; De Olmos et al., 1985; McDonald, 1998; Pitkanen et al., 2000).

Kerngruppe	Kerne	Unterkerne, Divisionen
Tiefe Kerne	Lateraler Kern (LA)	Dorsolaterale Division (L _{dl}) Ventrolaterale Division (L _{vl}) Mediale Division (L _m)
	Basaler Kern (B)	Magnozelluläre Division (B _{mc}) Intermediäre Division (B _i) Parvizelluläre Division (B _{pc})
	Akzessorischer basaler Kern (AB)	Magnozelluläre Division (AB _{mc}) Parvizelluläre Division (AB _{pc})
Oberflächliche Kerne	Kern des lateralen olfaktorischen Traktes (NLOT)	
	Bed nucleus des akzessorischen olfaktorischen Traktes (BAOT)	
	Anteriorer kortikaler Kern (CO _p)	
	Medialer Kern (M)	Rostrale Division (Bailey et al., 1999) Zentrale Division Dorsaler Teil (M _{cd}) Ventraler Teil (M _{cv}) Kaudale Division (M _c)
	Periamygdaloider Kortex	Periamygdaloider Kortex (Malenka et al., 1989) Mediale Division (PAC _m) Sulcale Division (PAC _s)
	Posteriorer kortikaler Kern (CO _p)	
Andere amygdaloide Regionen	Anteriore amygdaloide region (AAA)	
	Zentraler Kern (CE)	Kapsuläre Division (CE _c) Laterale Division (CE _l) Intermediäre Division (Bordi and LeDoux, 1994) Mediale Division (Rogan and LeDoux, 1995)
	Amygdalohippokampale Region (AHA)	Mediale Division (AHA _m) Laterale Division (AHA _l)
	Interkalierte Kerne (I)	

Tab. 1.1.: Anatomische Aufteilung der Amygdala in ihre Kerngebiete, Kerne und Unterkerne (Pitkanen et al., 1997).

Die Amygdala kann nach verschiedenen Klassifikationsschemata eingeteilt werden. (Pitkanen et al., 1997) beschrieben 3 Kerngebiete mit 13 Kernen und entsprechenden Unterkernen, respektive Divisionen (Tab. 1.1.). Die Unterteilung erfolgte in eine tiefe, eine oberflächliche und eine zusätzliche Kerngruppe. Nach der Nomenklatur von Price et al. (1987) kann die Amygdala auch in einen basolateralen, kortexähnlichen und zentromedialen Teil eingeteilt werden. Dabei wurden die interkalierten Zellmassen und

die amygdalohippocampale Region separat benannt (Sah et al., 2003). Hierbei entspricht die basolaterale Kerngruppe den tiefen Kernen und die kortexähnlichen Kerne der oberflächlichen Kerngruppe.

1.2.2. Die funktionelle Organisation der Amygdala und ihre Verbindungen

Die funktionelle Organisation der Amygdala begründet sich entsprechend ihrer evolutionären Entwicklung. Da gibt es mehrere Theorien. Einige Autoren sehen im amygdaloiden Komplex das erweiterte Kontinuum im basalen Telenzephalon, das rostral die kaudale Spitze des Mantelteils des Nucleus accumbens erreicht (Alheid et al., 1995; Martinez-Garcia et al., 2002). Andere unterscheiden aufgrund der Verbindungen, der Chemoarchitektur und des heterogenen Ursprungs verschiedene, nicht verwandte, anatomische Strukturen, mit pallialen und subpallialen Anteilen anhand vier verschiedener funktioneller Systeme. Diese wären das olfaktorische, das akzessorische, olfaktorische (vomeronasale), das autonome und das frontotemporale, kortikale System (Puelles et al., 2000; Swanson and Petrovich, 1998). Dabei setzt sich der palliale Anteil aus der oberflächlichen Gruppe mit hauptsächlich laminärer Organisation - daher auch kortikale Amygdala genannt - und der tiefen Gruppe bzw. basolateralen Amygdala zusammen. Die subpalliale Amygdala setzt sich aus einer striatalen Komponente der zentralen Amygdala und einer subpallialen Komponente der medialen Amygdala zusammen, die teilweise auch palliale Elemente enthält (Martinez-Garcia et al., 2002; Medina et al., 2004).

Die Amygdala ist, wie oben gezeigt, anatomisch heterogen (Goosens and Maren, 2001). Sie setzt sich dabei aus verschiedenen Kernen zusammen und erhält verschiedene sensorische Eingänge (Pitkanen et al., 1997; Swanson and Petrovich, 1998). Dabei ist die Vernetzung innerhalb der Amygdala sehr komplex und soll am Beispiel des lateralen Kerns der Amygdala näher erklärt werden. Für das weitere Verständnis gibt es mehrere Übersichtsartikel, die die komplizierte Architektur der Amygdala sehr detailliert und umfassend beschreiben (Pitkanen et al., 1997; Pitkanen and Amaral, 1998; Sah et al., 2003).

Bei der Angstkonditionierung durch visuelle und auditorische, konditionierende Stimuli spielt der basolaterale Komplex, eingeschlossen die laterale, die basolaterale und basomediale Amygdala sowie die zentrale Amygdala, eine wesentliche Rolle (Campeau

and Davis, 1995). Afferenzen mit auditorischem Inhalt gelangen vom medialen Corpus geniculatum des Thalamus zur Amygdala (Quirk et al., 1997) und terminieren an Neuronen des lateralen Kerns (Doron and LeDoux, 1999; LeDoux et al., 1990; LeDoux et al., 1991), nicht aber im zentralen, basomedialen oder basolateralen Kern (LeDoux et al., 1990; LeDoux et al., 1991). Weitere thalamische Strukturen, die zur lateralen Amygdala projizieren, sind der Nucleus suprageniculatum und der posteriore intralaminare Kern, die Afferenzen vom inferioren Colliculus und dem Rückenmark erhalten (Bordi and LeDoux, 1994). Neuronen des auditorischen Kortex übertragen ebenfalls ihre sensorische Information zur Amygdala (Romanski and LeDoux, 1992). Diese projizieren zu den gleichen amygdaloiden Kernen wie die Neurone des medialen Corpus geniculatum (LeDoux et al., 1991). Dabei sind die terminalen kortikalen Eingänge topografisch organisiert (Romanski et al., 1993).

Die intranukleären Divisionen der lateralen Amygdala unterscheiden sich in ihrem Antwortverhalten auf auditorische und somatosensorische Reize. Die dorsale Division reagiert sowohl auf auditorische und somatosensorische Stimuli, die ventrolaterale nur auf somatosensorische Reize und die ventromediale Division auf keine dieser Stimulationsarten. Daraus ist zu schlussfolgern, dass die dorsale, laterale Amygdala eine Konvergenzstelle für auditorische und somatosensorische Reize darstellt (Romanski et al., 1993).

Weitere Eingänge erhält die Amygdala vom präfrontalen Kortex. Dieser wird in mehrere Bereiche unterteilt, die zu unterschiedlichen Kernen und Divisionen der Amygdala projizieren. Davon gelangen hauptsächlich Afferenzen vom prälimbischen und infralimbischen Kortex sowie Teilen der Inselrinde zur lateralen Amygdala (McDonald et al., 1996).

Eine wesentliche Verbindung der lateralen Amygdala besteht zum zentralen Kern der Amygdala. Dabei erhält die laterale Division hauptsächlich direkte Eingänge des lateralen Kerns. Projektionen zur medialen Division wurden nicht gefunden (Smith and Pare, 1994). Die intrinsischen Verbindungen der zentralen Amygdala nehmen hauptsächlich von der lateralen Division ihren Ursprung und projizieren zur medialen und kapsulären Division. Extrinsische Verbindungen der zentralen Amygdala zu anderen Amygdalakernen sind gering. Die spärlichen reziproken Verbindungen scheinen geringen Einfluss auf die Regulation der anderen Kerne zu haben. Eher ist davon auszugehen, dass die zentrale Amygdala auf die Stimulation von anderen

Amygdalakernen reagiert und den Hauptausgang der Amygdala zum Hirnstamm und Hypothalamus darstellt (Jolkkonen and Pitkanen, 1998).

Weiterhin sendet die laterale Amygdala Projektionen zum basalen und akzessorischen basalen Kern (Pitkanen et al., 1997; Pitkanen et al., 2000). Der basale und der akzessorische Kern erhalten hauptsächlich kortikale Eingänge und beeinflussen größtenteils die mediale Division der zentralen Amygdala. (Abb. 1.1.) Dort modulieren sie die autonome Antwort des amygdaloiden Komplexes zum Hypothalamus und zum Hirnstamm (Pitkanen et al., 1997; Pitkanen et al., 2000; Sah et al., 2003).

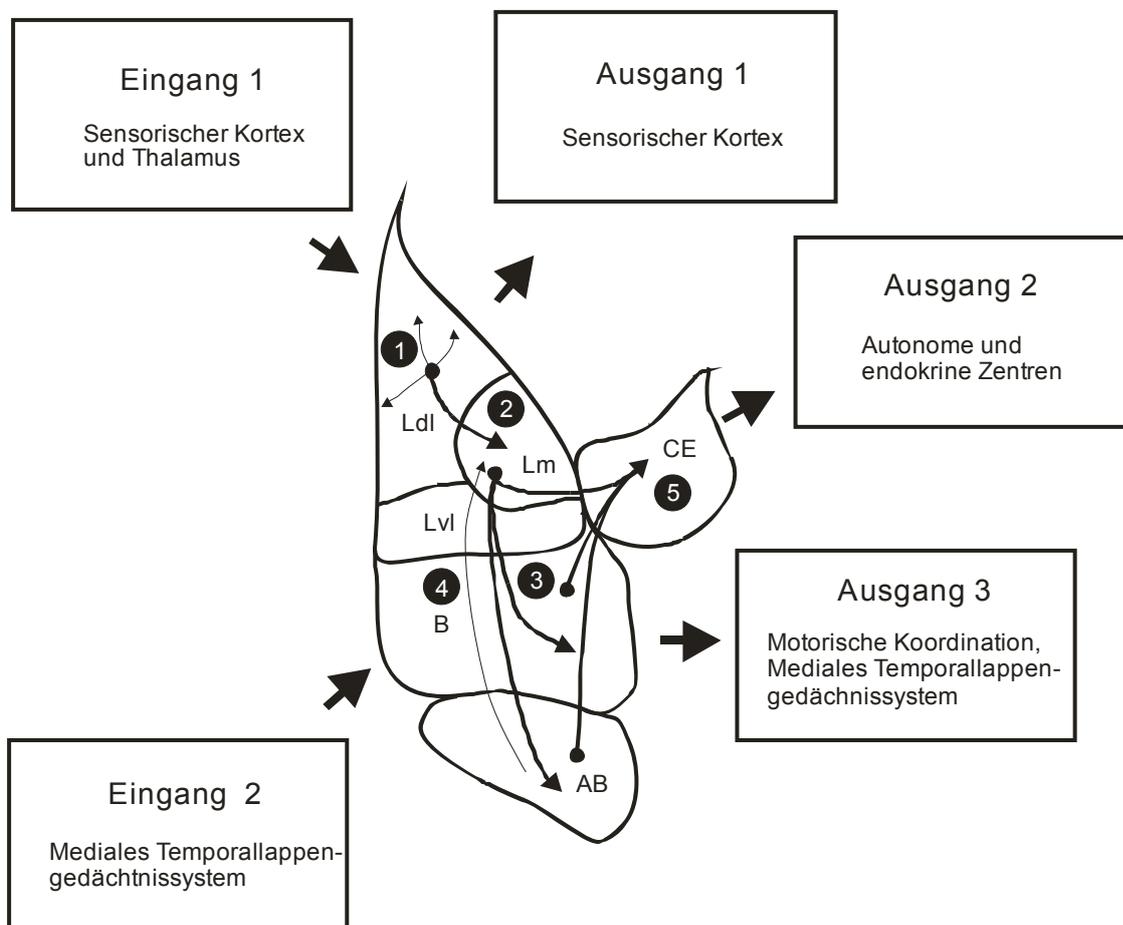


Abb. 1.1.: Darstellung der tiefen Amygdalakerne und der zentralen Amygdala mit ihren wesentlichen Ein- und Ausgängen und intraamygdaloiden Verbindungen. Die Eingänge werden zum Teil intradivisional (1) und interdivisional (2) in der Amygdala verarbeitet und dann parallel an andere Kerne mit ihren Divisionen weitergeleitet (3). Dabei existieren häufig reziproke Verbindungen (4). Die zentrale Amygdala (CE) bildet neben der medialen Amygdala, hier nicht dargestellt, den Hauptausgang, zu dem mehrere Projektionen anderer Amygdalakerne konvergieren (5). Modifiziert nach Pitkanen 2000.

Abschließend lässt sich die Amygdala vereinfacht in einen Eingangskomplex mit den basolateralen und kortikalen Kernen und in eine Ausgangsseite mit zentraler und medialer Amygdala einteilen (Pitkanen et al., 2000).

1.3. Die afferenten und efferenten Verbindungen der lateralen Amygdala in der horizontalen Schnittpräparation

Die Amygdala steht in starker und reziproker Beziehung zum perirhinalen, entorhinalen, parahippocampalen Kortex sowie zum Hippocampus (McDonald, 1998; Pitkanen et al., 2000). Diese Strukturen gehören zum System des deklarativen Langzeitgedächtnisses (Milner et al., 1998). Dabei erhält die mediale Division die stärksten Eingänge vom perirhinalen Kortex (Shi and Cassell, 1999). Der entorhinale Kortex scheint zu den meisten Amygdalakernen zu projizieren (McDonald and Mascagni, 1997).

Vom Subiculum gelangen Projektionen des Hippocampus zur Amygdala (Canteras and Swanson, 1992). Dabei erhält zwar der basale Kern den Hauptanteil, aber auch die anderen Kerne erhalten Afferenzen des Hippocampus. Die meisten Verbindungen sind auch hier reziprok.

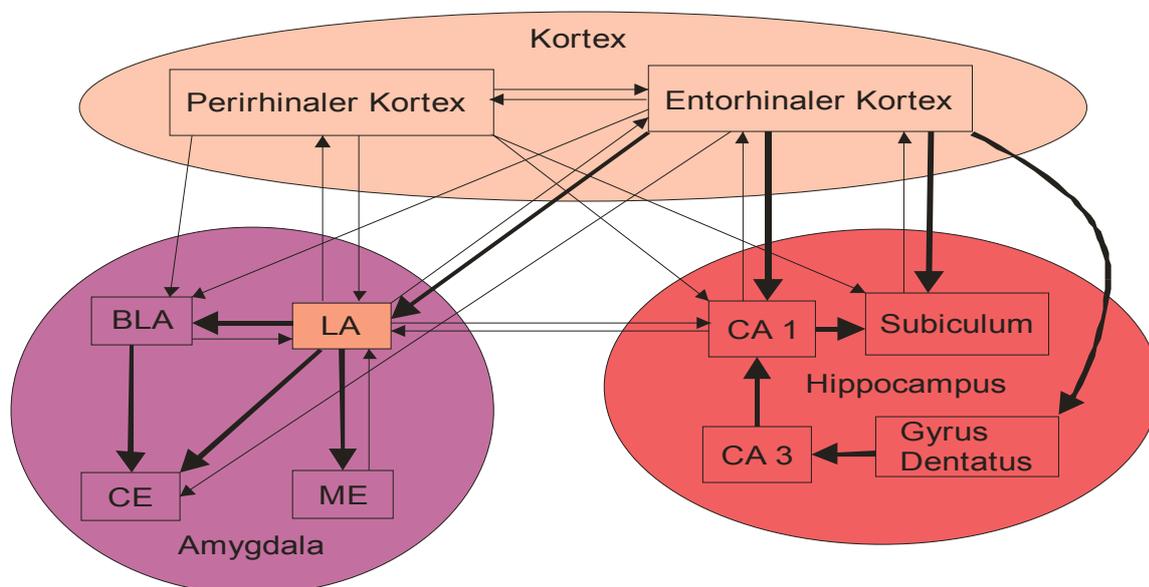


Abb. 1.2.: Schematische Darstellung der Projektionen zwischen dem Hippocampus, der Amygdala, dem perirhinalen und dem entorhinalen Kortex im horizontalen Hirnschnitt. Modifiziert nach von Bohlen und Halbach and Albrecht 2002.

In Tracerstudien wurden diese Verbindungen zwischen der CA1 – Region des Hippocampus und der lateralen Amygdala nachgewiesen (van Groen and Wyss, 1990; von Bohlen und Halbach and Albrecht, 1998; von Bohlen und Halbach and Albrecht, 2002). Funktionell wurden diese auch in elektrophysiologischen Studien für den Hippocampus (Maren and Fanselow, 1995) sowie für den entorhinalen Kortex untersucht (Funahashi et al., 2000). Der entorhinale Kortex nimmt als Bindeglied zwischen dem Neokortex und dem Hippocampus eine besondere Rolle ein (Phillips and LeDoux, 1995). Die Abbildung 1.2. verdeutlicht die komplexe Vernetzung dieser Strukturen.

In dieser Arbeit wurden ausschließlich horizontale Hirnschnitte mit diesen hier beschriebenen Strukturen verwendet. Thalamische Verbindungen zur Amygdala sind bei dieser Präparation nicht erhalten geblieben.

1.4. Die Bedeutung der Amygdala bei der Pawlowschen Konditionierung

Seitdem sich Pawlow mit der Erscheinung der klassischen Konditionierung beschäftigt hatte, ist viel Zeit vergangen und in den letzten Jahren wurde die Rolle der Amygdala bei dieser Form des Lernens immer mehr untersucht. Neben Pawlow führten Watson und Rayner 1920 (Watson and Rayner, 1920) das Experiment „Little Albert“ durch und beschrieben einen ähnlichen Sachverhalt wie Pawlow, nur am Menschen.

Die klinische Relevanz einer Schädigung der Amygdala wurde oben ausführlich beschrieben. Dabei nimmt die Amygdala mit ihren Subsystemen eine einzigartige Rolle bei der Angstkonditionierung ein (Davis et al., 1994; Fanselow et al., 1994; LeDoux, 1995). Der basolaterale Komplex erhält Afferenzen von kortikalen und subkortikalen Regionen. Dabei kommt es zur Konvergenz der Informationen, sodass vermutlich hier der Ort der Assoziation zwischen CS und US ist. Im Gegensatz dazu steht die zentrale Amygdala, die Projektionen vom basolateralen Komplex erhält und die angstbedingten Reaktionen durch Projektionen zum lateralen Hypothalamus und zum periaquäduktalem Grau generiert (Campeau and Davis, 1995; Maren, 1996). Daher ist die Amygdala ideal, um sensorische Informationen zu integrieren und zu assoziieren und motorische Programme während der Angstkonditionierung zu triggern (Maren and Fanselow, 1996).

Für auditorische CS und entsprechende US stellt die laterale Amygdala den ersten Ort der Konvergenz dar (Quirk et al., 1995). Der laterale Kern erhält direkte Afferenzen vom Thalamus und vom Kortex und verarbeitet diese als sensorisches Interface (Doron and LeDoux, 1999; McDonald, 1998; Pitkanen et al., 1997). Dabei zeigen die Neurone der lateralen Amygdala Charakteristiken der „Hebbschen“ – Plastizität (Blair et al., 2001). Dieses Phänomen wurde von Donald Olding Hebb 1949 beschrieben und geht davon aus, dass ein schwacher synaptischer Input, gepaart mit einem starken Input, verstärkt werden kann. Es gibt mehrere Indizien, die die Schlüsselrolle der lateralen Amygdala für die „Hebbsche“ – Plastizität belegen (Blair et al., 2001). Schäden der lateralen Amygdala verhindern die Angstreaktion auf einen auditorischen CS (Amorapanth et al., 2000; Goosens and Maren, 2001; LeDoux et al., 1990; Nader et al., 2001). Weiterhin zeigten pharmakologische Inaktivierungen der LA das gleiche Phänomen, dass die Akquisition auditorischer Angstreaktionen verhindert wurde. Dieses wurde für den GABA – Agonisten Muscimol (Helmstetter and Bellgowan, 1994; Muller et al., 1997; Wilensky et al., 1999; Wilensky et al., 2000) sowie für den NMDA – Rezeptor (Fanselow et al., 1994; Walker and Davis, 2002) gezeigt. Romanski et al. und Blair and LeDoux demonstrierten, dass der auditorische, konditionierende Stimulus und der nozizeptive, unkontingente Reiz zu einzelnen Neuronen in der LA konvergieren (Blair and LeDoux, 2000 Romanski et al., 1993). Das bedeutet, dass die neuronale Antwort in der LA auf einen auditorischen CS verstärkt wird, wenn der CS gepaart mit einem US zusammentrifft (Collins and Pare, 2000; McKernan and Shinnick-Gallagher, 1997; Quirk et al., 1995; 1997; Repa et al., 2001; Rogan et al., 1997). Weiterhin ist bekannt, dass für die Überführung vom Kurzzeit- zum Langzeitgedächtnis Proteinsynthesen notwendig sind (Bailey et al., 1999; Davis and Squire, 1984; Dudai, 2004; Goelet et al., 1986; Kandel, 1997). Durch gezielte Blockade dieser Proteinsynthese in den Strukturen der Amygdala konnte ebenfalls die Ausbildung eines Langzeitgedächtnisses für die auditorische Angstkonditionierung verhindert werden (Bailey et al., 1999; Nader et al., 2000; Schafe and LeDoux, 2000).

Die zuvor genannten Indizien belegen die wichtige Rolle der Amygdala bei der Generierung von Gedächtnisinhalten. Bisher ist man davon ausgegangen, dass die Korrelate für das Angstgedächtnis direkt in der Amygdala gebildet werden. Es gibt aber auch andere Publikationen, in denen der Amygdala eher eine modulierende Rolle bei der Akquisition von Langzeitgedächtnis in anderweitigen Strukturen, wie Hippocampus, Striatum oder Neokortex zugesprochen wird (Cahill et al., 1999; Cahill and McGaugh,

1998; McGaugh et al., 1996; Vazdarjanova and McGaugh, 1999). Dabei gehen diese Arbeiten hauptsächlich von dem Einfluss adrenerger und glukokortikoider Stresshormone aus.

Derzeit existieren verschiedene Modelle der amygdaloiden Plastizität in der Angstkonditionierung (Pare et al., 2004). Unter den anatomischen Gesichtspunkten wurde schon auf die Verbindungen der lateralen Amygdala als Konvergenzzentrum und der zentralen Amygdala als Bindeglied zum Hirnstamm und Hypothalamus eingegangen. Das serielle Modell (Abb. 1.3. A), $LA > CE > \text{Hirnstamm}$, lässt sich aufgrund der anatomischen Tatsachen (Krettek and Price, 1978; Pitkanen et al., 1995; Pitkanen and Amaral, 1998; Smith and Pare, 1994) nur schwer erklären. Daher ist eher von einer parallelen Vernetzung auszugehen (Balleine and Killcross, 2006; Pare et al., 2004). Es gibt zwei mögliche Lösungen für dieses Problem, zum einen über interdivisionale Verbindungen in der zentralen Amygdala (Jolkkonen and Pitkanen, 1998; Petrovich and Swanson, 1997) und zum anderen existieren Projektionen des lateralen Kerns zum basalen Kern (Krettek and Price, 1978; Pitkanen et al., 1995; Smith and Pare, 1994), der wiederum zur medialen, zentralen Amygdala projiziert (Pare et al., 1995b; Petrovich and Swanson, 1997; Pitkanen et al., 1995). Der basale Kern scheint aber keine essenzielle Rolle in der Angstkonditionierung zu spielen (Pare et al., 2004).

Eine weitere Möglichkeit der Verbindung von der lateralen Amygdala zur zentralen Amygdala besteht über die Projektionen zu und von den interkalierten Zellmassen (Li et al., 1998) mit hauptsächlich GABAergen Neuronen zwischen dem basolateralen Komplex und der zentralen Amygdala (McDonald and Augustine, 1993; Pare and Smith, 1993). Dies setzt eine parallele Projektion vom Thalamus zur medialen, zentralen Amygdala voraus (Abb. 1.3. B). Diese wurden vom posterioren Kern des Thalamus, einer benachbarten Struktur der posterioren interlaminaren Kerne, nachgewiesen (LeDoux et al., 1987; Linke et al., 2000; Turner and Herkenham, 1991). Daraus ist abzuleiten, dass sowohl die laterale als auch die zentrale Amygdala kritisch in der Angstkonditionierung involviert sind (Pare et al., 2004).

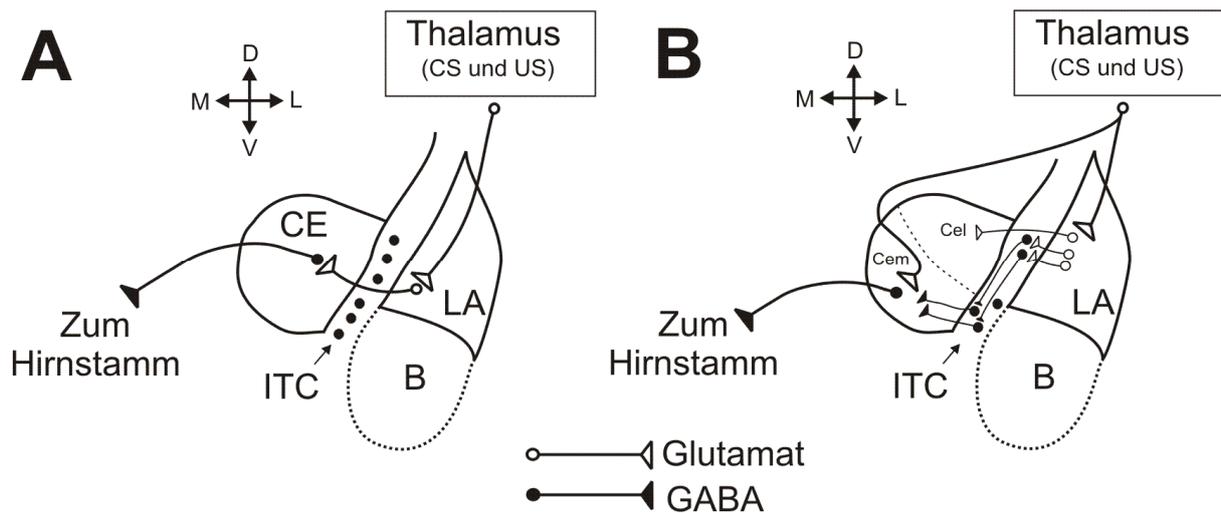


Abb. 1.3.: **A:** Schema des seriellen Modells der Angstkonditionierung. Dargestellt ist die direkte Verbindung von der lateralen Amygdala (LA) über die zentrale Amygdala (CE) zum Hirnstamm. Dieses Modell ist sehr einfach und lässt die intranukleäre Aufteilung und Eingänge außer Acht. **B:** Schema der parallelen Verarbeitung der auditorischen Angstkonditionierung innerhalb der Amygdala, mit der lateralen Amygdala als Konvergenzzentrum für thalamische und kortikale (nicht dargestellt) Eingänge und der medialen, zentralen Amygdala (Rogan and LeDoux, 1995) als Ausgangspunkt für die angstbedingten Reaktionen. Diese Form der Informationsverarbeitung entspricht eher den neueren Erkenntnissen. (Modifiziert nach Paré et al. 2004). CS, konditionierender Reiz; US, nicht konditionierender Reiz; ITC, interkalierten Zellmassen; CelL, laterale Division der zentralen Amygdala; B, basaler Kern der Amygdala D, dorsal; L, lateral; V, ventral; M, medial.

1.5. Zelltypen und ihre synaptische Aktivität in der lateralen Amygdala

1.5.1. Zellen der lateralen Amygdala

Die Neurone der lateralen Amygdala lassen sich nach elektrophysiologischen und morphologischen Gesichtspunkten einteilen. Washburn and Moises (1992) untersuchten anhand der elektrophysiologischen Eigenschaften bei intrazellulären Messungen und der Identifizierung an Lucifer-Yellow gefärbten Zellen die Neuronenarten in der basolateralen Amygdala. Sie fanden heraus, dass es sich bei 93% der Zellen um Pyramidenzellen handelte. Außerdem beschrieben sie zwei weitere Gruppen von Zellen, zum einen neurogliaforme Typ II - Zellen und zum anderen „spine“lose oder „spine“arme sternförmige Typ III - Zellen. Diese zeigten in immunhistochemischen Untersuchungen Charakteristika von GABAergen Interneuronen (McDonald, 1985). Eine ähnliche Einteilung erfolgte auch in zuvor

durchgeführten Studien mit Golgifärbung (McDonald, 1982; 1984; Millhouse and De Olmos, 1983). Dabei ist die Verteilung dieser Zelltypen abhängig von der Division und den interdivisionären Verbindungen (McDonald, 1984). Rainnie et al. (1993) beschrieben ebenfalls anhand der Morphologie und aufgrund von intrazellulären Messungen 3 Zelltypen in der basolateralen Amygdala. Die Zellen des basolateralen Komplexes sind nicht wie in den kortikalen Strukturen, wie dem Hippocampus in laminaren Schichten, sondern gemischt und in anscheinend zufälligen Mustern angeordnet (Pare and Gaudreau, 1996).

Der laterale Kern der Amygdala unterscheidet sich vom basolateralen Kern, da im lateralen Kern nur 2 Zelltypen vorherrschen. Zum einen handelt es sich um Pyramidenzellen mit Aktionspotenzialen längerer Dauer und einer Spikefrequenzadaptation und zum anderen um Interneurone mit hoher Entladungsrate und keiner Spikefrequenzadaptation (Mahanty and Sah, 1998; Pare et al., 1995a). Einige Studien an Meerschweinchen und Katzen deuten darauf hin, dass es 2 Typen von Pyramidenzellen gibt, die sich aufgrund ihrer intrinsischen (Oszillations-)eigenschaften während der Stromapplikation unterscheiden (Pape et al., 1998; Pare et al., 1995a). An Ratten wurden sogar 4 Zelltypen von nicht-interneuronalen Zellen an der Grenze zur externen Kapsel beschrieben (Faulkner and Brown, 1999). Faber et al. (2001) stellten fest, dass sich Pyramidenzellen der lateralen Amygdala morphologisch, in Bezug auf die Form und Verzweigungen ihrer Dendriten, deutlich von denen des Kortex und dem Hippocampus unterscheiden. Dabei zeigten sie keine bevorzugte Orientierung ihrer Axone. Die Dendriten der Pyramidenzellen reichen teilweise bis in die externe Kapsel oder sogar darüber hinaus (Faber et al., 2001; Millhouse and De Olmos, 1983); von Bohlen und Halbach and Albrecht, 2002).

Die zweite Zellpopulation in der lateralen Amygdala sind die inhibitorischen Interneurone mit einem Anteil von ca. 25 % (McDonald and Augustine, 1993). Diese Zellen erhalten Eingänge vom Thalamus und Kortex sowie von exzitatorischen Zellen der lateralen Amygdala (Smith et al., 2000; Szinyei et al., 2000; Woodson et al., 2000). Sosulina et al. (2006) unterteilten die Population der Interneurone in vier Klassen, entsprechend der Frequenzadaptation und der Präsenz von verschiedenen Peptidhormonen wie dem vasoaktiven intestinalen Peptid, Neuropeptid Y oder Somatostatin.

1.5.2. Die synaptische Aktivität in der lateralen Amygdala

1.5.2.1. Langzeit – Potenzierung (LTP)

Die meisten Studien zur synaptischen Aktivität beziehen sich auf die LTP (Langzeit-Potenzierung). Daher ist dieses Phänomen relativ gut untersucht und oft beschrieben worden. Es existieren zahlreiche *in vivo* (Clugnet and LeDoux, 1990; Maren and Fanselow, 1995; Rogan and LeDoux, 1995) sowie *in vitro* Untersuchungen (Aroniadou-Anderjaska et al., 2001; Chapman et al., 1990; Chapman and Bellavance, 1992; Huang and Kandel, 1998; Weisskopf et al., 1999) im basolateralen Komplex der Amygdala. Dabei wurden entscheidende Erkenntnisse der Beteiligung verschiedener Rezeptorsysteme gewonnen. Bliss and Collingridge (1993) beschrieben die LTP als synaptisches Modell der Gedächtnisgenerierung. Die LTP führt zu einer anhaltenden Amplitudenvergrößerung der Feldpotenziale bzw. EPSPs.

Der entscheidende Neurotransmitter ist Glutamat, der vor allem AMPA- und NMDA-Rezeptoren aktiviert. Eine wesentliche Voraussetzung für die LTP-Induktion ist ein Anstieg der postsynaptischen Kalziumkonzentration. Dabei führt die Depolarisation der postsynaptischen Membran zur Entfernung des Magnesiumblocks des NMDA-Rezeptors (Malenka et al., 1989) mit nachfolgendem Einstrom von Kalziumionen durch den Rezeptor, was daraufhin weitere Signalkaskaden triggert (Malenka and Nicoll, 1999).

Andere Studien deuten darauf hin, dass es neben dieser klassischen Form der LTP auch NMDA – unabhängige Formen gibt (Malenka and Nicoll, 1999), z. B. über spannungsabhängige Kalziumkanäle (Drephal et al., 2006; Wyllie et al., 1994) oder über kalziumpermeable AMPA – Rezeptoren (Mahanty and Sah, 1998).

1.5.2.2. Langzeit – Depression (LTD)

Die hier vorliegende Studie beschäftigt sich mit der LTD in der lateralen Amygdala. Insgesamt existieren nur wenige Arbeiten, die die LTD direkt in der lateralen Amygdala beschreiben (Albrecht, 2007; Albrecht and von Bohlen und Halbach, 2008; Azad et al., 2008; Heinböckel and Pape, 2000; Kaschel et al., 2004; Tchekalarova and Albrecht, 2007; Yu et al., 2008).

Die meisten Erkenntnisse zum Phänomen der Langzeit-Depression (LTD) wurden in Experimenten im Hippocampus gewonnen. Bei einer LTD kommt es zu einer anhaltenden Verminderung der Feldpotenzialamplitude oder der EPSPs. Lynch et al. gehörten zu den Ersten, die die heterosynaptische Depression in der CA 1-Region des Hippocampus untersuchten (Lynch et al., 1977). Dabei trat die LTD bei dem Versuch der LTP – Induktion auf. Eine homosynaptische Depression wurde anfangs beobachtet, nachdem durch eine LFS (Niederfrequenz – Stimulation) eine stabile LTP umgekehrt wurde (Barrionuevo et al., 1980), was man heute auch als Depotenzierung bezeichnet (Bashir and Collingridge, 1994; Kemp and Bashir, 2001). Die erste homosynaptische LTD ohne vorherige LTP-Induktion wurde in der CA1-Region beschrieben (Dudek and Bear, 1992; Mulkey and Malenka, 1992). Die LTD ist in verschiedenen Hirnarealen NMDA – abhängig. Außer für die CA1 – Region des Hippocampus konnte die LTD auch im visuellen Kortex (Kirkwood and Bear, 1994), im somatosensorischen Kortex (Feldman et al., 1998) und im perirhinalen Kortex (Cho et al., 2000; Massey et al., 2004; Ziakopoulos et al., 1999) nachgewiesen werden.

Für die synaptische Transmission in der lateralen Amygdala haben NMDA- und AMPA-Rezeptoren einen wesentlichen Einfluss (Farb and LeDoux, 1997; Weisskopf and LeDoux, 1999). NMDA-Rezeptoren sind wie AMPA- und Kainat- Rezeptoren Ionenkanalrezeptoren und bestehen aus einer heterotetrameren Struktur. Dabei ist die NR2-Untereinheit mit 4 Subtypen (A – D) entscheidend für die Glutamatbindung (Dingledine et al., 1999). In Embryonen kommen nur NR2B- und NR2D-Untereinheiten vor. Dagegen ist die NR2A-Untereinheit hauptsächlich im adulten Gehirn vorherrschend. Dabei beschränkt sich die NR2B-Expression auf das Vorderhirn und die NR2C-Untereinheiten sind im Kleinhirn vertreten (Neyton and Paoletti, 2006). An rekombinanten NR1 – NR2 – Kanälen wurde eine ähnliche Kalziumpermeabilität gemessen, aber es gab Unterschiede im spannungsabhängigen Magnesiumblock sowie in den Offset-Zeitkonstanten (Monyer et al., 1994). Somit ist die Untereinheitenexpression wahrscheinlich verantwortlich für eine veränderte Abhängigkeit der LTD vom NMDA-Rezeptor in verschiedenen Altersstufen (Kemp and Bashir, 2001; Okabe et al., 1998). Außerdem sind die Subpopulationen bestimmend für die Ausbildung der synaptischen Plastizität. Das heißt, die NR2A-Untereinheiten bedingen eher eine LTP und die NR2B-Untereinheiten sind für die LTD entscheidend (Liu et al., 2004; Massey et al., 2004). In unserer Arbeitsgruppe konnten wir inzwischen zeigen, dass sowohl die

NR2A- als auch die NR2B-Untereinheit des NMDA-Rezeptors bei der Induktion von LA-LTP und LA-LTD beteiligt sind (Mueller and Albrecht, 2009).

Neben den NMDA-Rezeptoren spielen AMPA-Rezeptoren eine wesentliche Rolle für Membrandepolarisation und intrazellulären Kalziumanstieg. Mahanty and Sah zeigten an Interneuronen der basolateralen Amygdala, dass durch die Aktivierung von AMPA-Rezeptoren eine NMDA-Rezeptor unabhängige LTP auftrat (Mahanty and Sah, 1998). Dabei spielt die GluR2-Untereinheit die entscheidende Rolle bei der Steuerung der Kalziumpermeabilität (Jia et al., 1996). Es scheint aber auch, dass die Aktivierung von AMPA-Rezeptoren die LTD-Induktion beeinflusst (Cummings et al., 1996). Kemp and Bashir (1999) zeigten, dass neben den AMPA-Rezeptoren auch Kainat-Rezeptoren im Hippocampus an der Induktion einer LTD beteiligt sein könnten. Park et al. (2006) bestätigten diese Vermutung in Untersuchungen im perirhinalen Kortex. Dabei ist die Interaktion zwischen Kainat-Rezeptor und metabotropen Glutamatrezeptoren mGluR5 entscheidend.

Metabotrope Glutamatrezeptoren (mGluRs) sind mit G-Proteinen gekoppelt und haben die Fähigkeit, auf geringe Glutamatkonzentrationen zu reagieren und die neuronale Erregbarkeit zu modulieren (Bandrowski et al., 2003; Dingledine and Conn, 2000). Sie kommen im Neokortex vor und werden in drei Hauptgruppen entsprechend ihrer Sequenzhomologie und Agonistenaffinität unterteilt. Die mGluRs haben vielseitige Effekte in der neuronalen Zellkommunikation entsprechend ihrer Lokalisation (Anwyl, 1999; Conn and Pin, 1997; Meldrum, 2000). Diese Effekte der metabotropen Glutamatrezeptoren werden teilweise präsynaptisch über Gruppe 2- und Gruppe 3-Rezeptoren sowie postsynaptisch über Gruppe 1-Rezeptoren vermittelt (Shigemoto et al., 1997). Die mGluRs der Gruppe 2 kommen aber nicht nur präsynaptisch vor, sondern auch postsynaptisch (Neki et al., 1996; Petralia et al., 1996) und haben dort Einfluss auf die synaptische Aktivität bzw. auf die LTD (Cho et al., 2000). Präsynaptisch ist es ebenfalls möglich, über die Stimulation dieser Rezeptoren eine LTD zu induzieren (Lin et al., 2000).

NMDA-, spannungsabhängige Kalzium- und metabotrope Rezeptoren vermitteln intrazelluläre Signalkaskaden, die entweder zu einer LTP oder einer LTD führen. Lisman (1989) stellte fest, dass die Höhe der intrazellulären Kalziumkonzentration und die Geschwindigkeit des Konzentrationsanstieges über die CaM-Kinase II- oder Phosphataseaktivität entscheiden. Für die LTD ist es wichtig, wie hoch die Phosphataseaktivität ist (Mulkey et al., 1993).

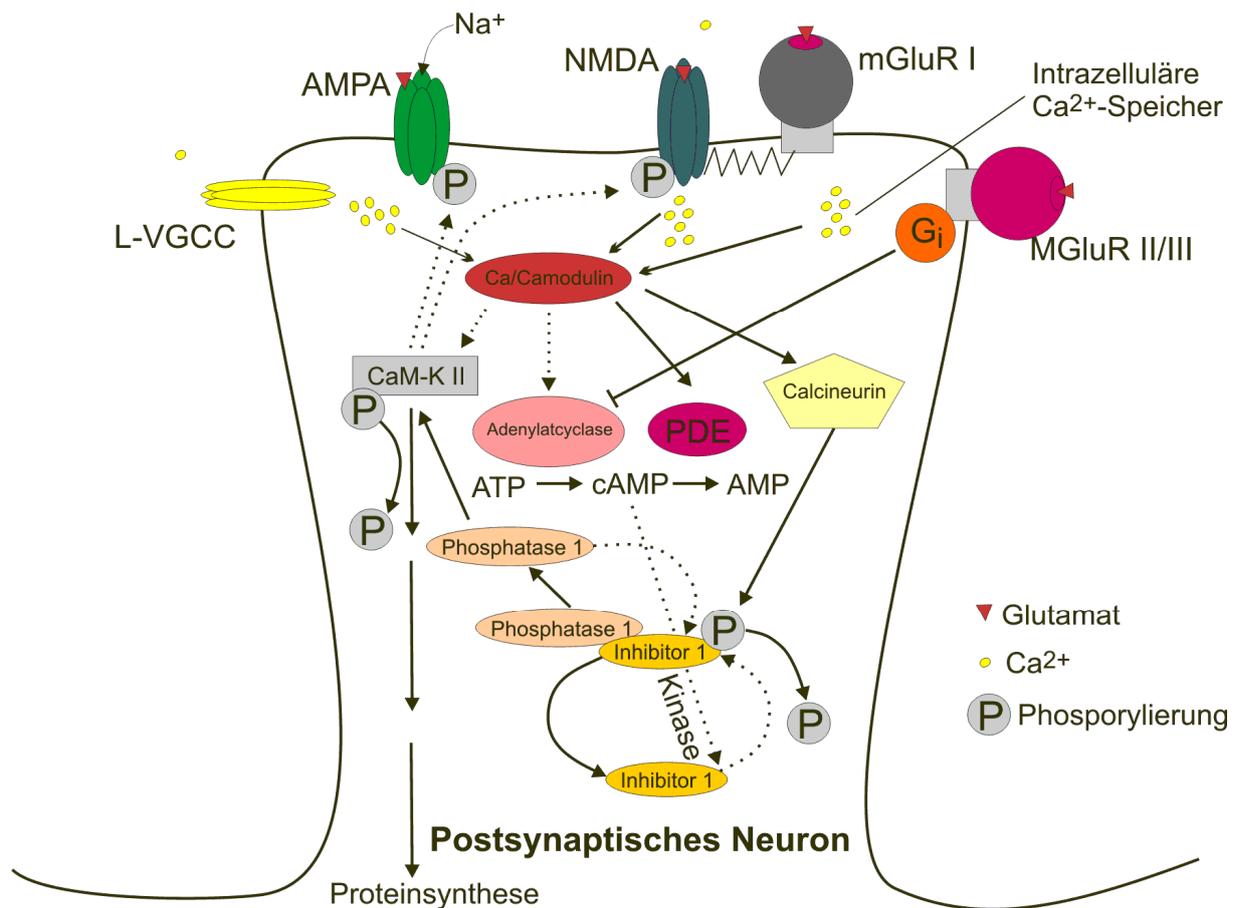


Abb. 1.4.: Darstellung der postsynaptischen Signalkaskaden für die LTD (—>) sowie für die LTP (.....>) in einem postsynaptischen Neuron. Durch eine moderate Erhöhung der intrazellulären Kalziumkonzentration wird über Calcineurin die Phosphatase 1 aktiviert, welches zur LTD beiträgt. Bei starker Erhöhung der Kalziumspiegel, z. B. durch einen HFS, werden eher Proteinkinasen aktiviert, das zu Phosphorylierungen führt und damit die synaptische Effizienz steigert (Cohen, 1988; Lisman, 1989; Malenka, 1994; Mulkey et al., 1993; Mulkey et al., 1994; Rodrigues et al., 2004; Wang J.O. et al., 2003). Die Gruppe I der metabotropen Glutamaterezeptoren vermittelt ihren Einfluss über die Phospholipase C und Proteinkinase C sowie über die Kalziumfreisetzung aus intrazellulären Speichern. Die Gruppe II/III der metabotropen Glutamaterezeptoren hemmen die Adenylatcyclase und vermindern die cAMP – Spiegel und damit die Proteinkinaseaktivität (Wang J.O. et al., 2003).

Es wurde gezeigt, dass eine erhöhte Phosphatase 1-Aktivität zur Generierung einer LTD führt (Mulkey et al., 1994). Weiterhin sind Kalzium-bindende Enzyme involviert, hauptsächlich Calmodulin, die über weitere Kaskadenschritte zu einer Alterierung der Kinasenaktivität führen (Cohen, 1988). Die Abbildung 1.4. gibt einen Einblick in die Komplexität der LTD sowie der LTP und der entsprechenden Kaskaden.

Welche Relevanz hat die LTD für das Lernen? Die oben dargestellten Prozesse beschreiben die synaptische Plastizität und ihre Änderung durch elektro- und

rezeptorphysiologische Mechanismen. Es gibt mehrere Hinweise, dass die LTD genauso wie die LTP für die Generierung von Gedächtnisinhalten notwendig ist. Manahan-Vaughan und Braunewell (1999) stellten fest, dass es im Hippocampus bei der Exploration einer neuen Umgebung zur LTD kam. Im perirhinalen Kortex trat eine verminderte neuronale Aktivität nach der wiederholten Darbietung visueller Reize auf (Brown and Xiang, 1998). Daraus lässt sich schlussfolgern, dass die synaptische Aktivität keine statische Angelegenheit ist, sondern entsprechend den Erfordernissen modifiziert werden muss. In diesem Sinne stellen LTD sowie LTP physiologische Korrelate der neuronalen Plastizität dar.

1.6. Ziele der Arbeit

1. Da zum Zeitpunkt der Experimente nur eine Arbeit existierte, die nach Thetapulsstimulation (TPS) thalamischer Afferenzen zum lateralen Kern der Amygdala im coronalen Schnittpräparat LTD in etwa 20% der Neurone nachweisen konnte (Heinböckel and Pape, 2000), sollte geprüft werden, ob auch im horizontalen Hirnschnitt durch Reizung intranukleärer bzw. kortikaler Afferenzen LTD in der lateralen Amygdala induzierbar ist. Neben der intranukleären Induzierbarkeit einer LTD in der lateralen Amygdala, d. h., der Lokalisation der Reizelektrode im lateralen Kern selbst, sollte auch die Möglichkeit der LTD-Induktion im lateralen Kern durch Reizung der externen Kapsel untersucht werden, welche im horizontalen Schnitt Afferenzen vor allem aus dem perirhinalen und entorhinalen Kortex zur Amygdala enthält (von Bohlen and Halbach and Albrecht, 2002). Dabei sollte auch untersucht werden, inwieweit die Unterbrechung der Afferentierung des LA vom entorhinalen Kortex einen Einfluss auf die LTD-Induktion hat.
2. Es gibt mehrere Paradigmen, die in der Lage sind, eine LTD zu erzeugen. Daher war es von Interesse, auch diesen Sachverhalt zu untersuchen. Dazu wurde die Stärke der LTD nach klassischer niederfrequenter Reizung (LFS, 900 Pulse, 1Hz) bzw. nach TPS (Errington et al., 1995) verglichen.
3. Da die meisten Ergebnisse dieser Arbeit extrazellulär gewonnen wurden, war zu prüfen, ob die Ergebnisse der Feldpotenzialableitungen durch intrazelluläre Ableitungen von Pyramidenzellen der lateralen Amygdala reproduzierbar sind.

Die Ableitung von ausschließlich Pyramidenzellen sollte durch eine Zellcharakterisierung gesichert werden.

4. Von anderen Strukturen, wie der CA1-Region des Hippocampus oder des perirhinalen Kortexes ist bekannt, dass sowohl NMDA- als auch metabotrope Glutamatrezeptoren an der Ausbildung einer LTD beteiligt sind. Durch Blockierung von NMDA- und Gruppe II mGluR-Rezeptoren mit selektiven Rezeptorantagonisten sollten die Rezeptortypen aufgedeckt werden, die für die Induktion einer LTD in der lateralen Amygdala verantwortlich sind.
5. Mit Hilfe von Doppelpulsreizungen mit verschiedenen Interstimulusintervallen und der Beurteilung der Paired pulse - Fazilitierung sollten Hinweise auf eine präsynaptische Beteiligung von Mechanismen der LTD-Induktion gewonnen werden.
6. Da plastische Prozesse wesentlich durch die Aktivität GABAerger Interneurone bestimmt werden, sollte geprüft werden, ob eine partielle Blockade dieser hemmenden Neurone durch GABAerge Rezeptorantagonisten die Stärke der LA-LTD beeinflussen kann.
7. Da bildgebende Verfahren geschlechtsspezifische Unterschiede der Verarbeitung von Informationen in der Amygdala aufzeigen konnten, sollte analysiert werden, inwieweit auch bei der Ratte geschlechtsspezifische Unterschiede bei plastischen Prozessen wie der LTD zum Tragen kommen.
8. Da bisher im lateralen Kern nie versucht wurde, die induzierte LTD durch LTP-Paradigmen zu blockieren, sollten Zeitfenster geprüft werden, in welchen eine solche Umkehr möglich ist.

2. Material und Methoden

2.1. Versuchstiere

2.1.1. Versuchstiere und Zuchtbedingungen

Die Experimente wurden an männlichen und weiblichen Ratten (*Rattus norvegicus familiaris*) des Inzuchtstammes Wistar durchgeführt. Die Ratten waren im Durchschnitt 6-8 Wochen alt und vom Gewicht 150 bis 180 Gramm schwer.

Die Tiere wurden unter standardisierten Laborbedingungen, $22 \pm 1^\circ\text{Celsius}$, 60-65% relative Luftfeuchtigkeit, einem zwölfstündigem Hell-Dunkel-Zyklus, Futter und Wasser ad libitum für mindestens 1 Woche vor den durchgeführten Experimenten gehalten.

Alle Experimente wurden entsprechend den Bestimmungen des European Communities Council Directive vom 24. November 1986 (89/609/EEC) sowie nach Genehmigung durch das Berliner Ethikkomitee durchgeführt. Es wurde versucht, das Leiden der Tiere und die Anzahl der Ratten so gering wie möglich zu halten. Außerdem wurden bei den Experimenten als auch bei der Gesamterstellung der Dissertation die „Grundsätze der Charité zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ eingehalten.

2.1.2. Anzahl und Herkunft

Die Versuchstiere wurden von zwei Anbietern für die Experimente zur Verfügung gestellt. Für die extrazellulären Versuche wurden diese zum einen aus der Zucht des Instituts, mit der ursprünglichen Herkunft von Charles River (n=63) und zum anderen von Harlan Winkelmann (n=9) geliefert. Bei diesen Tieren wurden in 260 horizontalen Hirnschnitten mit unterschiedlichen Stimulationsorten verwendbare Experimente durchgeführt und in die statistische Analyse eingeschlossen.

2.2. Anästhesie und Präparation

Die Ratten wurden in einem Glaszylinder (Volumen=10 Liter) mit einem Ether – Luft – Gemisch narkotisiert und danach mit einer Guillotine dekapitiert. Auf eine

Isoflurannarkose wurde verzichtet, da Isofluran durch Beeinflussung der GABAergen und glutamatergen Transmission die Plastizität in der Amygdala in stärkeren Maße hemmt als Äther (unveröffentlichte Daten der Arbeitsgruppe) und da Isofluran den Capsaicin-sensitiven Ionenkanal TRPV1 sensibilisiert (Harrison and Nau, 2008). Anschließend wurde das Gehirn zügig frei präpariert und in ein Gefäß mit eisgekühlter, carbogengesättigter, artifizieller Cerebrospinalflüssigkeit (ACSF) (4°C, pH = 7,4) verbracht und darin für einige Minuten aufbewahrt. Dieses diente der zügigen Kühlung des Gehirns, um den hypoxischen Organschaden während der Phase, in der das Gehirn nicht durchblutet wurde, so gering wie möglich zu halten. Daraufhin wurde das Gehirn auf eine gekühlte Petrischale verbracht, das Cerebellum mit einer Rasierklinge entfernt, im Interhemisphärenspalt geteilt und die dorsalen Kortexabschnitte abgeschnitten. Die beiden Hemisphären wurden dann mit den rostralen Hirnanteilen nach oben auf einem Persepex-Träger in der Slice-Kammer des Vibroslicers (Campden Instruments, Silbey, UK) mit einem Cyanoacrylat-Kleber (Patex) befestigt. Anschließend wurde die Kammer mit eisgekühlter und carbogengesättigter ACSF-Lösung aufgefüllt. Im Anschluss daran wurden aus beiden Hemisphären 400 µm dicke horizontale Hirnschnitte gewonnen. Von diesen wurden die ersten 3 verworfen und in den meisten Fällen die Schnitte 4 bis 7, teilweise auch noch 8 für die Experimente verwendet. Die Kriterien für die brauchbaren Schnitte waren das Vorhandensein von Hippocampusstrukturen, des entorhinalen Kortex, von Teilen des piriformen Kortex, der externen Kapsel und die sichere Identifikation des Amygdaloidkomplexes.

Nach der Präparation wurde jeder Hirnschnitt unverzüglich in die vorbereitete Versuchskammer verbracht und mit carbogenisierter ACSF (34°C, pH = 7,4) mit einem Durchfluss von 1,5 ml/min perfundiert. Außerdem wurde die Messkammer mit Carbogen, 95 Vol% O₂, 5 Vol% CO₂, begast. Dadurch erfolgte eine Equilibrierung des Systems auf einen physiologischen pH-Wert von 7,4. Die Inkubationszeit betrug unter diesen Bedingungen 2 Stunden, bevor mit den Experimenten begonnen werden konnte. Bei einer Versuchsreihe wurde von den Hirnschnitten der entorhinale Kortex entfernt. Dazu wurde mit einer Rasierklinge entlang des Seitenventrikels geschnitten und damit die posterioren Anteile des Hirnschnittes mit Hippocampus, einem Teil der externen Kapsel und dem entorhinalen Kortex entfernt (Abb.2.1.).

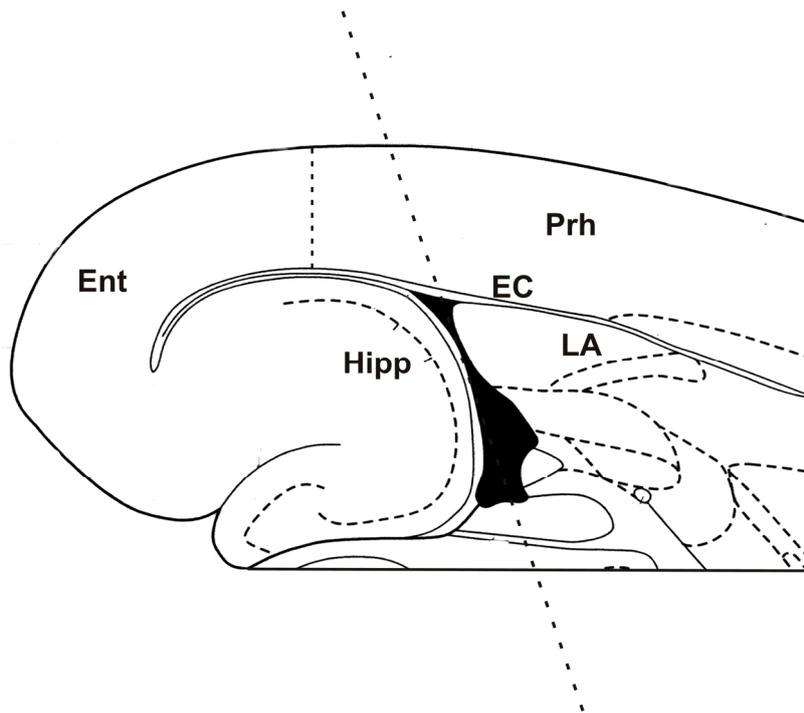


Abb. 2.1.: Skizze eines Hirnschnittes nach der Präparation. Die gestrichelte Linie stellt die Schnittführung für die Entfernung des entorhinalen Kortexes dar. (Ent) entorhinaler Kortex; (EC) externe Kapsel; (Hipp) Hippocampus; (Prh) perirhinaler Kortex; (LA) lateraler Kern der Amygdala

2.3. Versuchsanordnung

2.3.1. Messplatz

2.3.1.1. Messplatz für extrazelluläre Messungen

Der Messplatz für die extrazellulären Messungen (Abb. 2.2.) unterschied sich von dem für die intrazellulären Messungen. Die Elektroden waren an Mikromanipulatoren mit Magnetfüßen befestigt, was die präzise Platzierung dieser ermöglichte. Die Ableitelektroden waren über einen Impedanzwandler mit einem Vorverstärker (1:10) verbunden. Dieser lieferte die Analogsignale über einen Nachverstärker (ICR - Amplifier Model R-183, Neuro-Data Instruments Corp.; 1:100) an einen Analog-Digital-Wandler (CED 1401, Science Park, Cambridge, England). In diesem erfolgte die Umwandlung in digitale Signale für die PC-Verarbeitung. Parallel zur Datenaufzeichnung im PC erfolgte die Signaldarstellung auf einem Oszilloskop HM205.

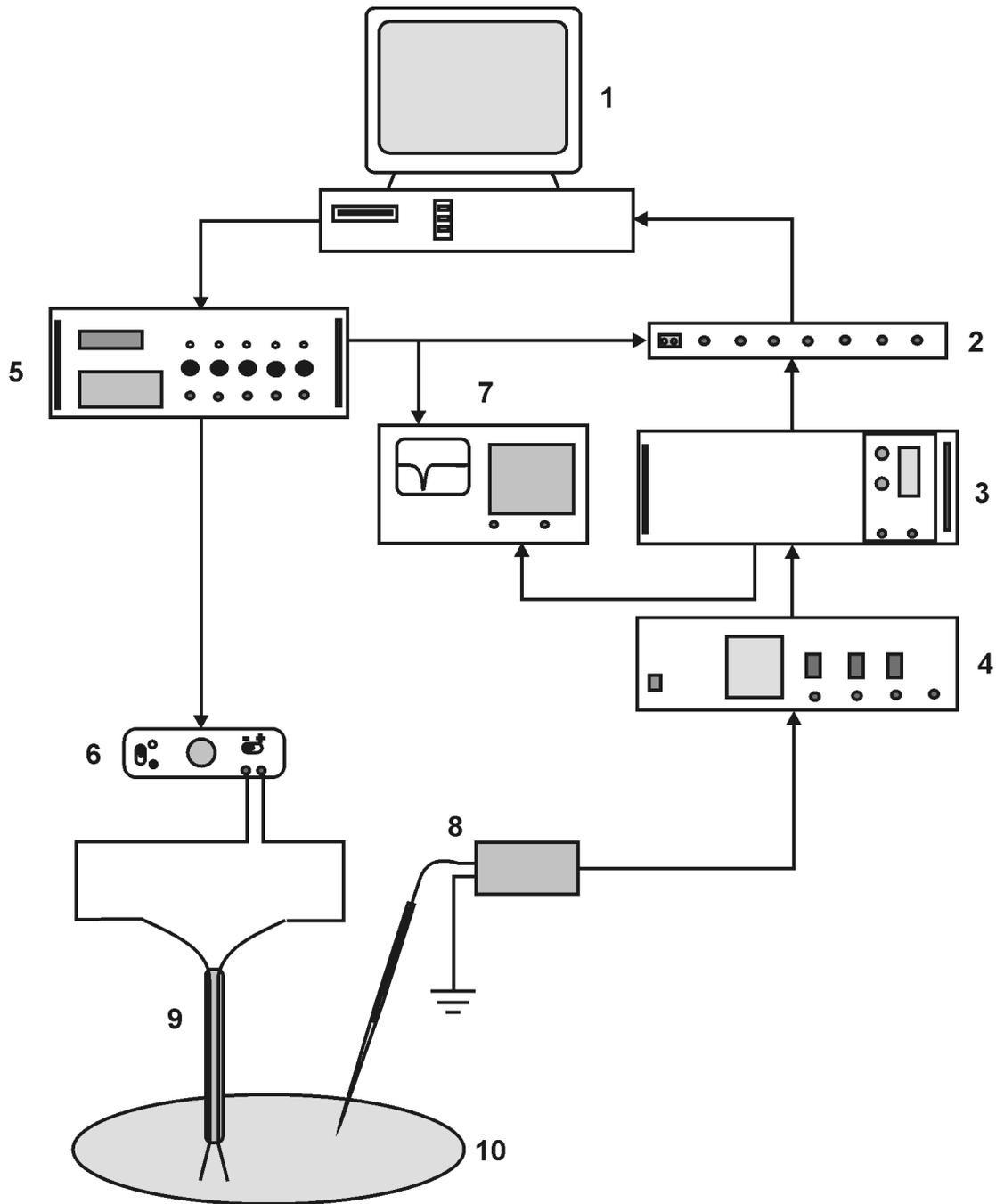


Abb. 2.2.: Schematische Darstellung eines Messplatzes für extrazelluläre Experimente. (1) PC; (2) A/D-Wandler; (3) Verstärker; (4) Vorverstärker; (5) Master-8; (6) Isostimulator; (7) Oszilloskop; (8) Ableitelektrode mit Impedanzwandler; (9) bipolare PI-Ir-Elektrode; (10) horizontaler Hirnschnitt

Die Reizelektroden waren mit einem Isostimulator verbunden, der die erforderlichen Reizspannungen von 1,0 bis 10,0 Volt (entspricht einer Stromstärke von 100 bis 1000 μA) lieferte. Getriggert wurde dieser durch einen Master - 8 (AMPI, Israel), über den die verschiedenen Reizparadigmen gesteuert wurden. Dieser Master - 8 war ebenfalls über

die CED-Einheit mit dem PC verbunden, sodass einerseits die Paradigmen-Einstellung am Gerät und andererseits auch über den PC mit entsprechender Software erfolgen konnte.

Die Datenaufzeichnung und -rohauswertung erfolgte auf einem PC mit einem Windows 95/98-Betriebssystem über die Software Signal[®] 2 (Cambridge Electronic Design, UK).

2.3.1.2. Messplatz für intrazelluläre Messungen

Beim Messplatz für die intrazellulären Messungen (Abb. 2.3.) wurde die intrazelluläre Ableitelektrode genau senkrecht zum Hirnschnitt positioniert. Zur Spannungsaufzeichnung und Strominjektion wurde ein SEC-05LX npi-Verstärker benutzt. Über diesen wurde kontinuierlich die Bridge-Balance (Brückenausgleich) beobachtet und kontrolliert. Das Ausgangssignal wurde mit 10 Hz gefiltert. Der Verstärker war mit einem Oszilloskop HM205 verbunden und zur Datensammlung und Datenauswertung über ein Micro-CED 1401 an einen Computer mit Windows-98 Betriebssystem angeschlossen. Die Steuerung der Strominjektion erfolgte über einen mit dem Verstärker verbundenen Isostimulator.

Ebenso wie bei den extrazellulären Messungen erfolgte die Reizgabe über eine Reizelektrode mit der gleichen Steuerung des Isostimulators. Außerdem wurden auch hier die Signale parallel auf einem Oszilloskop dargestellt.

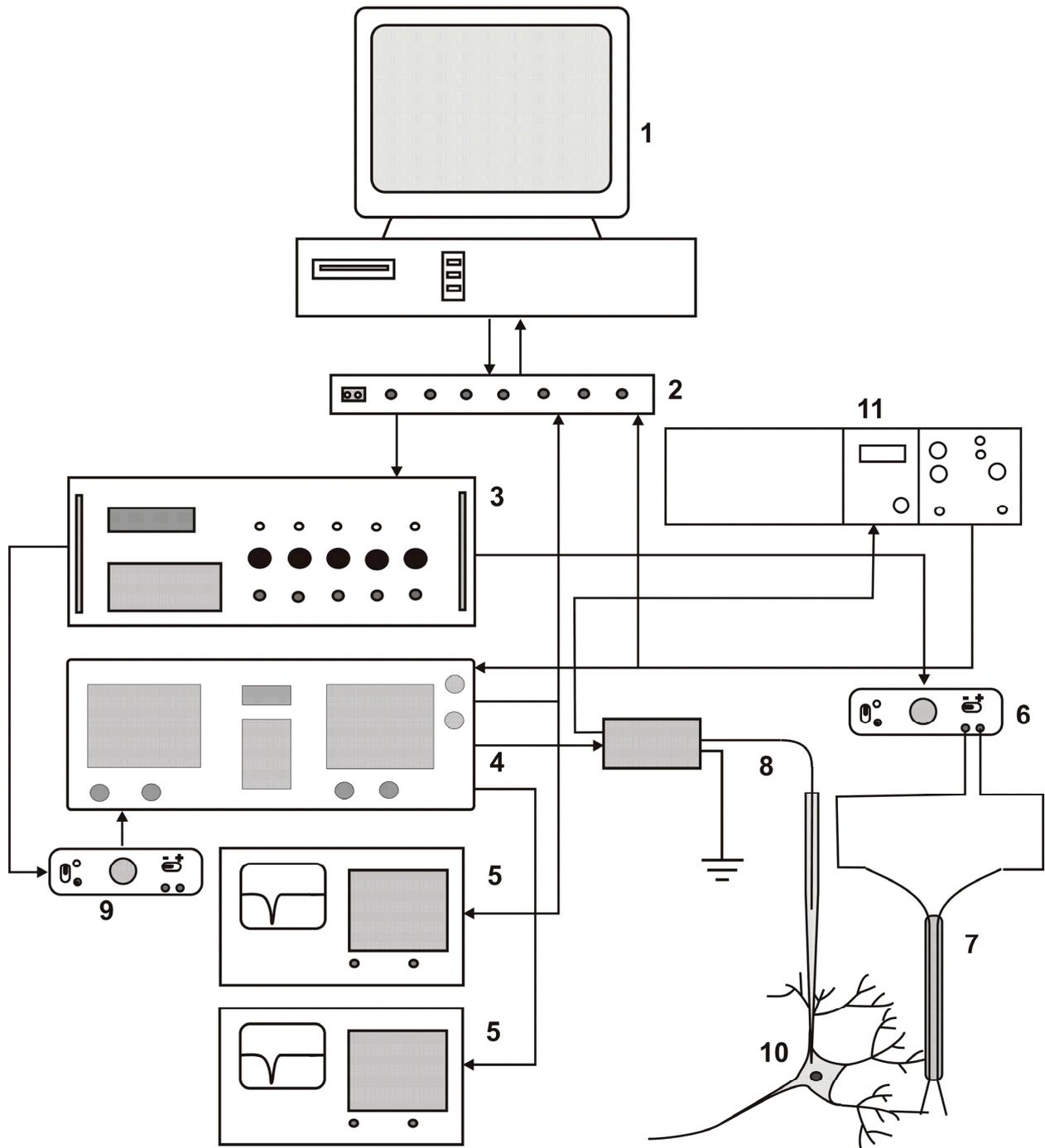


Abb. 2.3.: Schematische Darstellung eines Intrazellulärmessplatzes. (1) PC; (2) CED-Einheit; (3) Master 8; (4) Verstärker; (5) Oszilloskop; (6) Isostimulator für die bipolare Reizelektrode; (7) bipolare Reizelektrode; (8) Ableitelektrode mit Impedanzwandler; (9) Isostimulator für die Steuerung der Stromapplikation (1 V = 100 pA); (10) Projektionsneuron, überproportional dargestellt; (11) Vorverstärker

2.3.2. Elektroden

2.3.2.1. Reizelektroden

Für sämtliche Messungen wurden die gleichen bipolaren Reizelektroden verwendet. Diese bestanden aus zwei Silberdrähten, an deren jeweiligen einen Ende ein Platin-Iridium-Draht gelötet wurde. Beide Drähte wurden in einer doppelumigen Glaspipette (Thetaglas) platziert und diese mit einem Kunststoff verschlossen. Nach dem Ausrichten der Platin-Iridium-Drähte wurden diese mit Schellack in ihrer Position fixiert, sodass der Elektrodenabstand 0,5 mm betrug. Diese Elektroden hatten einen Ausgangswiderstand von 100 k Ω .

2.3.2.2. Ableitelektroden für extrazelluläre Ableitungen

Die Ableitelektroden für die extrazellulären Messungen bestanden aus Borosilikat mit einem Durchmesser von 1,2 mm (World Precision Instruments, Sarasota, FL, USA) und enthielten für die Füllung der Elektrodenspitze ein kapillares Filament. Die Elektroden wurden mit einem Ziehgerät (Fläming/Brown Micropipette Puller Model P-87, Sutter Instruments Co., USA) durch Erhitzen eines Platinfilaments auf 545° Celsius gezogen, sodass ein Spitzenwiderstand von 10 M Ω resultierte. Durch ein kontrolliertes Abbrechen der Elektrodenspitze wurde der Elektrodenwiderstand auf 1-3 M Ω reduziert. Die Elektroden wurden vor der Messung mit ACSF gefüllt und an einem Mikromanipulator befestigt. Zur Ankopplung an den Impedanzwandler befand sich in der Elektrode ein chlorierter Silberdraht.

2.3.2.3. Ableitelektroden für intrazelluläre Ableitungen

Ebenso wie die Elektroden für die extrazellulären Messungen bestanden die Elektroden für die intrazellulären Ableitungen aus Borosilikatglass (1,2 mm, World Precision Instruments; Sarasota, FL, USA) mit einem Spitzenwiderstand von 70 - 100 M Ω . Für die Messungen wurden diese Elektroden mit 2fach molarer Kaliumazetat-Lösung gefüllt und in einem Mikromanipulator (Leica) senkrecht zur Messkammer installiert. Die Ankopplung erfolgte wie bei den extrazellulären Messungen.

Für jede neue Zelle bzw. nach jedem Durchfahren der Hirnschnitte wurde eine neue Elektrode verwendet.

2.3.3. Versuchskammer

Für die extra- und intrazellulären Messungen wurde eine Interface-Versuchskammer verwendet, die mit Magnetfüßen auf einem schwingungsarm gelagerten und gegen störende elektromagnetische Wellen abgeschirmten Arbeitstisch befestigt war. Die Messkammer bestand aus zwei Einzelmesskammern, die separat perfundiert werden konnten. Diese Messkammern befanden sich im oberen Teil der Versuchskammer, die aus Plexiglas bestand. Beide Messkammern wurden mit Plexiglasdeckeln, die eine mittlere Öffnung für die Messelektroden hatten, abgedeckt. Diese lenkten außerdem den carbogengesättigten Wasserdampf über Öffnungen aus dem unteren Teil der Versuchskammer auf die in den Messkammern befindlichen Hirnschnitte.

Im unteren Teil befand sich ein Wasserreservat, welches mit Carbogen begast wurde, um so das entsprechende Mikroklima für die Equilibrierung der Hirnschnitte zu erzeugen, d. h. 100% relative Luftfeuchtigkeit, 95% O₂ und 5 % CO₂. Außerdem befand sich im unteren Teil eine Heizung mit Thermistor. Über diesen erfolgte die Temperaturregulierung auf 34° Celsius. Diese Heizung wurde durch eine Heizungssteuerung (Therm - 4 - Sensor) geregelt.

Die Messkammern waren mit dreilagigem Linsenpapier (Kodak) für die Aufnahme der Hirnschnitte präpariert. Um die Perfusionsverhältnisse zu verbessern und einen Flüssigkeitsstau zu verhindern wurde an je einer Seite jeder Messkammer ein schmaler Streifen eines Polyamid-Damen-Strumpfes gelegt.

2.3.4. ACSF

Für die Perfusion der Hirnschnitte wurde eine artifizielle Cerebrospinalflüssigkeit (ACSF) verwendet. Diese hatte folgende Zusammensetzung: NaCl: 124 mM; KCl: 3 mM; NaHCO₃: 26 mM; Na₂HPO₄: 1,25 mM; MgSO₄: 1,8 mM; CaCl₂: 1,6 mM; Glukose: 10 mM.

Diese ACSF - Lösung wurde mit einer Heizwanne auf 34° Celsius erwärmt, mit Carbogen gesättigt und über ein Schlauchsystem mithilfe einer Schlauchpumpe

(Minipuls 3, Abimed Gilco) separat in die beiden Messkammern geleitet. Die Pumpengeschwindigkeit betrug 1,5 ml/min. Bei Experimenten unter dem Einfluss eines Pharmakons diente diese auch als Lösungsmedium.

2.3.5. Pharmakologie

Bei einer großen Anzahl von Experimenten wurden die spezifischen Einflüsse von verschiedenen Pharmaka auf die Feldpotenziale bzw. EPSPs untersucht, die im Folgenden beschrieben werden.

Bis zum jeweiligen Einsatz wurden die Pharmaka bei -18° Celsius im Tiefkühlschrank in 1 ml - Eppendorfgefäßen im entsprechenden Lösungsmittel gelagert und dann erst aufgetaut und 100 ml ACSF - Lösung zugesetzt, sodass sich erst im Anschluss daran die endgültige Konzentration ergab. Bei der eingestellten Pumpengeschwindigkeit von 1,5 ml/min dauerte es durchschnittlich 10 Minuten, bis das jeweilige Pharmakon eine der beiden Perfusionskammern erreichte, in der das entsprechende Experiment durchgeführt wurde.

2.3.5.1. Picrotoxin

Picrotoxin (PTX) ist ein Gemisch, das aus Picrotoxinin und Picrotin in einem Verhältnis von 1:1 besteht. PTX hat ein Molekulargewicht von 602,583 g/mol und stellt einen nichtkompetitiven GABA_A-Rezeptorantagonisten dar, der zu einer allosterischen, reversiblen Rezeptorblockade führt. Dieser wurde von Research Biochemicals International (Natick, USA) bezogen. Die verwendete Dosierung von 2 μ M für die Hirnschnittperfusion wurde durch eine Versuchsreihe mit abnehmender Konzentration von anfänglich 10 μ M als optimale Konzentration ohne wesentliche und unerwünschte Wirkungen auf die Amplitude bzw. der Stabilität der Feldpotenziale bzw. EPSP herausgefunden.

2.3.5.2. APV

Als selektiver NMDA-Rezeptorantagonist wurde 2-Amino-5-phosphonovalerat (APV) mit einem Molekulargewicht von 197,13 g/mol verwendet. APV wurde von Tocris (Cookson, Bristol, UK) bezogen.

Durch diesen Antagonisten kommt es zu einer kompetitiven Hemmung des gesamten NMDA-Rezeptorkomplexes, einschließlich der NR1- und NR2-Untereinheiten. APV wurde in einer Konzentration von 50 µM eingesetzt.

2.3.5.3. MCCG

2S,1S',2S'-2-Methyl-2-(2'carboxycyclopropyl)glycin (MCCG) ist ein Antagonist des metabotropen Glutamaterezeptor (Gruppe II) (Bandrowski et al., 2003) mit einem Molekulargewicht von 173,17 g/mol. MCCG wurde in einer Konzentration von 50 µM verwendet. Geliefert wurde MCCG von Tocris (Cookson, Bristol, UK).

2.3.5.4. CPPG

(RS)-α-Cyclopropyl-4-phosphonophenylglycin (CPPG) ist ein potenter Antagonist an Gruppe II und Gruppe III mGlu – Rezeptoren, wobei die Selektivität für die Gruppe III 20fach stärker ist als für die Gruppe II. CPPG hat ein Molekulargewicht von 271,21 g/mol und musste in äquimolarer Konzentration in NaOH gelöst werden. Die Substanz wurde von Tocris (Cookson, Bristol, UK) bezogen. Für die Experimente wurde eine Konzentration von 300 µM verwendet.

2.3.6. Elektrodenpositionen

2.3.6.1. Positionen der extrazellulären Ableitelektrode

Die Ableitelektrode wurde bei allen Messungen im lateralen Kern der Amygdala positioniert. Dabei wurde die Position dicht am Seitenventrikel und in der Nähe der externen Kapsel gewählt, da hier die Wahrscheinlichkeit für das Auffinden eines Feldpotenzials am größten war (Abb. 2.4.).

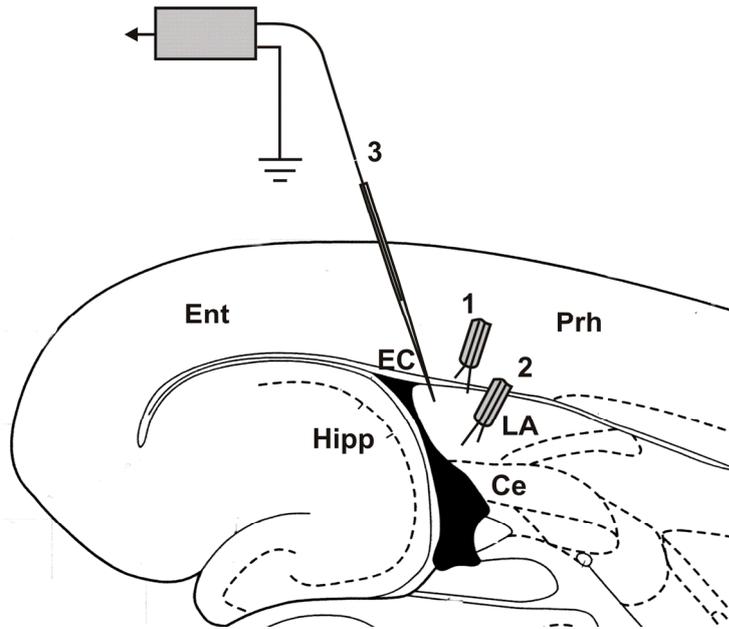


Abb.2.4.: Schematische Darstellung eines horizontalen Hirnschnittes mit (1) Reizelektrode in der externen Kapsel (EC), (2) Reizelektrode in der lateralen Amygdala (LA) und der Ableittelektrode (3). (Ent) entorhinaler Kortex; (Hipp) Hippocampus; (Prh) perirhinale Kortex; (CE) zentrale Amygdala

2.3.6.2. Position der intrazellulären Messelektrode

Die intrazelluläre Messelektrode wurde, wie in den extrazellulären Experimenten, an der gleichen Position, nur mit streng senkrechter Ausrichtung zum Hirnschnitt positioniert. Diese Position wurde aus Übersichtlichkeitsgründen nicht in der Abbildung 2.4. mit dargestellt.

2.3.6.3. Positionen der Reizelektroden

Die Stimulation mit der bipolaren PI-Ir-Elektrode erfolgte an verschiedenen Reizpositionen, zum einen intranukleär im lateralen Kern der Amygdala, an der Grenze zum zentralen Kern der Amygdala (LA) und zum anderen in der externen Kapsel (EC) (Abb. 2.4.). Dabei wurden die Reizorte so gewählt, dass sich die meisten Afferenzen zwischen den beiden Polen der bipolaren Reizelektrode befanden.

2.4. Versuchsablauf

2.4.1. Extrazelluläre Experimente und Reizparadigmen

Bei den extrazellulären Experimenten wurden die Amplituden von Feldpotenzialen gemessen. Dabei stellen diese Feldpotenziale die Summe aller Antworten von exzitatorischen und inhibitorischen Neuronen dar, die während des elektrischen Stimulus gereizt wurden. Die Stimulation erfolgte mit einer bipolaren PI-Ir-Elektrode an unterschiedlichen Reizorten (Abb. 2.4.). Bei den meisten Messungen erfolgte eine Einzelreizung mit einem Reizabstand von 10 s und einer Reizdauer von 0,1 ms, was einer Frequenz von 0,1 Hz entsprach. Die anderen Paradigmen werden in den entsprechenden Abschnitten näher erläutert.

2.4.1.1. Input/Output-Kurven

Nach dem Auffinden eines Feldpotenzials wurde dieses auf seine Amplitudenvarianz, als Maß für die synaptische Transmission, in Abhängigkeit von der Reizstärke untersucht. Dabei wurden über den Isostimulator, getriggert durch den Master-8, Reizstromstärken zwischen 100 bis maximal 1000 μA in Form von Einzelreizen über die bipolare Reizelektrode am Stimulationsort appliziert (Input). Die gemessene Reizantwort (Amorapanth et al., 2000) wurde danach mit der Signal[®] 2-Software registriert. Bei gerade messbarer Reizantwort wurde mit der entsprechenden Reizstromstärke begonnen, die Reizantworten zu registrieren. Nach jeweils 6 Einzelreizen wurde die Reizstärke erhöht. Nachdem die Feldpotenzialamplitude nicht mehr bei steigender Reizstärke an Größe zugenommen oder sich wieder verringert hatte, wurde die Messung beendet. Jeweils 6 Reizantworten wurden gemittelt, sodass pro Stromstärkenwert ein Amplitudenwert resultierte. Die erhaltenen Amplitudenwerte in mV wurden in Abhängigkeit der Reizstärke in Input/Output-Kurven dargestellt. Die daraus ermittelte Reizstärke bei mittlerer Amplitudenauslenkung wurde für die weiteren Messungen verwendet und stellte den Referenzwert für die späteren Experimente dar. Auf diesen Referenzwert bezogen sich dann die Amplitudengrößen der basalen Transmission der weiteren Messungen mit dem jeweiligen Feldpotenzial.

2.4.1.2. Paired-Pulse-Fazilitierung

Bei der Paired-Pulse-Fazilitierung (PPF) wurde ein Doppelreiz mit zunehmendem Reizintervall, 10-100, 200, 500 ms und einem Reizabstand zwischen den Doppelreizen von 10 s appliziert. Das Reizintervall wurde nach jeweils 6 Registrierungen erhöht. Jeweils 6 registrierte Feldpotenzial-Kurven wurden gemittelt und einem Intervall zugeordnet. Die beiden Reizantworten pro Doppelreiz wurden gesondert ausgewertet. Danach wurde eine Ratio aus dem 2. Amplitudenwert und dem ersten berechnet. Bei einer Ratio >1 handelte es sich um eine Paired-Pulse-Fazilitierung und bei <1 um eine Paired-Pulse-Depression.

2.4.1.3. Long-Term-Depression

Unter Long-Term-Depression (LTD) versteht man eine Messung, bei der die ermittelten Amplitudenwerte nach der Durchführung einer Low-Frequency-Stimulation (LFS) signifikant zu den Kontrollwerten vor der LFS abnehmen und diese Abnahme über mindestens 20 Minuten erhalten bleibt. Bei kürzerer Dauer einer verringerten Amplitude werden diese Messungen als Short-Term-Plasticity (STP) bezeichnet. Bei der LFS wurden 900 Einzelreize mit einer Frequenz von 1 Hz und einer Reizdauer von 0,1 ms bei unveränderter Reizstärke, in der Regel 50 – 60 % der Maximalamplitude, appliziert. Als weiteres Paradigma zum Erzielen einer LTD wurde eine Theta-Pulse-Stimulation (TPS) eingesetzt. Dabei wurden Einzelreize mit einer Frequenz von 8 Hz, einer Reizdauer von 0,1 ms und für eine Zeit von 150 s appliziert. Vor und nach den Paradigmen zum Herbeiführen einer LTD erfolgte die oben beschriebene Einzelreizung.

2.4.1.4. Long-Term-Depression mit Reversal

Bei diesen Experimenten war der Versuchsablauf gleich dem der oben beschriebenen LTD bis auf die Besonderheit, dass 20 Minuten nach erfolgter LFS und signifikanter Verringerung der Feldpotenzialamplitude ein weiteres Paradigma durchgeführt wurde. Dieses Paradigma war entweder eine High-Frequency-Stimulation (HFS) oder eine Theta-Burst-Stimulation (TBS). Beide Paradigmen wurden in anderen Messungen in

unserer Arbeitsgruppe zum Erzeugen einer Long-Term-Potentiation (LTP) verwendet. Dabei stellte sich die HFS als stärkerer Reiz für die LTP heraus (Drephal et al., 2006). Bei der HFS wurden zwei Reizfolgen mit einer Frequenz von 100 Hz, einer Dauer von 1 s und mit einem Zeitintervall von 30 s appliziert. Die TBS bestand ebenfalls aus zwei Reizfolgen in einem Intervall von 30 s, nur mit dem Unterschied zur HFS, dass pro Reizfolge 5 Bursts von 4 Einzelreizen mit einem Interburstintervall von 200 ms und einem Reizintervall von 10 ms appliziert wurden.

2.4.2. Intrazelluläre Experimente und Paradigmen

Vor jeder Messung erfolgte eine Korrektur des „Offsets“, mit Einstellung der Kompensation und dem Abgleich mit dem Elektrodenwiderstand.

Über den Verstärker im Brückenmodus wurde nach Penetration der Zellmembran ein hyperpolarisierender Strom zur Zellstabilisierung appliziert, d. h., die Zelle wurde bis auf ein Membranpotenzial von -100 bis -120 mV hyperpolarisiert. Nach erfolgter Stabilisierung wurde der negative Haltestrom wieder langsam zurückgenommen und die Messungen bei stabiler Membranspannung mit den entsprechenden Paradigmen durchgeführt. Die Paradigmen für die Strom/Spannungs-Kurven, Paired-Pulse-Fazilitierung und die Long-Term-Depression unterschieden sich nicht von denen der extrazellulären Messungen und wurden in Analogie zu diesen durchgeführt.

Der wesentliche Unterschied zu den extrazellulären Experimenten besteht darin, dass bei den intrazellulären Messungen nur die postsynaptischen Potenziale einer Zelle gemessen wurden. Diese stellten die Summe aus exzitatorischen und inhibitorischen postsynaptischen Potenzialen dar.

2.4.2.1. Stabilisierung

Bei den intrazellulären Experimenten wurden an jeder gemessenen Zelle verschiedene Paradigmen zur Charakterisierung des Zelltyps, in Form einer intrinsischen Zellcharakterisierung durch Stromapplikation durch die Ableitelektrode sowie zur Messung der synaptischen Transmission durchgeführt. Zuerst erfolgte die Stabilisierung der Zelle über eine Zeit von 10 Minuten. In dieser Zeit wurde ein Stabilisierungsimpuls in Form eines elektrischen Stroms mit einer Stromstärke von 100 pA, einer Impulslänge

von 100 ms und einem Impulsabstand von 10s über die Ableitelektrode in die Zelle appliziert.

2.4.2.2. IV – Kurve

Anschließend an die Stabilisierung erfolgte eine Messung des Membranpotenzials in Abhängigkeit vom elektrischen Strom, der in Form von Rechteckimpulsen durch die Ableitelektrode in die Zelle appliziert wurde. Dabei wurden Stromimpulse mit einer Impulslänge von 200 ms, einer Stromstärke von -900 pA bis $+900\text{ pA}$ in einem Impulsabstand von 2 s appliziert. Nach jedem Impuls wurde die Stromstärke um 100 pA erhöht.

2.4.2.3. Akkommodation

Bei der Akkommodation wurde, ähnlich wie bei der IV-Kurve, die Stromstärke sukzessive um 50 pA von -100 pA bis auf $+500\text{ pA}$ mit einem Impulsabstand von 2 s und einer Impulslänge von 1200 ms erhöht. Dabei wurden die Änderungen des Membranpotenzials, das Muster der Abfolge und die Größe der Aktionspotenziale registriert und danach die Zelle charakterisiert.

2.4.3. Applikation der Pharmaka

Die verwendeten Substanzen wurden vor den Experimenten unter Pharmakaeinfluss im Perfusionsmedium auf die Zielkonzentration verdünnt. Anschließend wurden die Hirnschnitte in einer der beiden Messkammern damit perfundiert. Die Einwaschphasen dauerten mindestens 30 Minuten, bevor mit den entsprechenden Paradigmen die Messungen begonnen wurden. Die beiden Messkammern wurden abwechselnd mit substanzhaltiger bzw. substanzfreier ACSF perfundiert, sodass eventuelle Rückstände durch diese lange Auswaschphase vermieden wurden.

2.5. Auswertung und Statistik

2.5.1. Auswertung der extrazellulären Daten

Die Datenauswertung erfolgte bei den extrazellulären Messungen offline, d. h., nach Abschluss der jeweiligen Messung. Um die Amplitudenvariation gering zu halten, wurden jeweils 6 Feldpotenziale zu einem gemittelt, das für die weitere Auswertung verwendet wurde. Jedes dieser Feldpotenziale besteht aus zwei Maxima und einem Minimum. Für die Ermittlung der Amplitudengröße wurde durch die Maxima eine Tangente gelegt. Die Differenz der Koordinaten, die durch den Schnittpunkt mit einer Senkrechten durch das Minimum und durch die Tangente entstanden, wurde als größte Auslenkung des Potentials angenommen und danach die Amplitude berechnet (Abb. 2.5.).

Für die Auswertung der Amplituden der einzelnen Feldpotenziale in den verschiedenen Messungen wurden im Programm Signal[®] 2 (Cambridge Electronic Design, Uk) verschiedene Script-Files (Dr. Siegmund, Institut für Physiologie, Charité, Berlin) verwendet. Die extrazellulären Daten wurden offline und unter visueller Kontrolle der einzelnen, gemittelten Feldpotenziale ausgewertet. Eine weitere Auswertemöglichkeit war die „Slope“-Auswertung. Dabei wurde die Neigung der ersten Negativierung im Feldpotenzial als Messwert verwendet. In dieser Arbeit wurde für alle Darstellungen die absolute Amplitudengröße in mV oder die relative Amplitudengröße in Prozent gewählt, da eine Korrelation zwischen „Slope“-und Amplitudenauswertung nachweisbar war, die Streuung der „Slope“-auswertung aber größer war.

Bei der Auswertung der Input/Output-Kurven und der Paired-Pulse-Fazilitierung wurden die absoluten Amplitudenwerte verwendet. Bei der Paired-Pulse-Fazilitierung wurde, wie weiter oben beschrieben, eine Ratio gebildet und diese dann grafisch verarbeitet. Im Anschluss an die Gewinnung der Daten für die Amplitudengrößen bzw. der Größen des „Slopes“ bei den Messungen zur LTD wurden diese im Tabellenkalkulationsprogramm Excel (Microsoft) in Prozentwerte umgerechnet. Als 100% wurde der Mittelwert der Einzelwerte der letzten 6 Minuten der basalen Transmission („Baseline“) vor der LFS angenommen.

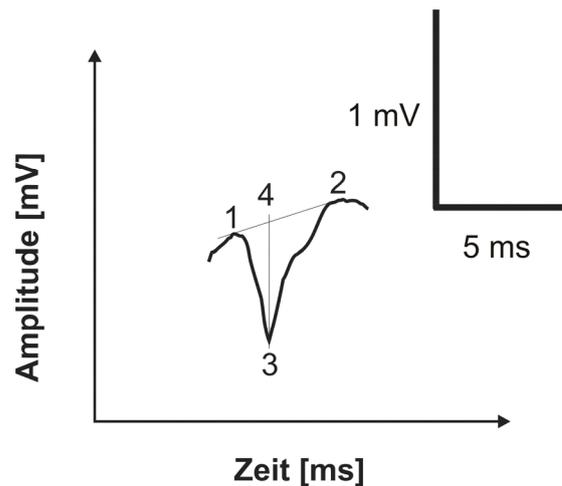


Abb. 2.5.: Darstellung eines Feldpotenzials. Die Maxima 1 und 2 sind durch eine Tangente verbunden. Durch das Minimum 3 verläuft eine Senkrechte, die die Tangente in 4 schneidet. Die Differenz zwischen 4 und 3 stellt die Amplitudengröße dar.

2.5.2. Auswertung der intrazellulären Daten

Die intrazellulär ermittelten Daten wurden parallel zur laufenden Messung online ausgewertet und danach offline verifiziert. Dies erfolgte nach dem gleichen Modus wie bei den Extrazellulärdaten, mit dem Unterschied, dass es sich bei einem EPSP um eine Positivauslenkung des Potenzials vom Ruhemembranpotenzial handelt und nur die Differenz zwischen den Spannungen, zum einen im Maximum des EPSP und zum anderen der Ruhemembranspannung, berechnet wurde (Abb. 2.6.).

Als weitere Möglichkeit der Signalauswertung wurde auch der „Slope“ ausgewertet. Dabei wurde die Steigung der ersten Positivbewegung des EPSP als Wert gewonnen. In der Analogie zu den extrazellulären Experimenten wurden nicht die Absolutwerte der EPSP-Amplituden verwendet, sondern diese in relative Prozentwerte umgerechnet. Dabei stellten die 6 Minuten vor der LFS die Kontrolle und daraus der Mittelwert 100 % dar.

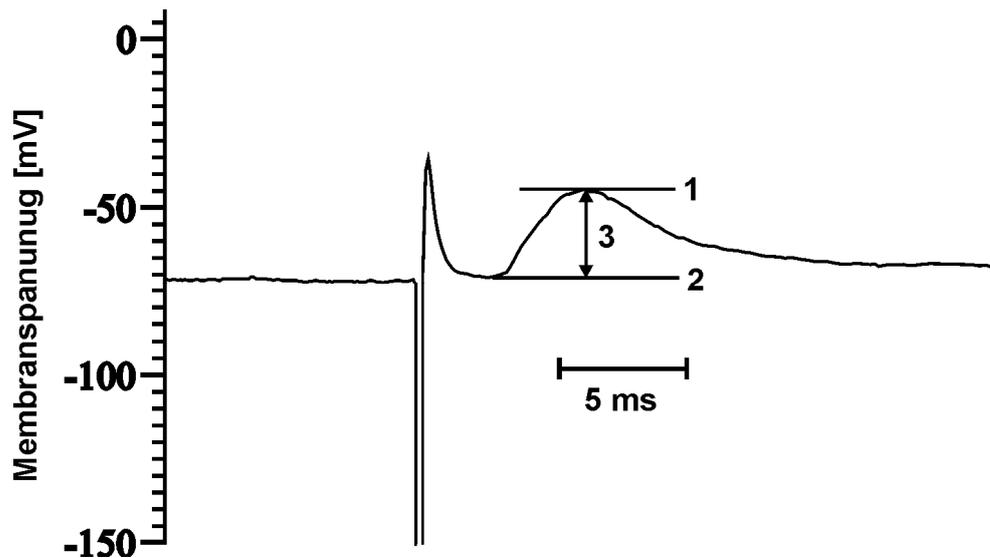


Abb. 2.6.: Darstellung eines exzitatorischen postsynaptischen Potenzials (EPSP). Gezeigt wird die Ermittlung der Differenz 3 zwischen den beiden Spannungswerten 1 und 2.

2.5.3. Statistik

Die statistische Auswertung und grafische Darstellung erfolgte mit der Software Graphpad Prism 4 (San Diego, CA, USA). Die grafische Nachgestaltung wurde mit der Software Corel Draw 11 (Corel Corporation, Ottawa, Kanada) durchgeführt.

Zur statistischen Analyse wurde bei den Tests unabhängiger Stichproben der Mann-Whitney-U-Test für nonparametrische Stichproben verwendet. Beim Vergleich der basalen synaptischen Aktivität mit den letzten 6 Minuten einer Messung nach dem entsprechenden Paradigma, innerhalb einer Stichprobe wurde der Wilcoxon-Test für abhängige Stichproben eingesetzt. Als Signifikanzniveau wurde jeweils ein p-Wert < 0,05 angenommen.

3. Ergebnisse

Die folgenden Resultate wurden bei männlichen und weiblichen Ratten des Inzuchtstammes Wistar ermittelt. Dafür wurden die einzelnen Ratten von zwei verschiedenen Anbietern, Charles-River und Harlan-Winkelmann, bezogen, welches sich teilweise anbieterspezifisch in den Ergebnissen widerspiegelte. Weiterhin wurde an verschiedenen Stimulationsorten gereizt sowie unter pharmakologischem Einfluss gemessen, worauf in den einzelnen Abschnitten eingegangen werden soll.

3.1. Intrazelluläre Messungen

Die intrazellulären Messungen wurden an weiblichen Wistarratten von Harlan-Winkelmann durchgeführt. Insgesamt wurde die Aktivität von 30 Zellen erfasst, von denen 18 mit dem Paradigma des LFS auf die Induzierbarkeit einer Langzeit-Depression untersucht werden konnten. Die Ableitungen der EPSPs der anderen Zellen gelang nach der Zellcharakterisierung nur kurze für Zeit, sodass eine langfristige Veränderung der synaptischen Transmission nicht untersucht werden konnte. Für die intrazellulären Experimente wurde die Stimulationselektrode analog zu den extrazellulären Messungen im lateralen Kern der Amygdala platziert (intranukleäre Stimulation; IN).

3.1.1. Zellcharakterisierung

Alle Neurone zeigten einen unterschiedlichen Grad von Akkommodation auf einen langen Rechteckimpuls. Alle Zellen wiesen Aktionspotenziale größerer Dauer (3.08 ± 0.21 ms) auf, wie das für Pyramidenzellen der lateralen Amygdala typisch ist (McDonald, 1992; Pare et al., 1995a; Rainnie et al., 1993). Mangan et al. beschrieben für die basolaterale Amygdala 3 Typen von Projektionsneuronen bzw. Pyramidenzellen (Mangan et al., 2000). Diese unterschieden sich in ihrem Akkommodationsverhalten. Analog zu diesen Zelltypen wurden in der lateralen Amygdala entsprechende Aktionspotenzialmuster gefunden. Der 1. Zelltyp zeichnet sich dadurch aus, dass er schwächer akkommodierte und keine gruppierten Entladungen (Bursts) aufwies. Der 2.

Zelltyp zeigte eine Akkommodation, es traten aber keine Bursts auf. Der 3. Typ zeigte Bursts, aber nur eine schwache Akkommodation (Abb. 3.1.).

Von den insgesamt 30 Zellen entsprachen 22 Zellen dem Typ I (73,3%), 5 Zellen dem Typ II (16%) und 3 Zellen dem Typ III. Bei 3 Zellen, bei denen die Aktionspotenzialserie akkommodierte, trat nach der LFS eine stabile LTD auf. Die Aktivität der restlichen Zellen mit einer LTD zeigten eine schwächere Akkommodation. Bei diesen Zellen wurden aber keine gruppierten Entladungen beobachtet. In keinem Fall konnte die Aktivität von Neuronen abgeleitet werden, die hochfrequent ohne Akkommodation entluden, wie das für GABAerge Interneurone der Amygdala typisch ist. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Zellcharakterisierung nach Mangan keine Korrelation zur Wahrscheinlichkeit des Auftretens einer LTD besitzt.

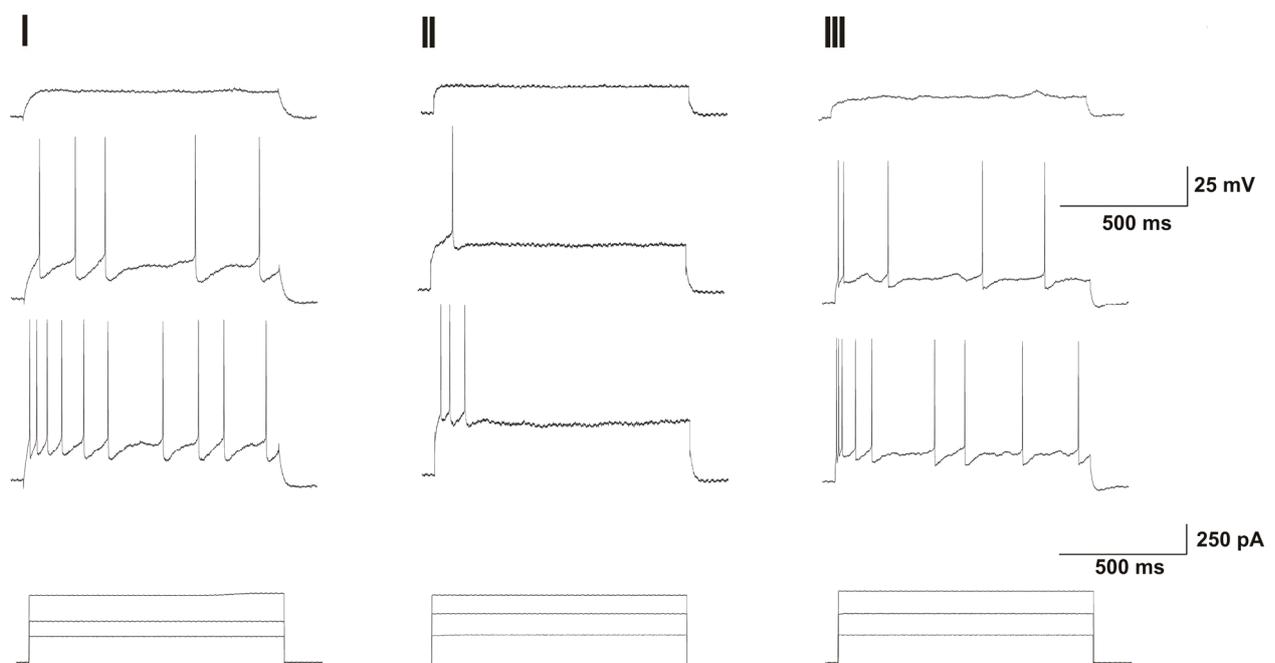


Abb. 3.1.: Darstellung von unterschiedlichem Antwortverhalten. Zelltyp I zeigte wenig Akkommodation und keine Bursts. Zelltyp II akkommodierte stark, zeigte aber keine Bursts. Der Zelltyp III zeigte einen Burst mit einem Interspikeintervall von 5 – 15 ms bei mehr als zwei Aktionspotenzialen und eine schwache Akkommodation.

Weiterhin wurde für jede Zelle das IV-Verhalten registriert. Da zum Zeitpunkt dieser Messungen die Stromapplikation nicht genau in festgelegten Stufen der Stromstärkenerhöhung erfolgte, können die IV-Kurven nicht einer statischen Analyse

zugeführt werden. Deshalb wurde nur eine als repräsentative Einzelkurve ausgewählt (Abb. 3.2.).

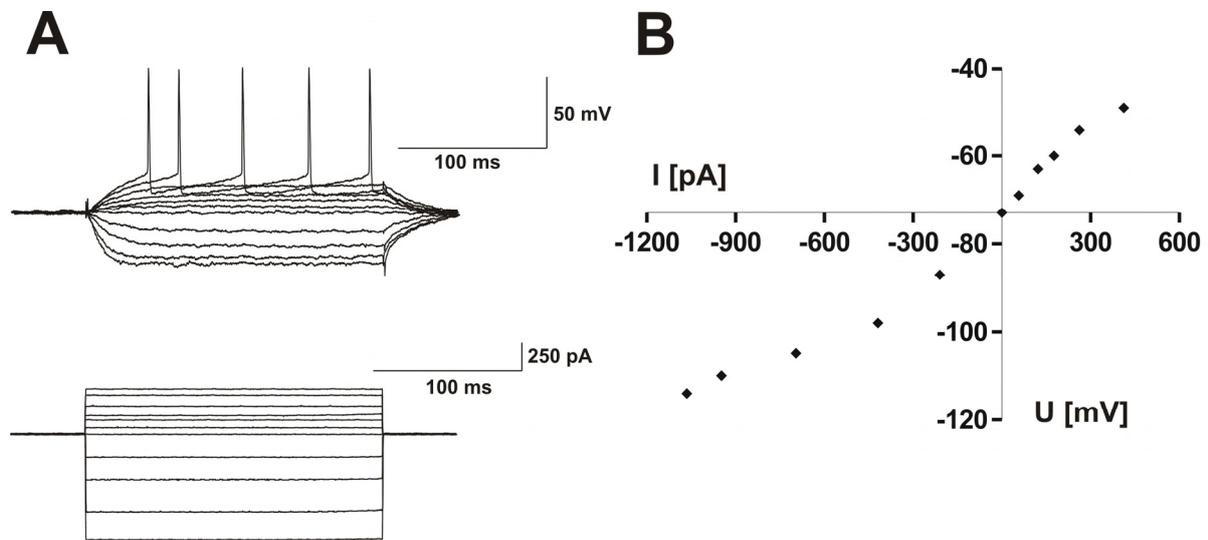


Abb. 3.2.: Darstellung einer repräsentativen IV-Kurve. **A** Darstellung der Ruhemembranpotenzialänderung (Schubert and Albrecht, 2008) in Abhängigkeit von der Stromapplikation (unten). Das Ruhemembranpotenzial lag bei -73 mV. Es wurden Stromstärken von -1065 pA bis 414 pA appliziert. **B** IV-Kurve.

3.1.2. EPSP – Amplituden bei intranukleärer Reizung

Bevor die Neurone auf die Möglichkeit einer LTD-Induktion untersucht wurden, wurde zunächst die basale synaptische Transmission gemessen und dafür jeweils eine I/O-Kurve erstellt (Abb. 3.3.). Dazu wurden nur EPSPs ohne Aktionspotenziale in die Auswertung mit einbezogen. Die Messungen der I/O-Abhängigkeit wurden bei dem Auftreten von Aktionspotenzialen abgebrochen. Insgesamt konnte bei 26 Zellen das I/O-Verhalten untersucht werden.

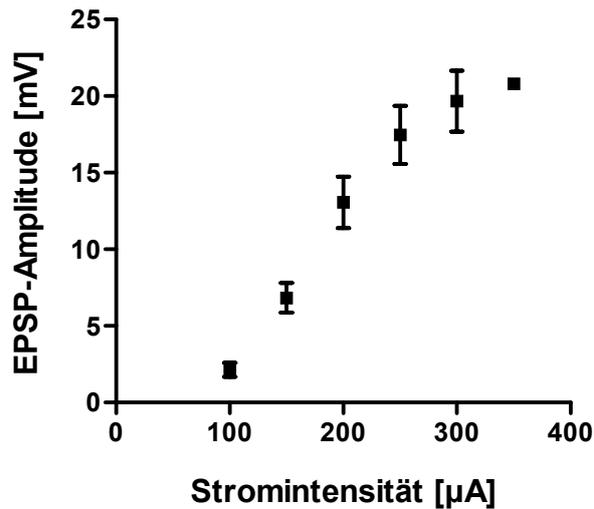


Abb. 3.3.: Darstellung der IO-Kurve bei intrazellulären Ableitungen in der lateralen Amygdala, (n = 26).

3.2. Extrazelluläre Messungen

3.2.1. Input/Output (I/O) – Verhalten

3.2.1.1. Inputspezifisches I/O – Verhalten (Züchter: Charles-River)

Neben der intranukleären Stimulation bei den intrazellulären Ableitungen wurden bei den extrazellulären Ableitungen zusätzlich die externe Kapsel (EC) gereizt und die Amplituden der Feldpotenziale verglichen. Die Mehrzahl der Messungen wurden an Wistarratten des Züchters Charles-River durchgeführt. Dafür wurden 16 männliche Tiere und 38 weibliche Tiere verwendet. Die Zahlenangaben für die einzelnen Stichproben (n) beziehen sich auf die jeweils verwendeten Hirnschnitte. Neben Wistarratten des Anbieters Charles-River wurden auch Tiere von Harlan-Winkelmann verwendet, da sich in unserer Arbeitsgruppe die Messergebnisse bei den Tieren von Harlan-Winkelmann besser reproduzieren ließen.

Im Unterschied zum coronalen Schnittpräparat enthält die externe Kapsel im horizontalen Hirnschnitt eine große Anzahl Fasern vom entorhinalen Kortex, welche den lateralen Kern erreichen (von Bohlen und Halbach and Albrecht, 2002). Um den Einfluss des entorhinalen Kortex auf die basale synaptische Transmission zu testen, wurden die I/O-Kurven mit (n = 15) und ohne entorhinalen Kortex (n = 8) bei Reizung der Fasern der externen Kapsel ermittelt (s. Abb. 2.4). Es wurden 9 weibliche Tiere

verwendet. Bei 3 von ihnen wurde während der Präparation der entorhinale Kortex entfernt (Abb. 3.4.).

Es zeigte sich eine Zunahme der Feldpotenzialamplituden beider Messreihen in Abhängigkeit von der gewählten Reizintensität. Obwohl die Grafik deutlich macht, dass bei EC-Reizung größere Feldpotenziale auftreten als bei intranukleärer Reizung, war dieser Unterschied nicht statistisch zu sichern. Interessanterweise ließen sich nach Entfernung des entorhinalen Kortexes noch größere Feldpotenzialamplituden erzielen, allerdings war auch dieser Unterschied nicht signifikant ($p > 0,05$, Mann Whitney Test).

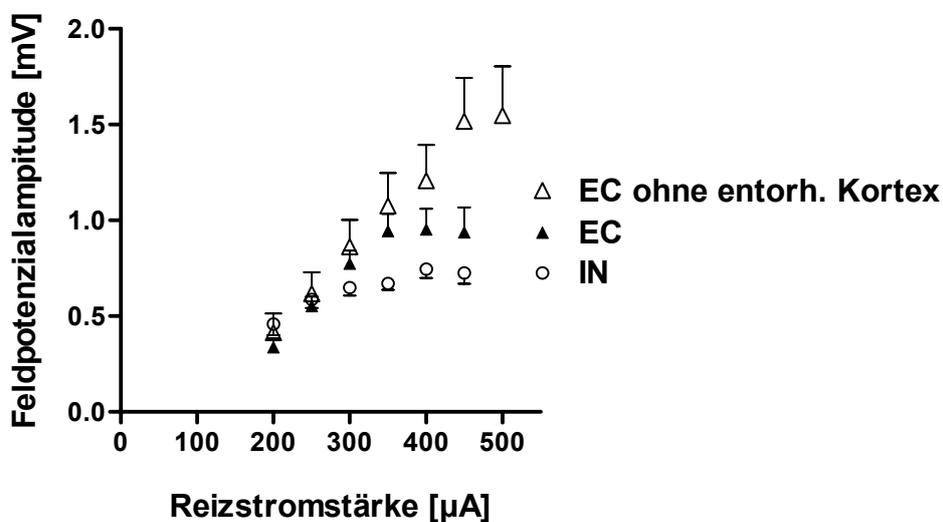


Abb. 3.4.: Darstellung der I/O - Kurven bei Stimulation der externen Kapsel (EC) ($n = 15$) im Vergleich zur Stimulation in der lateralen Amygdala (IN) ($n = 38$) ($p > 0,05$, Mann Whitney - Test) bzw. der externen Kapsel ohne entorhinalen Kortex ($n = 8$) ($p > 0,05$, Mann Whitney - Test).

3.2.1.2. Der Einfluss des GABA-Antagonisten Picrotoxin auf das I/O-Verhalten

Bei den männlichen Tieren von Harlan-Winkelmann wurde außerdem die Wirkung von $2 \mu\text{M}$ Picrotoxin auf die synaptische Transmission untersucht. Es ist davon auszugehen, dass mit diesen niedrigen Konzentrationen nur eine partielle Blockade der GABA_A -ergen Transmission erreicht wurde. Es wurde bei $n = 14$ Hirnschnitten zusätzlich unter dem Einfluss des Picrotoxins das I/O-Verhalten ermittelt und mit den Kontrollen vor dem

Einwaschen verglichen (Abb. 3.5.). Wie auch in der Grafik ersichtlich wurde kein signifikanter Unterschied festgestellt, $p > 0,05$ (Wilcoxon-Test).

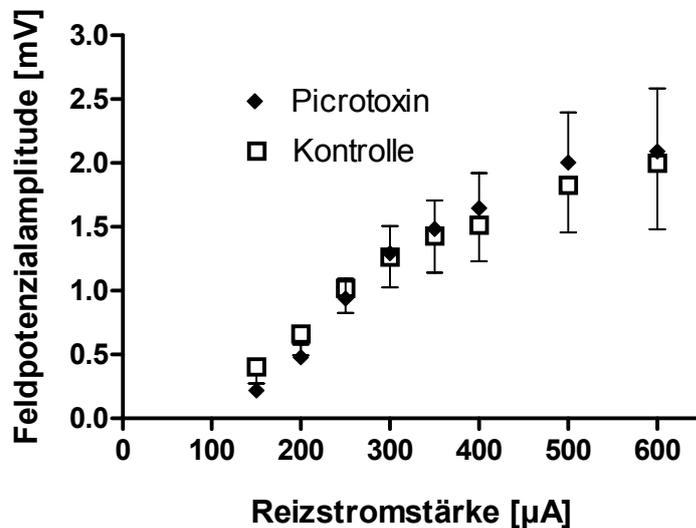


Abb. 3.5.: Vergleich der IO-Kurven mit 2 μ M PicROTOXIN ($n=14$) und den Kontrollen ohne PicROTOXIN ($n=14$) bei männlichen Ratten von Harlan-Winkelmann, $p > 0,05$.

3.3. Die LTD im lateralen Kern der Amygdala

3.3.1. Ableitungen mit der scharfen Mikroelektrode

Im Unterschied zu den Experimenten der Arbeitsgruppe Pape (Heinböckel and Pape, 2000), die zur Induktion der LTD im lateralen Kern eine Thetapulsstimulation (TPS) thalamischer Afferenzen im coronalen Schnittpräparat verwendeten, nutzten wir in den intrazellulären Ableitungen die „klassische“ niederfrequente Stimulation (900 Pulse, 1 Hz). Diese Stimulation wurde bei ca. 50% der maximalen EPSP-Amplitude intranukleär appliziert. Bei 11 von 18 Zellen (61%) induzierte die niederfrequente Stimulation eine stabile LTD (Abb. 3.6.).

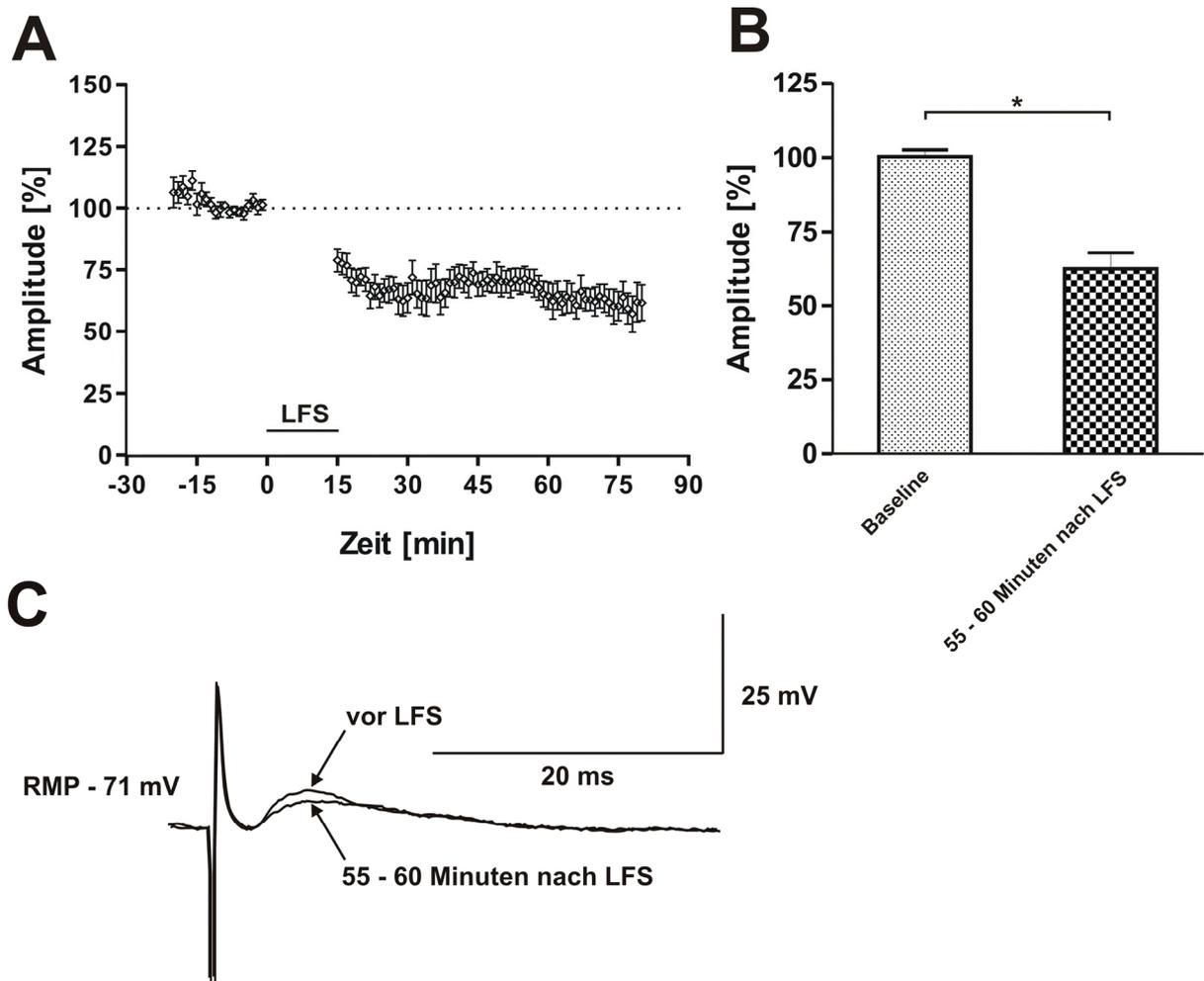


Abb. 3.6.: **A:** Darstellung der LTD bei intrazellulärer Ableitung in der lateralen Amygdala an pharmakologisch unbehandelten Hirnschnitten. **B:** Balkendiagramm der statischen Analyse mit $p < 0,05$ zwischen der Kontrolle vor der LFS und den letzten 6 Minuten nach der LFS. **C:** Typische EPSPs einer Zelle vor und 55. – 60. Minute nach der LFS.

Diese 11 Zellen hatten ein Ruhemembranpotenzial von $-71,6 \pm 1,9$ mV, einen Eingangswiderstand von $63,3 \pm 2,9$ M Ω und eine Zeitkonstante (τ_{Anstieg}) von 25,7 ms. Ab einem Schwellenpotenzial größer als $-51,8 \pm 2,2$ mV traten Aktionspotenziale von $76,6 \pm 1,2$ mV auf. Die anderen Zellen, bei denen keine LTD auftrat, unterschieden sich in diesen Parametern nicht signifikant von den Zellen, bei denen eine LTD induziert werden konnte.

Bei der intrazellulären Registrierung der EPSPs konnte eine stabile LA-LTD durch eine niederfrequente Stimulation (low frequency stimulation, LFS) induziert werden. Dabei kam es zu einer Reduktion der Amplitude der EPSPs von $100,4 \pm 2,3\%$ auf $62,5 \pm$

5,5%. Ähnliche Ergebnisse wurden bei der Analyse der Anstiege (Slope) erzielt. Auf eine weitere Slopeanalyse wurde aber verzichtet, da in den extrazellulären Ableitungen die Streuung mit dieser Analyseemethode sehr groß war. Der Unterschied zwischen der Kontrolle vor dem LFS und den letzten 6 Minuten der Messung war mit $p < 0,05$ (Wilcoxon-Test) signifikant. Eine Hemmung des GABA-Systems war dabei nicht erforderlich. Dies spiegelt die Ergebnisse der extrazellulären Messungen bei Tieren von Harlan-Winkelmann wider.

3.3.2. Extrazelluläre Ableitungen

Für die Ergebnisse dieses Abschnittes wurden Experimente durchgeführt, die zum einen den Einfluss des Geschlechtes, des Stimulationsortes, des Reizparadigmas und der Rezeptorphysiologie und zum anderen die Möglichkeit der Reversibilität der Langzeit-Depression im lateralen Kern der Amygdala untersuchten. Dabei waren die Positionen der Ableitelektrode und der Reizelektrode in Abhängigkeit des untersuchten Stimulationsortes bei allen Messungen annähernd gleich, um die Bedingungen bei den Experimenten ähnlich zu gestalten.

Für die folgenden Untersuchungen wurden die entsprechenden Experimente bei 53 weiblichen Tieren von Charles-River und 3 weiblichen bzw. 6 männlichen Tieren von Harlan-Winkelmann durchgeführt.

3.3.2.1. Die LTD in Abhängigkeit vom Geschlecht der Versuchstiere

Der Einfluss des Geschlechtes auf die Stärke der LTD wurde an männlichen ($n = 11$) und weiblichen Tieren ($n = 10$) von der Zucht Harlan-Winkelmann untersucht.

Die statistischen Vergleiche der 6 Minuten vor der LFS mit den letzten 6 Minuten am Ende der Messungen, jeweils für die weiblichen und die männlichen Tiere, erbrachten für beide Messreihen signifikante Unterschiede, $p < 0,05$ (Wilcoxon – Test). Somit induzierte die niederfrequente Reizung (LFS) in der lateralen Amygdala jeweils eine stabile LTD mit einer Reduktion der Feldpotenzialamplitude bei den weiblichen Tieren von $100,0 \pm 1,0\%$ auf $70,7 \pm 4,3\%$ und bei den männlichen Tieren von $100,3 \pm 1,4\%$ auf

72,0 ± 5,7% (Abb. 3.7.). Ein geschlechtsspezifischer Unterschied konnte nicht nachgewiesen werden ($p > 0,05$; Mann Whitney - Test).

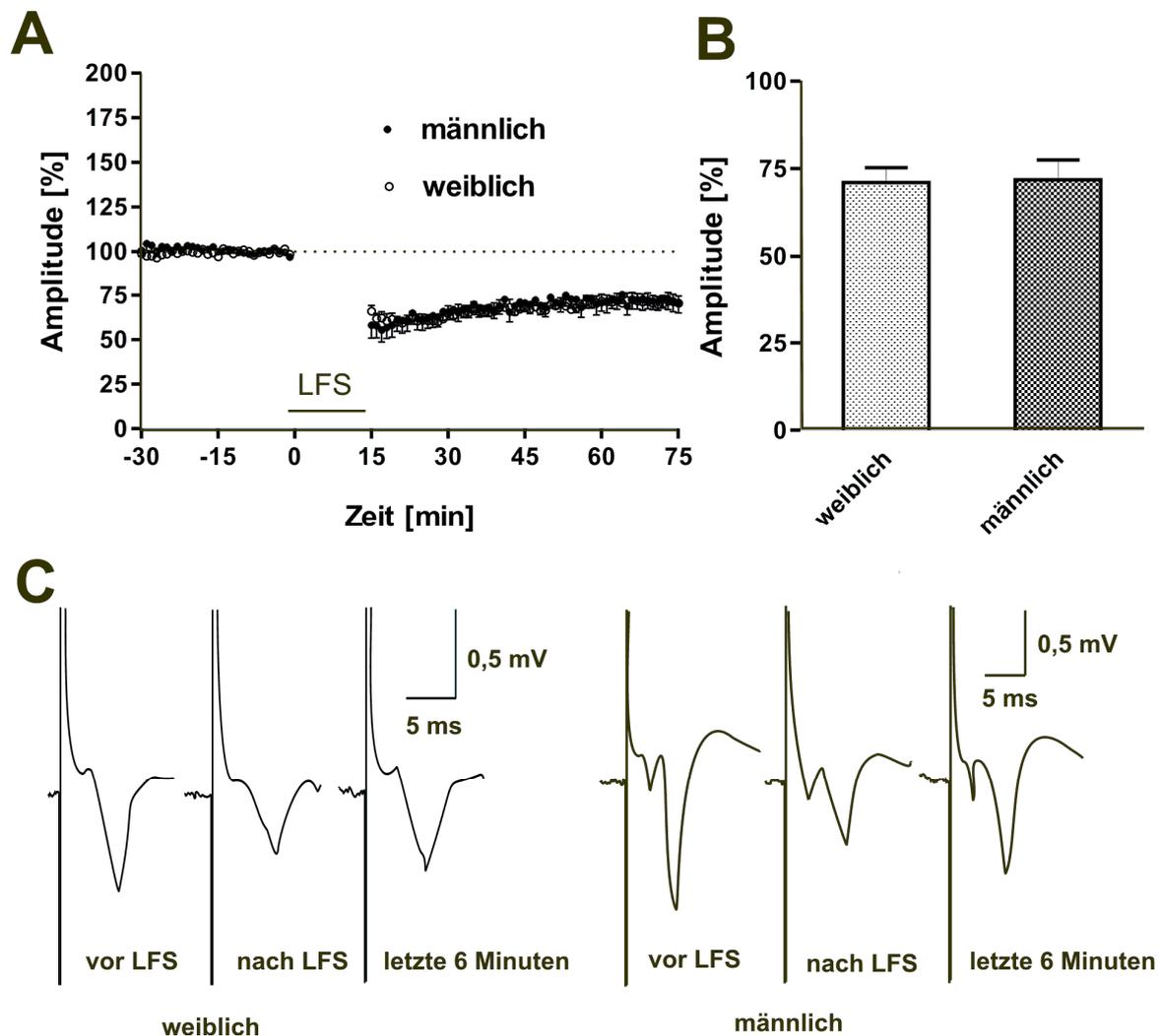


Abb.3.7.: **A:** Darstellung der LTD-Kurven von weiblichen ($n = 11$) und männlichen ($n = 10$) Wistarratten von Harlan-Winkelmann ohne pharmakologischem Einfluss (**LFS**: Niedrigfrequenzstimulus). **B:** Balkendiagramm zum Vergleich der Minuten 55 - 60 nach LFS. Es besteht kein signifikanter Unterschied, $p > 0,05$. **C:** Darstellung repräsentativer Feldpotenziale (von links nach rechts) vor dem LFS, nach dem LFS und zum Ende der Messung jeweils für die weiblichen und die männlichen Tiere.

3.3.2.2. Unterschiede innerhalb des Wistarstammes in Abhängigkeit vom Züchter – Der Einfluss GABAerger Interneurone auf die Induktion der LTD

Bei männlichen Wistarratten von Harlan-Winkelmann kam es unter pharmakologischen Einfluss des GABA-Antagonisten Picrotoxin ($n = 9$) und bei Reizung im lateralen Kern der Amygdala (IN) zu einer schwächeren Ausprägung der LTD mit einer Reduktion der Feldpotenzialamplitude von $100,6 \pm 1,3\%$ auf $84,0 \pm 5,6\%$ (Abb. 3.8.) Im statistischen Vergleich war der Unterschied zu den naiven männlichen Tieren aus Abb. 3.5. mit $p < 0,05$ (Mann Whitney – Test) signifikant.

Interessanterweise führte Picrotoxin während der intranukleären Reizung bei weiblichen Tieren von Charles-River zu einer Verstärkung der LTD. Die Feldpotenzialamplitude reduzierte sich unter Picrotoxin von $99,5 \pm 1,7\%$ auf $64,8 \pm 7,3\%$ ($n = 7$). Im Vergleich dazu kam es bei Kontrollmessungen mit naiven Hirnschnitten nur zu einer Reduktion der Feldpotenzialamplitude von $100,0 \pm 1,6\%$ auf $91,8 \pm 3,6\%$ ($n = 7$). Der statistische Unterschied war zwischen beiden Messreihen mit $p < 0,05$ (Mann Whitney - Test) signifikant (Abb. 3.9.). In beiden Messreihen konnte eine durch die LFS bedingte, signifikante Reduzierung der Feldpotenzialamplituden durch Vergleich der letzten 6 min in der Kontrollperiode vor der LFS mit den letzten 6 min vor dem Ende der Messung (55. – 60. min nach LFS) ($p < 0,05$; Wilcoxon- Test) nachgewiesen werden.

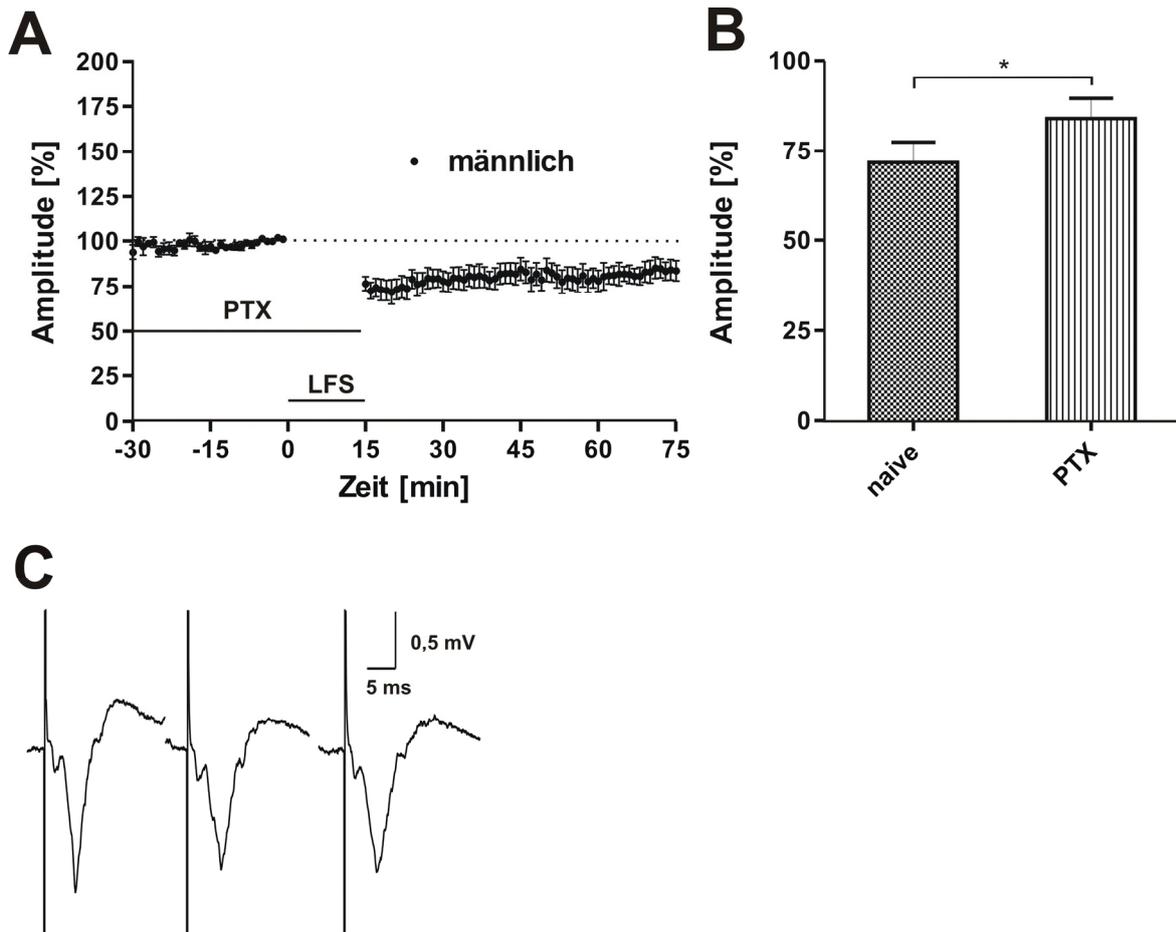


Abb. 3.8.: **A:** Darstellung der LTD bei männlichen Wistarratten von Harlan-Winkelmann unter Einfluss von 2 μ M Picrotoxin. Picrotoxin wurde über 45 min bis LFS-Ende eingewaschen. **B:** Balkendiagramm der Minuten 55 – 60 nach LFS mit Mittelwert und SEM. Der Unterschied war mit $p < 0,05$ (*) signifikant. **C:** Repräsentative Originalableitungen von Feldpotenzialen (von links nach rechts) vor dem LFS, nach dem LFS und am Ende der Messung.

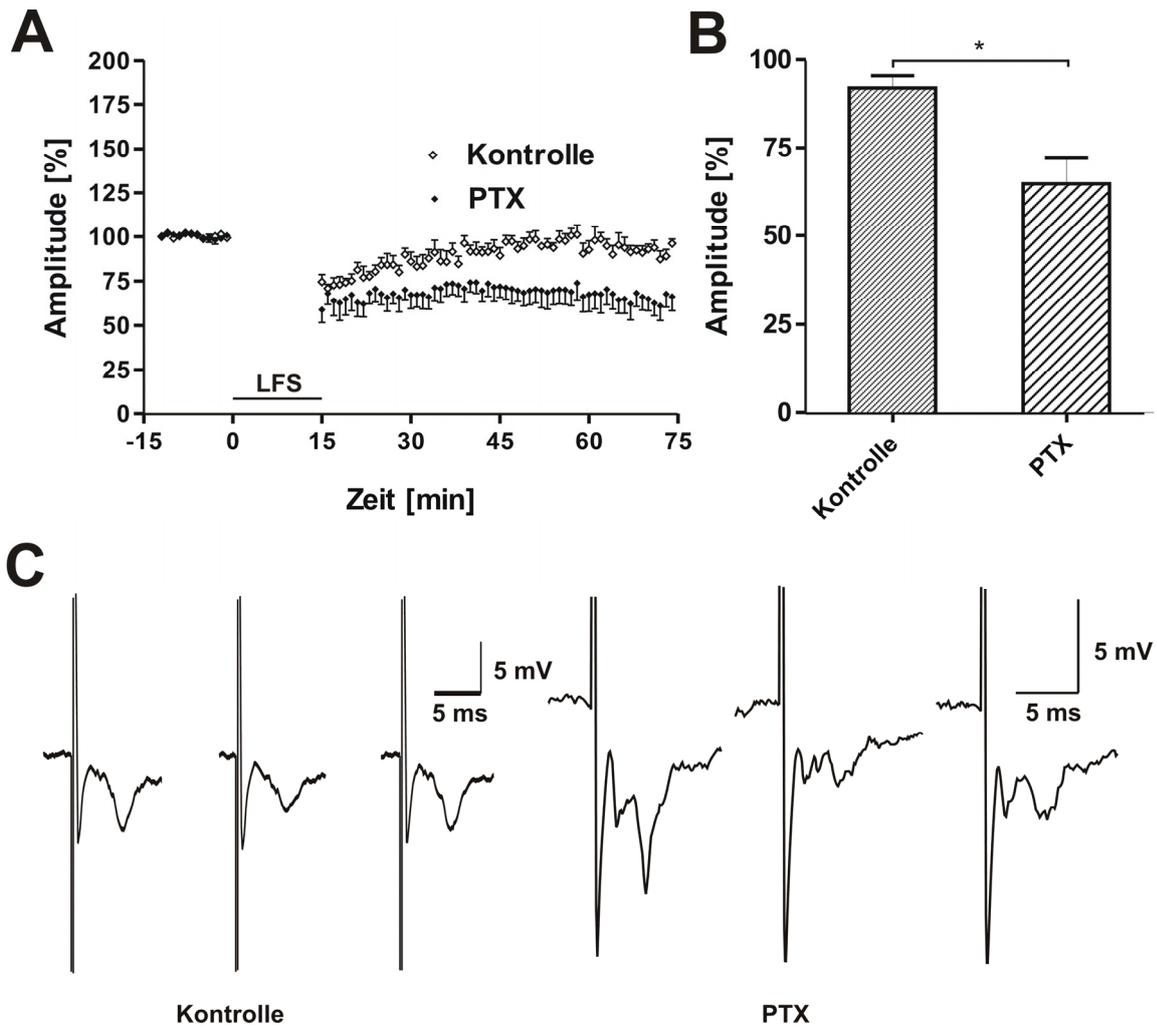


Abb. 3.9.: **A:** Induktion von LTD bei weiblichen Charles-River-Ratten: Kontrollmessungen im Vergleich zu Messungen mit 2 μM Picrotoxin perfundierten Hirnschnitten. **B:** Das Balkendiagramm zeigt Mittelwert und SEM für 55. – 60. min nach der LFS. Der Unterschied ist mit $p < 0,05$ (*) statistisch signifikant. **C:** Darstellung repräsentativer Feldpotenziale jeweils für die naive Kontrolle und die Hirnschnitte unter dem Einfluss von Picrotoxin, vor dem LFS, nach LFS und 55. - 60. Minute nach LFS (von links nach rechts).

3.3.2.3. Nachweis der Inputspezifität der LTD

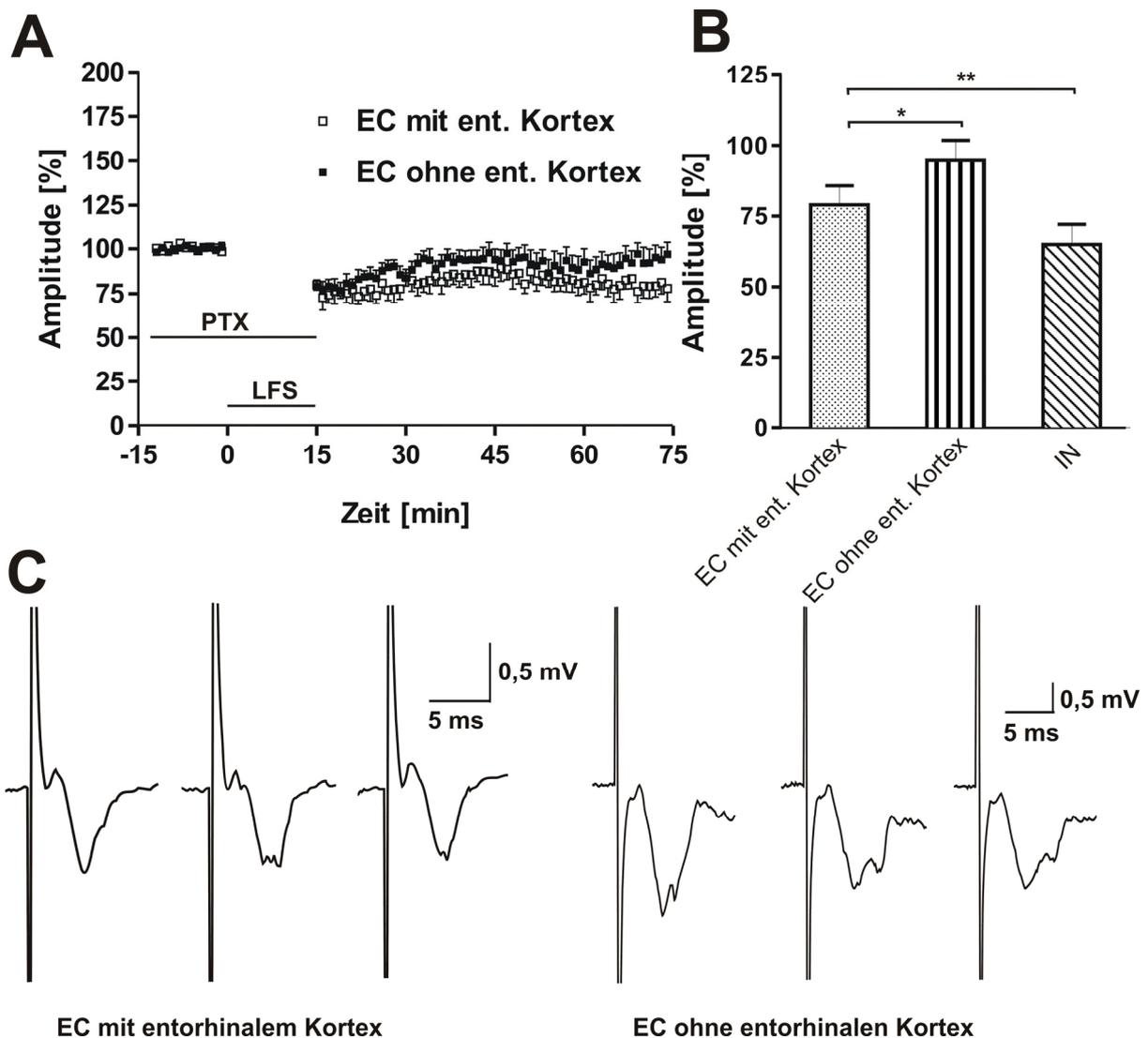


Abb. 3.10.: **A:** Darstellung der LTD bei Reizung der externen Kapsel (EC) mit und ohne entorhinalen Kortex. **B:** Balkendiagramm mit Darstellung der jeweils letzten 6 Minuten der Messungen für die statistische Analyse. Der Unterschied war jeweils zwischen den Messungen mit Reizung in der externen Kapsel mit erhaltenem entorhinalen Kortex und in der lateralen Amygdala (IN) (**), bzw. ohne den entorhinalen Kortex (*) signifikant. **C:** Darstellung einzelner EC-induzierter Feldpotenziale mit und ohne entorhinalen Kortex, vor dem LFS, nach dem LFS und der letzten 6 Minuten der Messungen (von links nach rechts).

Aus Untersuchungen im coronalen Schnittpräparat ist bekannt, dass auch für die laterale Amygdala ein Kriterium der LTD ihre Inputspezifität ist (Heinböckel and Pape, 2000). Heinböckel und Pape (2000) konnten bei Thetapulsreizung thalamischer

Afferenzen LTD induzieren, während Thetapulsreizung der externen Kapsel die basale Aktivität nicht signifikant beeinflusste. Es war zu prüfen, ob möglicherweise bei Reizung der externen Kapsel im horizontalen Schnittpräparat aufgrund unterschiedlicher Konnektivität im Vergleich zum coronalen Hirnschnitt eine LTD in der LA auslösbar ist. Weiterhin wurde bei einem Teil der Hirnschnitte nach der Präparation der entorhinale Kortex entfernt, um dessen Einfluss auf die Induktion einer LTD in der lateralen Amygdala zu untersuchen (Abb. 3.10.). Alle Messungen wurden unter dem Einfluss von 2 μ M Picrotoxin an weiblichen Tieren von Charles-River durchgeführt.

Der Vergleich der Messungen mit intranukleärer Reizung ($n = 7$) unter dem Einfluss von Picrotoxin mit den Messungen mit Reizapplikation in der externen Kapsel mit erhaltenem entorhinalem Kortex ($n = 7$) ergab signifikante Unterschiede mit $p < 0,05$ (Mann Whitney - Test). Im Gegensatz zur intranukleären Reizung kam es nur zu einer Reduktion der Feldpotenzialamplitude von $100,3 \pm 1,6\%$ auf $79,0 \pm 6,7\%$. Die Analyse der Werte für die 6 Minuten vor der LFS im Vergleich mit den letzten 6 Minuten am Ende der Messungen erbrachte im Wilcoxon – Test ebenfalls einen signifikanten Unterschied mit $p < 0,05$.

Bei den Messungen, bei denen der entorhinale Kortex entfernt wurde ($n = 7$), war die Verringerung der Feldpotenzialamplitude von $100,1 \pm 1,7\%$ auf $94,7 \pm 1,1\%$ nochmals schwächer ausgeprägt. Dabei war der Unterschied zwischen den Messungen in der externen Kapsel mit und ohne dem entorhinalen Kortex mit $p < 0,05$ (Mann Whitney – Test) signifikant. Auch bei der gepaarten Analyse (Wilcoxon – Test) der Werte vor der LFS im Vergleich mit den letzten 6 Minuten der Messungen zeigte sich ein signifikanter Unterschied mit $p < 0,05$, obwohl bei einer 5%igen Reduzierung der Feldpotenzialamplituden kaum von einer LTD zu sprechen ist.

Zusammenfassend zeigen diese Ergebnisse, dass unter dem Einfluss von Picrotoxin durch Reizung der Fasern, die den lateralen Kern durchziehen, eine stärkere LA - LTD ausgelöst wird als bei Reizung der kortikalen Fasern, die die externe Kapsel durchziehen. Allerdings war auch bei Reizung der externen Kapsel die LTD induzierbar, welche aber durch die Isolation der externen Kapsel vom entorhinalen Kortex signifikant reduziert wurde.

3.3.2.4. Einfluss des Paradigmas auf die Induktion der LTD

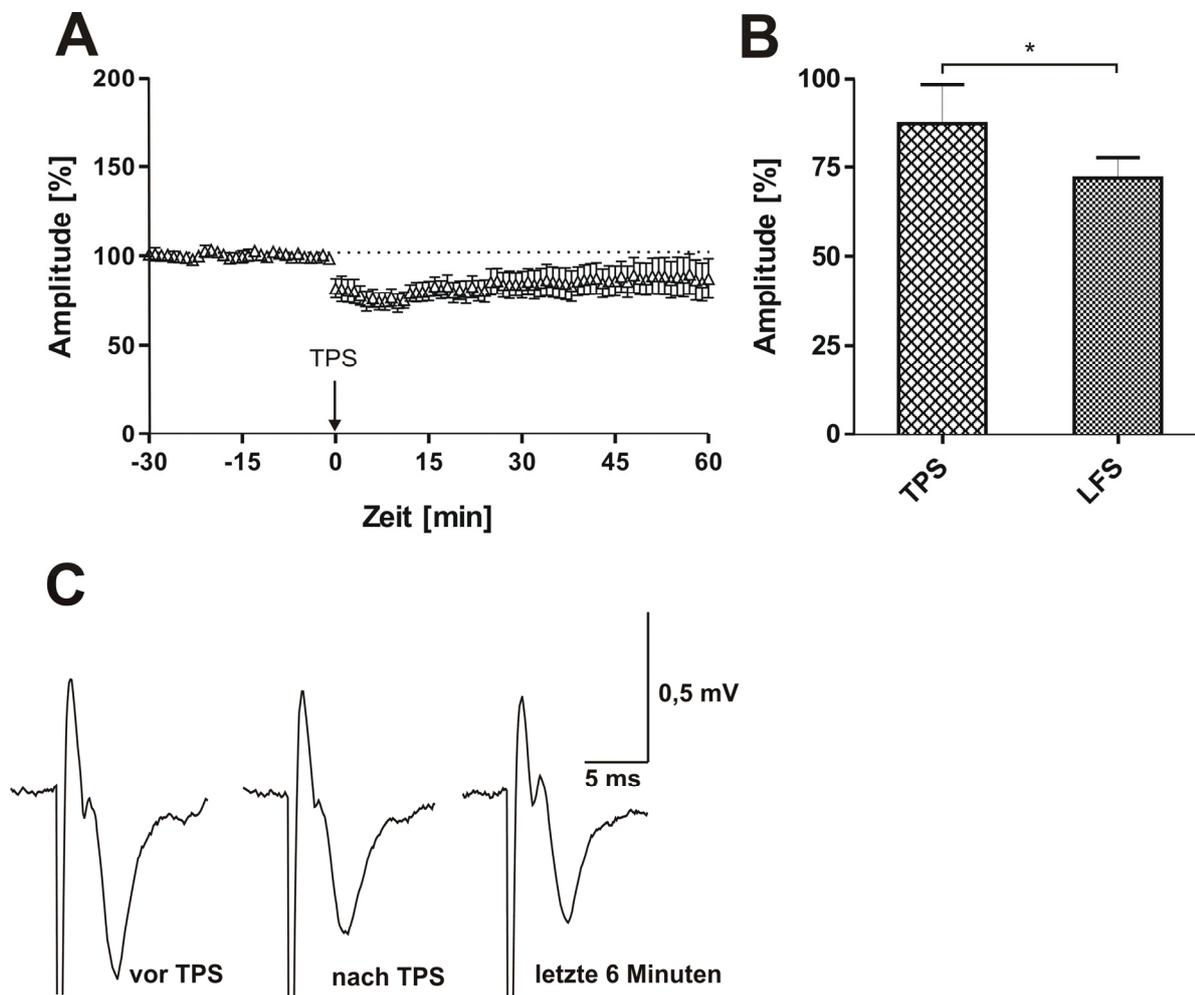


Abb. 3.11.: **A:** Darstellung der LTD, die durch den TPS induziert wurde (n = 7). **B:** Balkendiagramm zum Vergleich der Minuten 55-60 nach LFS bzw. TPS. Die LTD nach TPS war signifikant schwächer als nach LFS. **C:** Darstellung von einzelnen Feldpotenzialen während der Untersuchung des Einflusses des TPS auf die LTD.

Um die Daten mit den Messergebnissen im coronalen Hirnschnitt (Heinböckel and Pape, 2000) besser vergleichen zu können, wurde auch die Wirksamkeit einer Thetapuls-Stimulation (TPS) intranukleärer Fasern bei männlichen Tieren von Harlan-Winkelmann getestet (Abb. 3.11.).

Dabei kam es zu einer schwächeren Reduktion der Feldpotenzialamplitude von $99,6 \pm 1,0\%$ auf $87,4 \pm 10,9\%$ (n = 7) als im Vergleich zur LTD nach dem LFS (siehe 3.1.2.1.).

Der Unterschied war zwischen Kontrolle und den letzten 6 Minuten mit $p < 0,05$ (Wilcoxon Test) signifikant. Somit lässt sich im horizontalen Hirnschnitt auch eine stabile LTD durch TPS auslösen. In Übereinstimmung mit Daten, die an älteren Wistar-Ratten von Harlan-Winkelmann in unserem Labor gewonnen wurden (Schubert et al., 2005) ist die TPS-induzierte LA-LTD aber schwächer ausgeprägt als die LFS-induzierte LTD. Diese Aussage wird dadurch gestützt, dass signifikante Differenzen zwischen TPS- und LFS-induzierter LTD nachweisbar waren ($p < 0,05$; Mann Whitney - Test).

3.3.2.5. Reversibilität und Priming

Es gibt bisher nur wenige Befunde, die zeigen, dass zumindest in der basolateralen Amygdala LTP durch LFS depotenzierbar ist (Aroniadou-Anderjaska et al., 2001). Drephal et al. (2006) konnten kürzlich zeigen, dass LTP, welche intranukleär im horizontalen Hirnschnitt induziert wurde, durch LFS depotenzierbar ist, wenn die niederfrequente Reizung 10 min nach LTP-Induktion verabreicht wurde. Nach 20 min war der Depotenzierungseffekt wesentlich schwächer ausgeprägt. Hinsichtlich einer Intervention durch HFS nach Induktion einer stabilen LTD lagen für die laterale Amygdala keine Daten vor. Deshalb wurde in pharmakologisch nicht behandelten Hirnschnitten von weiblichen Charles-River Ratten erst durch intranukleäre LFS eine LTD induziert und dann 20 Minuten nach der Induktion der LTD entweder ein Theta-Burst - Stimulus (TBS) bzw. ein Hochfrequenzstimulus (HFS) appliziert und danach für 60 Minuten die Feldpotenziale registriert (Abb. 3.12.).

Nach dem LFS kam es jeweils zu einer signifikanten Reduktion der Feldpotenzialamplitude auf $71,6 \pm 6,3\%$ in der Messreihe, in der TBS später verwendet wurde, und $66,2 \pm 8,3\%$ in der Messreihe in der später HFS verwendet wurde ($p < 0,05$; Wilcoxon Test). Der statistische Unterschied zwischen beiden Kurven war wie zu erwarten nicht signifikant ($p > 0,05$; Mann Whitney-Test).

Nach TBS wurde die LFS-induzierte LTD in der LA komplett blockiert (Reversal). Die Feldpotenzialamplitude erreichte nach dem TBS mit $103,3 \pm 10,1\%$ annähernd den Ausgangswert der Kontrolle vor der LFS mit $98,3 \pm 2,0\%$ ($n = 8$). Der Unterschied war mit $p > 0,05$ (Wilcoxon Test) nicht signifikant.

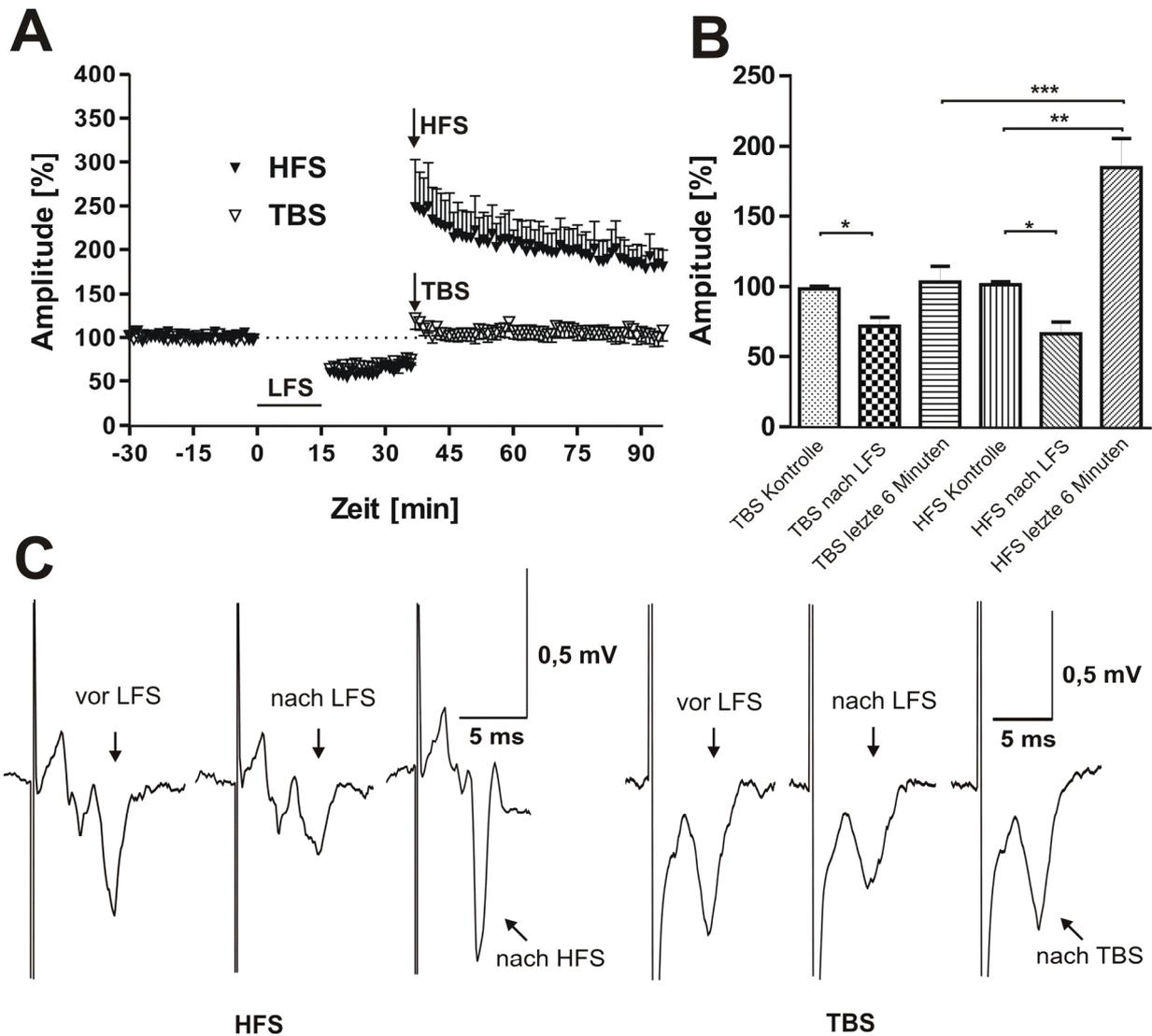


Abb. 3.12.: **A:** Darstellung der Reversibilität der LTD nach Applikation eines Theta-Burst-Stimulus (TBS) bzw. eines Hochfrequenzstimulus (HFS) nach LFS der intranukleären Fasern. Der TBS führte zu einer Aufhebung der LTD und der HFS zu einer starken Potenzierung der Feldpotenzialamplituden. **B:** Balkendiagramm der statistischen Analyse. Die Reduktion der Feldpotenziale war jeweils nach LFS signifikant (*). Nach der HFS kam es zu einer signifikanten Potenzierung (**). Der Unterschied zwischen beiden Kurven in den letzten 6 Minuten nach TBS bzw. HFS war ebenfalls signifikant (***). **C:** Darstellung repräsentativer Feldpotenziale.

Durch den HFS kam es zu einer Potenzierung der Feldpotenzialamplitude auf $184.5 \pm 21,1\%$ ($n = 8$). Der Unterschied zur Kontrolle vor der LFS mit $101,4 \pm 1,9\%$ war mit $p < 0,05$ (Wilcoxon Test) signifikant. Diese Potenzierung der Feldpotenzialamplituden war größer als die Potenzierung, die durch HFS allein im horizontalen Hirnschnitt induziert werden kann (Drephal et al., 2006; Kaschel et al., 2004; Schubert et al., 2005), wo in der Regel eine 50%ige Steigerung der HFS-induzierten Feldpotenzialamplituden zu

beobachten ist. Die Analyse der 55. - 60. Minute nach der Applikation des TBS bzw. HFS erbrachte einen signifikanten Unterschied von $p < 0,05$ (Mann Whitney-Test) zwischen beiden Kurven. Diese Daten zeigen, dass es eines starken Reizes bedurfte, um eine solche Potenzierung zu beobachten.

3.3.2.6. NMDA – Abhängigkeit der LTD

Nach Charakterisierung der LTD war es nun interessant zu wissen, welche Mechanismen an der Generierung einer LTD in der lateralen Amygdala beteiligt sind. Bis zum Zeitpunkt dieser Arbeit war für die laterale Amygdala nur bekannt, dass metabotrope Glutamatrezeptoren in die Induktion einer LA-LTD involviert sind (Heinböckel and Pape, 2000). Allerdings ist von der CA1-Region des Hippocampus bekannt, dass auch NMDA-Rezeptoren für die LTD relevant sind. Wir prüften die NMDA-Abhängigkeit sowohl an männlichen Tieren von Harlan-Winkelmann als auch an weiblichen Tieren von Charles-River. Dabei wurde die Stärke der LTD, ausgelöst durch LFS intranukleärer Fasern, signifikant durch die Anwesenheit des NMDA-Antagonisten APV beeinflusst. Bei den Tieren von Harlan-Winkelmann wurde nur APV eingewaschen, da es ohne einen GABA-Antagonisten zu einer stabilen LTD kam (Abschnitt 3.1.2.2.). Dazu wurde APV in einer Konzentration von 50 μM während der Kontrollphase und während der niederfrequenten Reizung (LFS 1) über 45 min eingewaschen. Da die Messungen jeweils am selben Hirnschnitt ohne Veränderung der Elektroden durchgeführt wurden, erfolgte die statistische Prüfung mit dem Wilcoxon Test für verbundene Stichproben.

Dabei zeigte sich unter APV, dass es nach der LFS nicht zu einer Reduktion der Feldpotenzialamplitude kam. Dabei war der Unterschied von der Kontrolle mit $99,4 \pm 0,8\%$ zur Registrierung nach der LFS1 mit $101,5 \pm 7,1\%$ mit $p > 0,05$ (Abb. 3.13.) nicht signifikant.

Nach einer ausreichenden langen Auswaschzeit von 2 Stunden wurde noch einmal eine niederfrequente Reizung (LFS 2) appliziert. Nach Auswaschen von APV kam es zu einer stabilen LTD mit einer Reduktion der Feldpotenzialamplitude auf $70,8 \pm 7,1\%$. Der Unterschied zu der vorherigen Registrierung der Feldpotenzialamplituden war mit $p < 0,05$ signifikant.

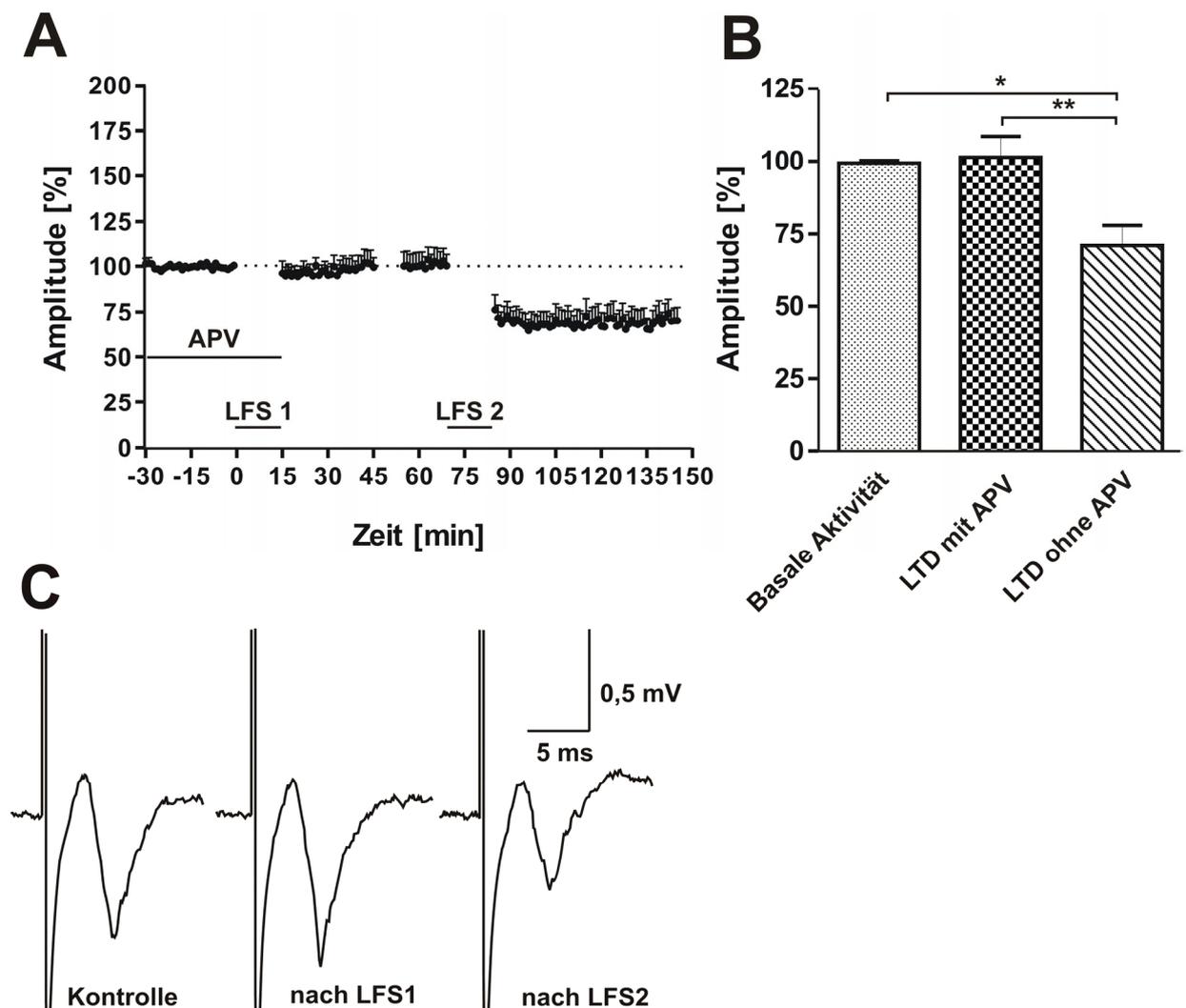


Abb. 3.13.: **A:** Darstellung der LTD unter dem Einfluss von APV ($n = 8$) bei Tieren von Harlan-Winkelmann. Es wurde ein LFS1 unter Einwaschen von APV und ein LFS2 nach einer Auswaschzeit von 2 Stunden appliziert. **B:** Balkendiagramm der statischen Analyse. Die Unterschiede (*) und (**) waren signifikant. **C:** Repräsentative Feldpotenziale.

Bei den Tieren von Charles-River wurde zum APV zusätzlich $2 \mu\text{M}$ Picrotoxin ein- gewaschen. Nach der Applikation der LFS kam es nicht nur zu einer Verringerung der Feldpotenzialamplitude, sondern zu einer geringen Potenzierung, sodass die Feldpotenzialamplitude in den letzten 6 Minuten $117,7 \pm 9,1\%$ betrug (Abb. 3.14.). Im Vergleich mit den Kontrollen unter dem Einfluss von $2 \mu\text{M}$ Picrotoxin bei weiblichen Tieren von Charles-River war der Unterschied mit $p < 0,05$ (Mann Whitney-Test) signifikant.

Im Wilcoxon Test ergab die Analyse für verbundene Stichproben im Vergleich der Kontrolle vor der LFS mit den letzten 6 Minuten der Messungen einen signifikanten Unterschied mit $p < 0,05$ (Wilcoxon Test).

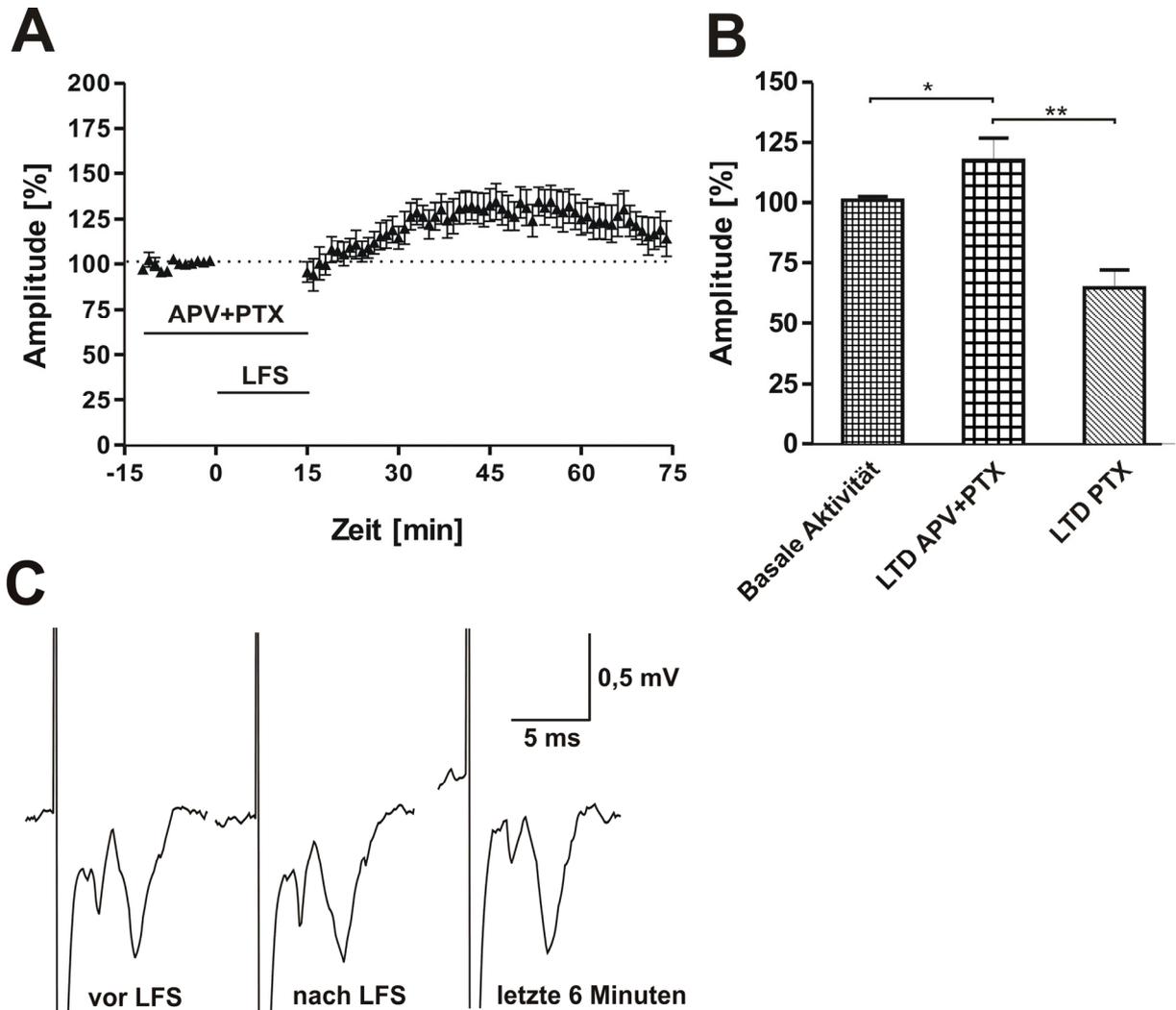


Abb. 3.14.: **A:** Darstellung der LTD unter dem Einfluss von 50 μM APV und 2 μM Picrotoxin (PTX) ($n=7$) bei weiblichen Wistarratten von Charles River. APV verhindert als NMDA-Antagonist die Ausbildung einer stabilen LTD. **B:** Balkendiagramm mit der statischen Analyse. Die Werte vor dem LFS und die letzten 6 Minuten unterscheiden sich signifikant (*), $p = 0,03$. Der Unterschied zur Messung mit 2 μM PTX war signifikant (**), $p = 0,0022$. **C:** Repräsentative Feldpotenziale unter dem Einfluss von APV und PTX.

3.3.2.7. Rolle der metabotropen Glutamatrezeptoren bei der Induktion der LTD

Der Einfluss der metabotropen Glutamatrezeptorantagonisten (mGluR-Antagonisten) wurde mit zwei verschiedenen selektiven Antagonisten bei intranukleärer Stimulation geprüft. Zuerst wurde der mGluR-Antagonist MCCG allein und in Kombination mit Picrotoxin bei weiblichen Tieren von Charles-River eingesetzt.

Bei der Applikation von 50 μM MCCG ohne Picrotoxin ($n = 8$) kam es nur zu einer geringen Reduktion der Feldpotenzialamplitude nach der LFS. Im Vergleich zu der LTD ohne pharmakologischen Einfluss bei intranukleärer Reizung an weiblichen Tieren von Charles-River war der Unterschied nach der niederfrequenten Stimulation nicht signifikant, $p > 0,05$ (Mann Whitney-Test). Dabei betrug die Feldpotenzialamplitude unter dem Einfluss von MCCG in den letzten 6 Minuten nach der LFS $92,0 \pm 4,9\%$. Bei dem statistischen Vergleich zwischen den Experimenten, bei denen zum einen die Hirnschnitte nur mit 2 μM Picrotoxin (siehe 3.1.2.2.) und zum anderen zusätzlich mit 50 μM MCCG perfundiert wurden, kam es bei MCCG in Kombination mit Picrotoxin ($n = 8$) nach dem LFS nicht zu einer Reduktion der Feldpotenzialamplitude (Abb. 3.15.). Diese betrug in den letzten 6 Minuten nach der LFS $107,4 \pm 9,8\%$. Der Unterschied war mit $p < 0,05$ (Mann Whitney-Test) statistisch signifikant.

Als weitere Substanz wurde CPPG untersucht. Es stellte sich nach 3 Messungen kein erkennbarer Unterschied zu den Experimenten mit MCCG heraus, sodass diese Untersuchungen nicht weiter fortgesetzt wurden. Die Feldpotenzialamplitude betrug in den letzten 6 Minuten nach der LFS $95,1 \pm 6,0\%$ (Abb. 3.16.).

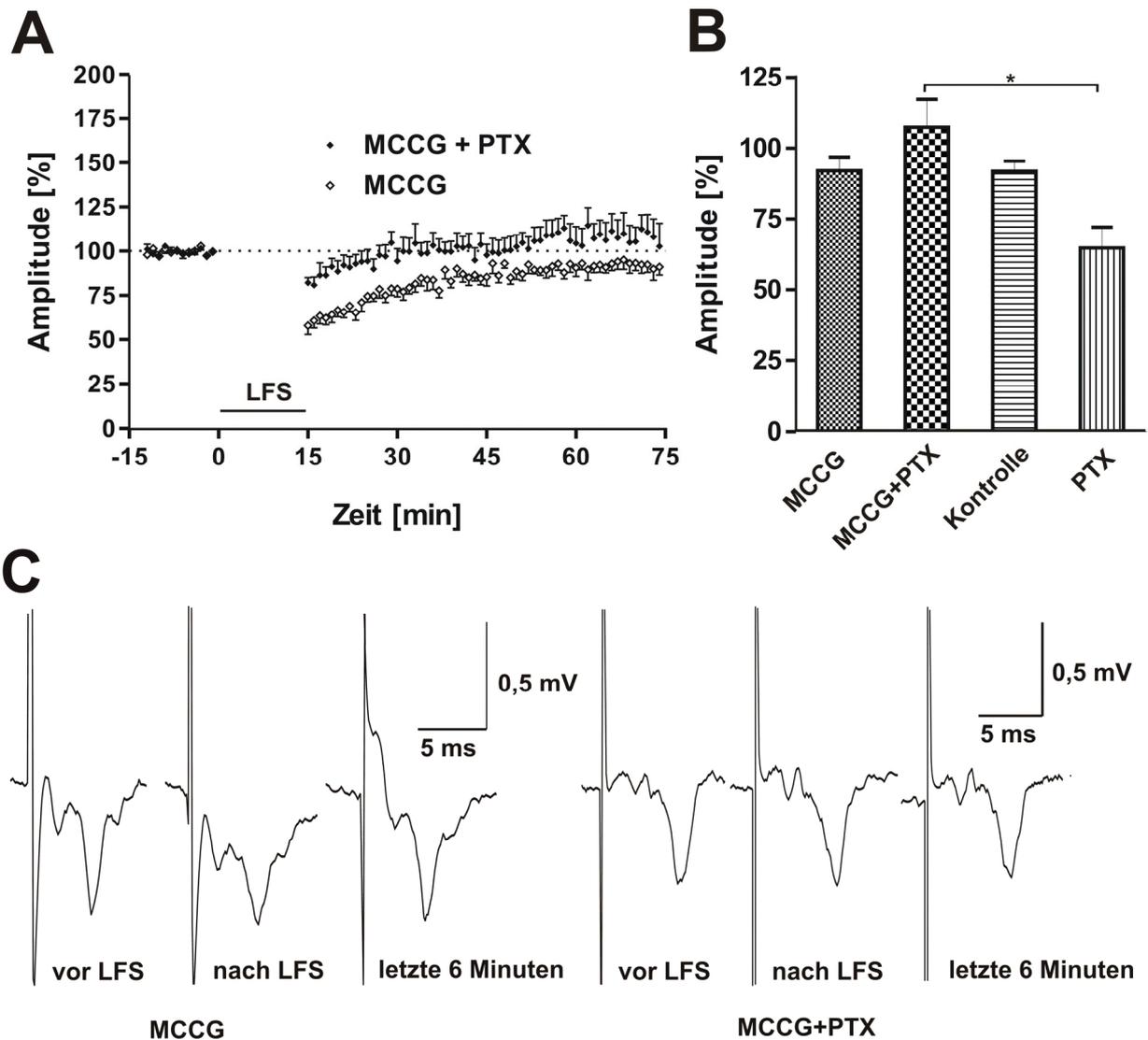


Abb. 3.15.: **A:** Kurvendarstellung der Abhängigkeit der LFS-induzierten LTD vom metabotropen Glutamaterezeptorantagonisten MCGG bei intranukleärer Reizung. Unter dem Einfluss von MCGG in Kombination mit PTX ($n = 8$) kam es zu keiner anhaltenden Feldpotenzialreduktion als unter MCGG ($n = 8$) allein. **B:** Säulendiagramm zum statistischen Vergleich der LTD. Unter dem Einfluss von MCGG und PTX kam es zu keiner stabilen LTD. Der Unterschied zur LTD mit PTX war signifikant (*). **C:** Darstellung von Feldpotenzialen für die Messungen unter MCGG und MCGG mit PTX.

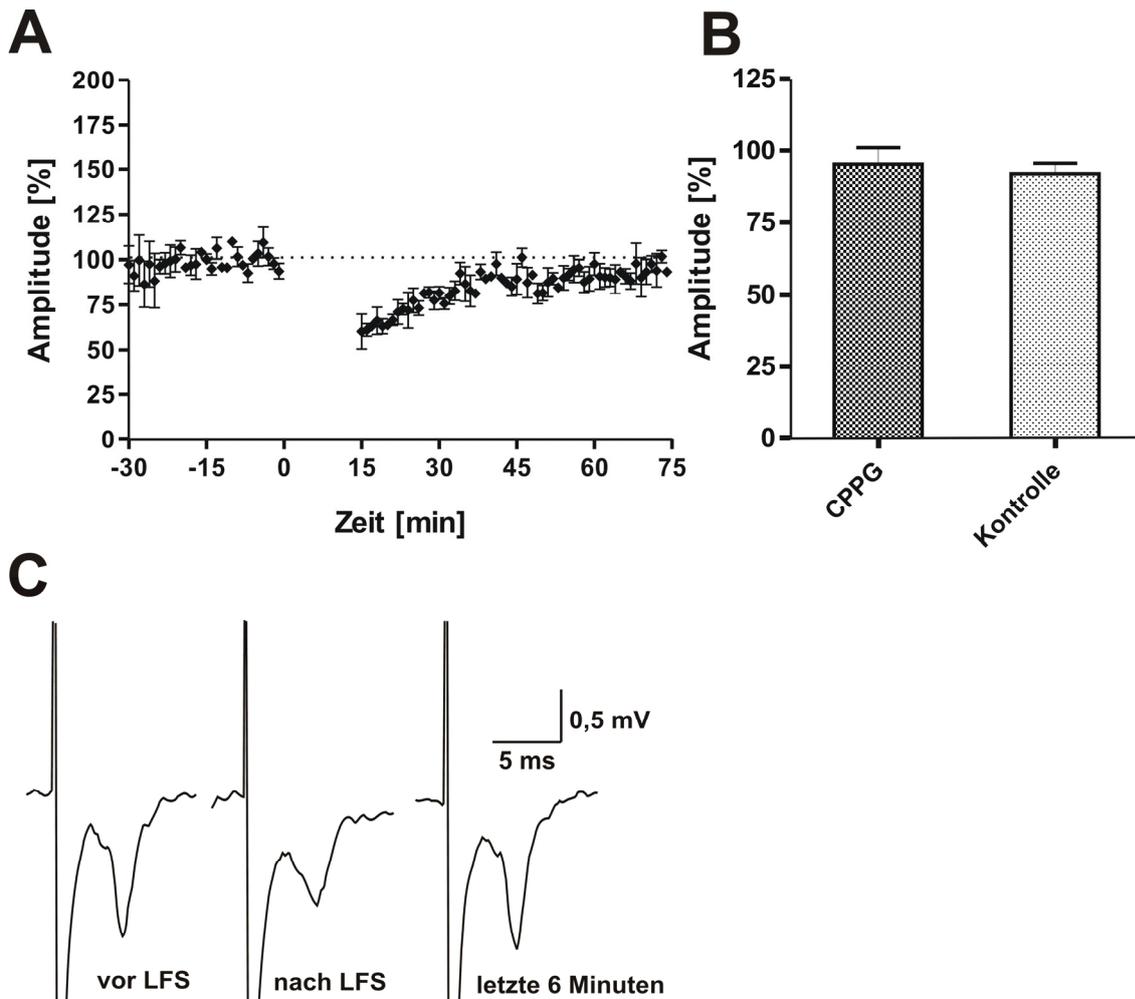


Abb. 3.16.: **A:** LFS-induzierte Änderungen bei intranukleärer Reizung unter dem Einfluss von CPPG (n = 3) bei weiblichen Tieren von Charles-River. **B:** Balkendiagramm zum Vergleich der Messungen mit CPPG und der LTD-Kontrolle. **C:** Einzelne Feldpotenziale aus einer Messung unter Applikation von CPPG.

3.4. Paired Pulse Fazilitierung (PPF) – Kurzzeitplastizität

3.4.1. Abhängigkeit der PPF vom Geschlecht

Das Paired Pulse – Verhalten wurde durch Doppelpulsreizung mit unterschiedlichen Zeitabständen sowohl bei männlichen als auch bei weiblichen Tieren beider Anbieter untersucht. Um den Einfluss des Geschlechts herauszufinden, wurden die Messungen an unbehandelten Hirnschnitten ohne jeglichen pharmakologischen Einfluss durchgeführt. Die Reizelektrodenposition befand sich dabei intranukleär. Die

Ergebnisse sind in der Abb. 3.17. dargestellt. Zwischen den männlichen und weiblichen Tieren gab es jeweils keine signifikanten Unterschiede.

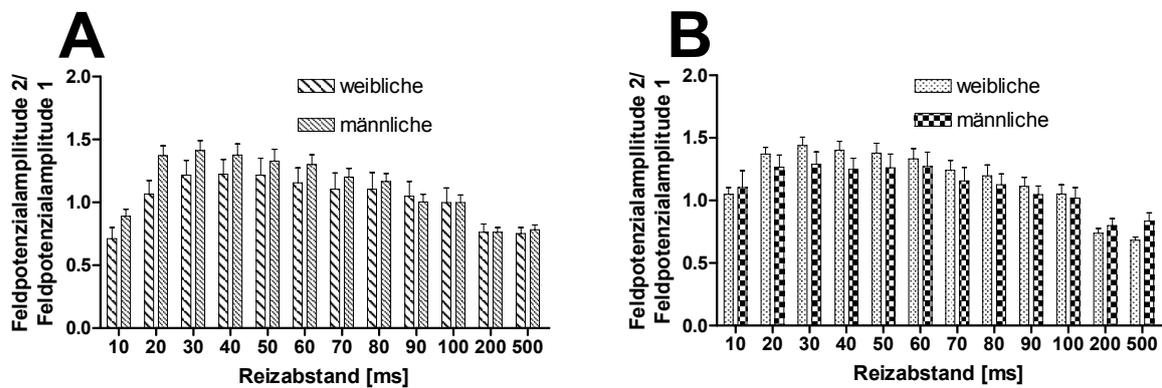


Abb. 3.17.: Darstellung des Paired Pulse-Verhaltens in Abhängigkeit vom Geschlecht. Es bestand kein signifikanter Unterschied zwischen männlichen und weiblichen Tieren. **A:** Naive männliche (n = 31) und weibliche (n = 15) Tiere von Harlan-Winkelmann. **B:** Naive weibliche (n = 52) und männliche (n = 16) Tiere von Charles-River.

Die Tiere von Harlan-Winkelmann zeigten eine Fazilitierung bei einem Reizabstand von 20 ms bis 100 ms und eine Depression bei 10 ms, 200 ms und 500 ms. Die größte Fazilitierung trat bei den weiblichen Tieren bei 30 ms mit $1,22 \pm 0,12$ und bei den männlichen Tieren bei 30 ms mit $1,41 \pm 0,08$ auf. Bei 200 ms kam es bei den männlichen Tieren mit $0,76 \pm 0,04$ zur größten Depression. Die weiblichen Tiere hatten ihre größte Depression bei 500 ms mit $0,75 \pm 0,05$.

Bei den Tieren von Charles-River kam es bei den Reizabständen von 10 bis 100 ms zu einer Fazilitierung und bei 200 ms und 500 ms zu einer Depression. Bei den weiblichen Tieren konnte bei 30 ms Reizabstand mit $1,44 \pm 0,07$ die größte Fazilitierung und bei 500 ms Reizabstand die größte Depression mit $0,68 \pm 0,03$ gemessen werden. Die männlichen Tiere hatten ihre größte Fazilitierung bei 30 ms mit $1,29 \pm 0,1$ und bei 200 ms die größte Depression mit $0,8 \pm 0,06$.

3.4.2. Einfluss der GABA-Rezeptoren auf das Paired Pulse – Verhalten bei intranukleärer Reizung

Der Einfluss von Picrotoxin wurde nach einer mindestens 45 Minuten betragenden Einwaschzeit bei unveränderter Reiz- und Ableitposition am gleichen Hirnschnitt untersucht. Die statistische Analyse wurde jeweils mit dem Wilcoxon Test für verbundene Stichproben durchgeführt.

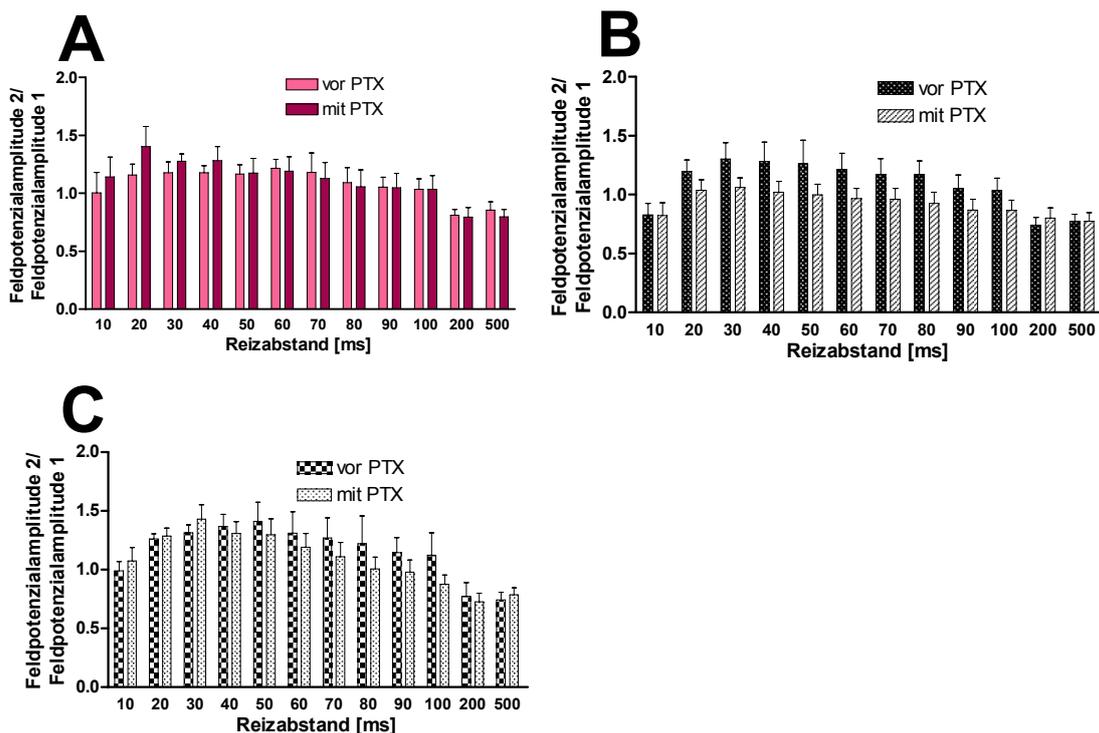


Abb. 3.18.: Darstellung des Paired Pulse – Verhaltens bei intranukleärer Reizung unter dem Einfluss von 2 μM Picrotoxin (PTX) jeweils im Vergleich mit den unbehandelten Kontrollen. **A:** Männliche Tiere von Charles-River ($n = 7$). Es bestand kein signifikanter Unterschied (Wilcoxon Test, $p > 0,05$). **B:** Männliche Tiere von Harlan-Winkelmann ($n = 13$). In der Analyse war der Unterschied zwischen den Messungen vor und mit PTX signifikant (Wilcoxon Test, $p < 0,05$). **C:** Weibliche Tiere von Charles-River ($n = 8$). Der Unterschied war nicht signifikant (Wilcoxon Test, $p > 0,05$).

Zwischen den extrazellulären Messungen der LTD bei intranukleärer Reizung der beiden Anbieter Charles-River und Harlan-Winkelmann gab es ein unterschiedliches Verhalten bei der Anwesenheit des GABA_A-Antagonisten Picrotoxin. Dieses spiegelt sich auch im Paired-Pulse-Verhalten bei den männlichen Tieren beider Anbieter wider. Es trat nur bei den männlichen Tieren von Harlan-Winkelmann ein signifikanter

Unterschied zwischen den Messungen ohne Picrotoxin und den anschließenden Messungen unter dem Einfluss dieses GABA_A-Antagonisten auf (Abb. 3.18. B). Dabei kam es unter PTX im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle zu einer geringeren Fazilitierung bei den Reizabständen zwischen 20 und 100 ms. Die männlichen Tiere von Harlan-Winkelmann zeigten ihre größte Fazilitierung bei 30 ms mit $1,30 \pm 0,14$ vor PTX und $1,06 \pm 0,08$ mit PTX. Bei einem Reizabstand von 200 ms kam es mit $0,74 \pm 0,07$ ohne PTX sowie bei 500 ms mit $0,77 \pm 0,07$ mit PTX zur größten Depression. Insgesamt wurden dazu $n = 13$ Messungen jeweils miteinander verglichen.

Bei den männlichen (Abb. 3.18. A) sowie den weiblichen Tieren (Abb. 3.18. C) von Charles-River waren die Unterschiede zwischen den Messungen ohne und mit Picrotoxin nicht signifikant. Die größten Fazilitierungen traten bei den männlichen Tieren von Charles-River bei 30 ms mit $1,18 \pm 0,09$ vor PTX und bei 20 ms mit $1,4 \pm 0,18$ mit PTX auf. Die größten Depressionen wurden jeweils bei 200 ms mit $0,81 \pm 0,05$ vor PTX und $0,79 \pm 0,08$ unter PTX registriert. Dazu wurden jeweils $n = 7$ Messungen verglichen. Bei den weiblichen Tieren von Charles-River kam es bei 50 ms mit $1,41 \pm 0,17$ ohne PTX und bei 30 ms unter PTX mit $1,43 \pm 0,07$ zur größten Fazilitierung. Die größte Depression zeigte sich einmal bei 500 ms mit $0,74 \pm 0,07$ ohne PTX und zum anderen bei 200 ms mit $0,73 \pm 0,07$ unter dem Einfluss von PTX. Es wurden jeweils $n = 8$ Messungen analysiert.

3.4.3. NMDA – Abhängigkeit des Paired Pulse – Verhaltens bei der intranukleären Stimulation

Diese Versuche dienten der Prüfung einer möglichen NMDA-Abhängigkeit des Paired Pulse – Verhaltens bei weiblichen Tieren von Charles-River. Dazu wurden $50 \mu\text{M}$ APV in Kombination mit $2 \mu\text{M}$ Picrotoxin über mindestens 45 Minuten eingewaschen. Die Kombination mit Picrotoxin wurde gewählt, da es nur unter einer GABA_A-Antagonisierung bei den Tieren von Charles-River zu einer stabilen LTD kam. Bei dem Vergleich des Paired Pulse – Verhaltens vom NMDA-Rezeptorantagonisten APV in Kombination mit PTX ($n = 14$) konnte kein signifikanter Unterschied zu der alleinigen Applikation von PTX ($n = 8$) festgestellt werden (Mann Whitney-Test, $p > 0,05$). Ebenso wie bei der PTX-Messreihe kam es bei der Kombination APV und PTX zu einer Fazilitierung im Paired Pulse. Dabei zeigte sich die größte Ratio mit $1.49 \pm 0,11$ bei 20

ms und eine Depression von $0,66 \pm 0,05$ bei einem Reizabstand von 200 ms (Abb. 3.19. A).

Da vor der Applikation von APV und PTX jeweils der Paired Pulse registriert wurde, konnten diese Ergebnisse mit denen unter der Medikation verglichen werden (Abb. 3.19. B). Dabei kam es zu einer erkennbaren Verringerung der Ratio bei einem Reizabstand von 40 ms bis 100 ms, obwohl sich beide Messreihen nicht signifikant unterschieden (Wilcoxon Test, $p > 0,05$). Vor der Applikation der Pharmaka lagen das Maximum mit $1,5 \pm 0,1$ bei 30 ms und das Minimum mit $0,61 \pm 0,04$ bei 500 ms.

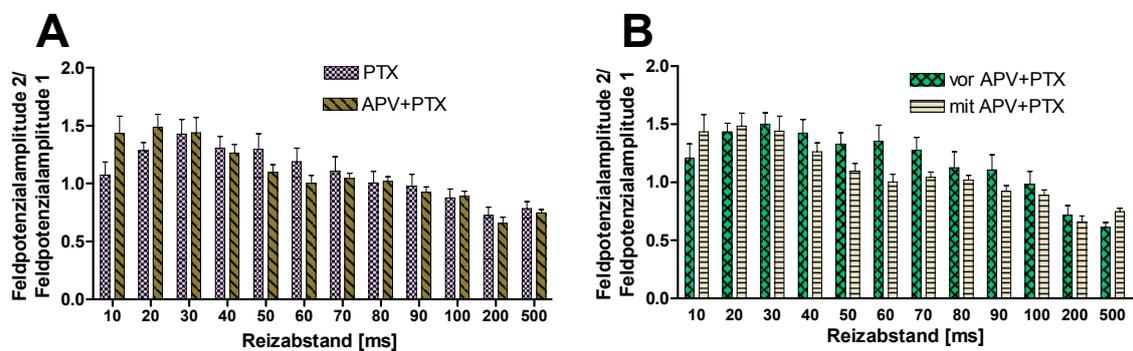


Abb. 3.19.: Paired – Pulse – Verhalten in Abhängigkeit vom NMDA – Rezeptor. In allen Analysen wurde kein signifikanter Unterschied über alle Reizabstände festgestellt. **A:** Vergleich zwischen Messungen unter PTX ($n = 8$) und in Kombination von APV und PTX ($n = 14$). **B:** Darstellung der gepaarten Analyse zwischen der Kontrolle und APV mit PTX ($n = 14$).

3.4.4. Paired Pulse – Verhalten bei Stimulation in der externen Kapsel

Die LTD in der lateralen Amygdala wurde anhand von unterschiedlichen Afferenzen, zum einen bei intranukleärer Reizung und zum anderen bei Stimulation der externen Kapsel, untersucht. Ebenso wurde das Paired Pulse – Verhalten dieser Afferenzen geprüft. Im Vergleich dieser Messungen konnte kein signifikanter Unterschied (Mann Whitney-Test, $p > 0,05$) zwischen der intranukleären ($n = 52$) und der externen Kapselstimulation ($n = 13$) über alle Reizabstände festgestellt werden (Abb. 3.20. A). In der externen Kapsel kam es zur größten Fazilitierung bei 30 ms mit $1,53 \pm 0,12$ und zur größten Depression bei 500 ms mit $0,87 \pm 0,06$.

Das Paired Pulse – Verhalten unterliegt dem Einfluss des GABAergen Systems (Davies et al., 1990; Pearce et al., 1995; Rammes et al., 2001). Dieses zeigte sich auch in der

signifikanten Änderung zwischen dem Paired Pulse ohne und mit Picrotoxin (Wilcoxon – Test, $p < 0,05$). Dabei verminderte Picrotoxin in einer Konzentration von $2 \mu\text{M}$ ab 30 ms bis 200 ms die Ratio zwischen 2. und 1. Feldpotenzialamplitude (Abb. 3.20. B) bei der Stimulation der externen Kapsel.

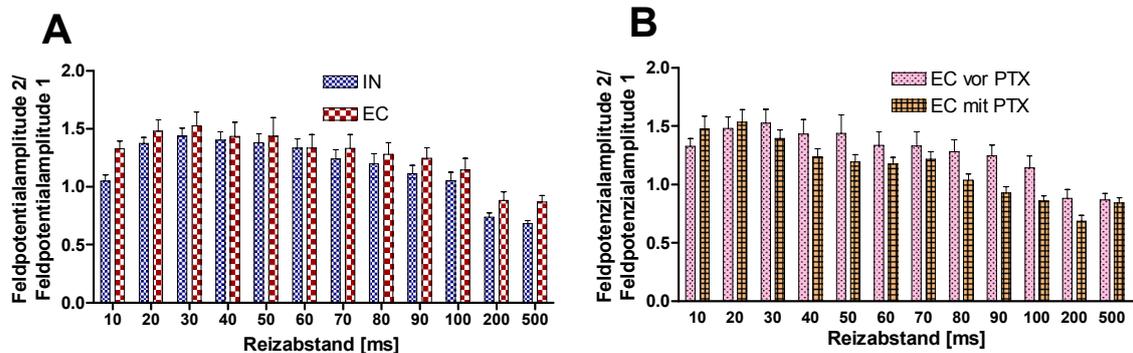


Abb. 3.20.: Paired Pulse – Verhalten bei Stimulation der externen Kapsel (EC). **A:** Vergleich zwischen intranukleärer Stimulation (IN, $n = 52$) und Reizung der externen Kapsel (EC, $n = 13$). Es bestand kein signifikanter Unterschied. **B:** Signifikanter Unterschied in der EC zwischen der Kontrolle und unter PTX.

3.4.5. Einfluss des entorhinalen Kortex auf die PPF in der lateralen Amygdala

Die LTD bei der Stimulation in der externen Kapsel war signifikant schwächer als bei der intranukleären Reizung. Durch den Wegfall der Afferenzen vom entorhinalen Kortex kam es zu einer weiteren Reduktion der LTD bei der Reizung in der externen Kapsel. Eine weitere Abschwächung fand auch im Paired Pulse – Verhalten statt. Dieses zeigte sich in der signifikant (Mann Whitney-Test, $p < 0,05$) geringeren Ratio zwischen 2. und 1. Feldpotenzialamplitude bei der Doppelreizung zwischen 10 ms bis 500 ms (Abb. 3.21. A).

In Bezug auf die GABA_A -Inhibition durch Picrotoxin kam es ebenfalls zu einer signifikanten Änderung (Wilcoxon Test, $p < 0,05$) des Paired Pulse – Verhaltens. Es zeigten sich wie in den anderen Messungen an weiblichen Tieren von Charles-River eine größere Fazilitierung bei den Reizabständen 10 ms und 20 ms. Ansonsten kam es eher zur Verringerung bis zur Depression (Abb. 3.21. B).

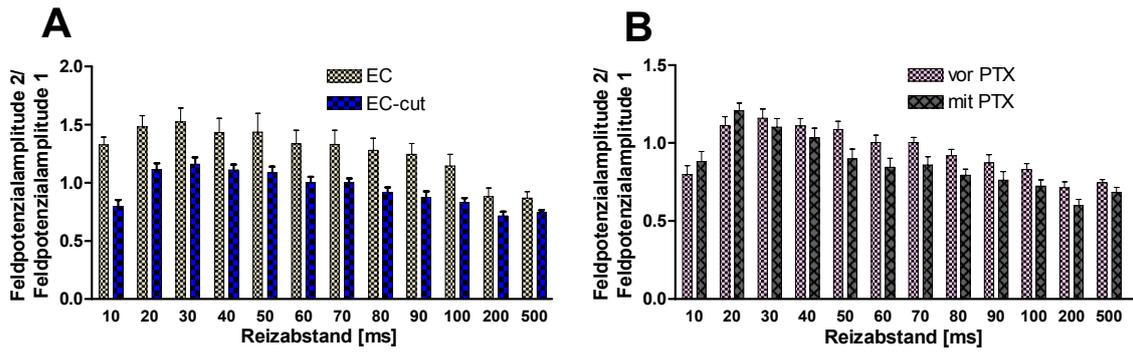


Abb. 3.21.: Paired Pulse – Verhalten unter Wegfall der entorhinalen Afferenzen bei Stimulation in der externen Kapsel. **A:** Die PPF fiel nach dem Entfernen des entorhinalen Kortex (EC-cut, n = 8) als bei erhaltener Afferenz (EC, n = 13) insgesamt schwächer aus. **B:** Einfluss von PTX auf die PPF ohne entorhinalem Kortex. Der Unterschied war signifikant.

4. Diskussion

In dieser Arbeit wurde die Möglichkeit der Induktion einer Langzeit-Depression im lateralen Kern der Amygdala (LA) untersucht. Im Unterschied zu bisherigen Studien war es möglich, in horizontalen Hirnschnitten durch niederfrequente Stimulation der Afferenzen, die den lateralen Kern verschiedenen Ursprungs erreichen, eine stabile LTD zu erzeugen. Es wurden die Inputspezifität der LTD (IN vs. EC), die Effizienz der verwendeten Paradigmen (LFS vs. TPS) und die an der Veränderung der synaptischen Plastizität beteiligten Mechanismen (mGLURs und NMDARs) untersucht. Es konnte weiterhin erstmalig gezeigt werden, dass die niederfrequente Stimulation auch für Prozesse der Metaplastizität im lateralen Kern eine Rolle spielt.

4.1. Basale synaptische Transmission

Die intrazellulären Daten zeigen, dass bei diesen Messungen nur die Aktivität von Projektionszellen des lateralen Kerns der Amygdala registriert wurde. Dafür sprechen die Dauer der Aktionspotenziale und die in den drei klassifizierten Zellgruppen auftretende Akkommodation. Die unterschiedliche Akkommodation ist wahrscheinlich durch den Grad der Nachhyperpolarisation, die dem Aktionspotenzial folgt, zu erklären (Faber et al., 2001). Auch der lineare Verlauf der Intensitäts-Spannungskurven (I/V) (Sah and Lopez, 2003), die hohen Eingangswiderstände und die langen Zeitkonstanten (Rainnie et al., 1993) unterstützten die Schlussfolgerung, dass intrazellulär nur die Aktivität von Projektionsneuronen erfasst wurde. Rainnie et al. (1993) beschrieben für die Pyramidenzellen Eingangswiderstände von 65,6 M Ω und Zeitkonstanten von 27,8 ms. Diese Daten entsprechen exakt unseren Messungen. Bei GABAergen Interneuronen wurden Eingangswiderstände von 40,6 M Ω und Zeitkonstanten von 14,5 ms gefunden (Rainnie et al., 1993). Als besonders typisch für GABAerge Interneurone wird die fehlende Akkommodation und gruppiertes Entladungsverhalten beschrieben, welches wir in unseren Untersuchungen so ausgeprägt, wie in der Literatur beschrieben, nicht beobachten konnten.

Die basale Transmission wird im lateralen Kern der Amygdala auch in horizontalen Hirnschnitten hauptsächlich durch AMPA- und Kainatrezeptoren vermittelt, da die

Feldpotenziale nach Badapplikation von CNQX durch Antagonisierung beider Glutamaterezeptortypen fast vollständig verschwinden (Pollandt et al., 2003). Im lateralen Kern sind sowohl AMPA-Rezeptoren (AMPA) und NMDAR nachweisbar (Farb et al., 1995). NMDA-Rezeptoren setzen sich aus verschiedenen Untereinheiten zusammen, im Wesentlichen aus zwei NR1 und zwei NR2 Untereinheiten, von denen wiederum vier verschiedene genetische Typen existieren (NR2A-D) (Bartlett et al., 2007). Die NMDAR scheinen in die basale Transmission nicht involviert zu sein (Drephal et al., 2006). Wir konnten kürzlich im horizontalen Schnitt bei adulten Tieren durch Patch-Clamp-Ableitungen zeigen, dass sowohl NR2A als auch NR2B Untereinheiten an der Vermittlung der durch Einzelimpulse induzierten NMDA-abhängigen Ströme beteiligt sind. In diesen Ableitungen lag das Haltepotenzial allerdings bei +40 mV, um den Magnesiumblock aufzuheben. Die Depolarisation, die in den extrazellulären Ableitungen durch Einzelpulse ausgelöst wird, reicht offensichtlich nicht aus, um den NMDA-Kanal zu öffnen.

Die inputspezifischen Input/Output-Kurven zeigen, dass bei kortikaler Reizung größere Feldpotenziale zu induzieren sind als bei intranukleärer Reizung. Das könnte darauf zurückzuführen zu sein, dass bei kortikaler Reizung eine mehr synchrone Aktivierung der Neurone stattfindet. Obwohl sich auch nach Abtrennung des entorhinalen Kortex keine signifikanten Unterschiede zu den anderen I/O-Kurven nachweisen ließen, deutet die Linksverschiebung der Kurven auf eine höhere Erregbarkeit nach Entfernung des entorhinalen Kortex hin. Das lässt vermuten, dass die Eingänge vom entorhinalen Kortex auch GABAerge Interneurone aktivieren. Bei Stimulation des entorhinalen Kortex wurden im horizontalen Hirnschnitt in den Neuronen der lateralen Amygdala Gamma-Oszillationen beobachtet (Funahashi et al., 2000), die auf eine Einbeziehung des GABAergen Systems hinweisen und die für die Konsolidierung von emotionell geprägtem Gedächtnis in der Amygdala eine Relevanz haben sollen (Pelletier and Pare, 2004).

Die Ergebnisse zeigen auch, dass die gewählte geringe Konzentration von Picrotoxin nicht ausreicht, die basale Transmission zu beeinflussen. Es ist zu berücksichtigen, dass mit einer Konzentration von 2 μM nur eine partielle Blockierung der GABAergen Transmission zu erreichen ist. Höhere Konzentrationen führen bei den extrazellulären Ableitungen zu epileptiformen Entladungen (Gean and Chang, 1991; Hamani and Mello, 1997), die wiederum die Plastizität beeinflussen können (Schubert and Albrecht, 2008).

Außerdem blockiert Picrotoxin vor allem die phasischen Hemmungen und scheint keinen Einfluss auf die tonischen Hemmungen zu haben (Mody, 2005).

4.2. LTD im lateralen Kern der Amygdala

4.2.1. Intrazelluläre Messungen

Wir konnten erstmalig im lateralen Kern der Amygdala in horizontalen Hirnschnitten durch intranukleäre niederfrequente Reizung eine LTD bei 60% der geprüften Neurone auslösen. Der Anteil der Neurone, die auf LFS mit einer lang anhaltenden Reduzierung ihrer EPSP-Amplituden reagierten, lag somit deutlich höher als im coronalen Hirnschnitt (Heinböckel and Pape, 2000). Ursache kann einerseits die Schnittebene sein, da Hemmmechanismen im horizontalen Schnittpräparat schwächer ausgeprägt sind als im coronalen Hirnschnitt (Samson et al., 2003; Samson and Pare, 2006). Andererseits scheinen weitere Ursachen für die Unterschiede zwischen unseren Ergebnissen und der Untersuchung von Heinböckel und Pape (2000) die verwendeten Paradigmen zur Induktion der LA-LTD zu sein (siehe weiter unten). Während auch in weiteren Untersuchungen LTD in intrazellulären Ableitungen ohne pharmakologische Intervention möglich war, scheint HFS-induzierte LTP im lateralen Kern der Amygdala im horizontalen Hirnschnitt ohne gleichzeitige Depolarisation der postsynaptischen Membran nicht auslösbar zu sein (Schubert and Albrecht, 2008).

Interessanterweise existieren inzwischen eine Vielzahl von Befunden, die LTP im lateralen Kern untersuchen, während es kaum Arbeiten zur LA-LTD gibt (Albrecht and von Bohlen and Halbach, 2008).

4.2.2. Extrazelluläre Messungen

4.2.2.1. Geschlechtsspezifische Unterschiede

In den extrazellulären Ableitungen konnte bei niederfrequenter Stimulation der intranukleären Afferenzen (IN) im lateralen Kern der Amygdala der Tiere des Inzuchtstammes Wistar vom Anbieter Harlan-Winkelmann eine stabile LTD ausgelöst werden. Dabei wurden keine geschlechtsspezifischen Unterschiede gefunden. Ähnliche

Ergebnisse wurden im horizontalen Hirnschnitt bei HFS-induzierter LTP gefunden (Drephal et al., 2006). Allerdings führte die schwächere Thetaburststimulation zu einer stärkeren LTP bei den weiblichen Ratten als bei den männlichen Tieren. Wir konnten auch zeigen, dass die HFS-induzierte LA-LTP bei weiblichen Tieren zyklusabhängig zu einer unterschiedlichen Amplitude der LA-LTP führt (Schubert et al., 2008).

In der Literatur gibt es mehrere Untersuchungen, die zeigen konnten, dass es Unterschiede im Konditionierungsverhalten und in der Stärke der LTP im Hippocampus zwischen männlichen und weiblichen Tieren gibt (Maren et al., 1994; Maren, 1995). Good et al. (1999) fanden nicht nur eine Abhängigkeit vom endogenen Östrogenspiegel auf die Induktion und Stärke der LTP, sondern auch auf die Ausprägtheit der LTD. Es wurde beschrieben, dass es in der Proöstrusphase häufiger zu einer schwächeren Hippocampus-LTD kam. Es ist zu vermuten, dass eine zyklusabhängige Analyse der LA-LTD bei den weiblichen Tieren ähnliche Unterschiede aufzeigen könnte. Da unsere Ableitungen bei den weiblichen Tieren zu unterschiedlichen Zeitpunkten des Zyklus durchgeführt wurden, könnte das die Ursache für das Fehlen von geschlechtsspezifischen Unterschieden sein. Die in der Literatur auch für die Amygdala (Krezel et al., 2001) beschriebenen, geschlechtsspezifischen Unterschiede der synaptischen Plastizität scheinen mit der NMDAR-Expression bzw. Aktivität und der Aktivierung des brain-derived neurotropic factor (BDNF) zu korrelieren (Zamani et al., 2000).

4.2.2.2. Einfluss der Haltungs- bzw. Zuchtbedingungen auf die LA – LTD

Überraschenderweise wurden Differenzen in der Stärke der Induktion einer LTD in Bezug auf den Anbieter der Tiere des Inzuchtstammes Wistar gefunden. Sowohl bei den weiblichen Tieren von Charles-River als auch bei den männlichen und weiblichen Tieren von Harlan-Winkelmann konnte eine stabile LTD mit dem Paradigma des LFS induziert werden. Bei den Tieren von Charles-River war allerdings im Gegensatz zu denen von Harlan-Winkelmann eine Reduzierung der GABAergen Transmission dazu notwendig. Aus der Literatur ist bekannt, dass das Ausmaß der möglichen Plastizität in den einzelnen Hirnstrukturen vom Rattenstamm abhängig ist (Holscher, 2002). Die unterschiedliche Expression der einzelnen Glutamatrezeptoren scheint insbesondere bei der Induktion der LTD für die stammabhängigen Unterschiede verantwortlich zu sein

(Manahan-Vaughan, 2000). Es wurde auch berichtet, dass es offensichtlich durch Inzucht und Kreuzung in den einzelnen Inzuchtstämmen selbst merkliche Variationen zwischen Stämmen mit dem gleichen Namen (Kacew and Festing, 1996) gibt.

Es wird diskutiert (Manahan-Vaughan, 2000), inwieweit eine stressbedingte Sensibilisierung und damit eine Verschiebung der Schwelle zu einer unterschiedlichen Ausprägung der LTD in Abhängigkeit vom Rattenstamm - möglicherweise auch in Abhängigkeit von Zucht und Haltung - führen kann. Der corticotrope releasing Faktor (CRF), der bei Stress verstärkt freigesetzt wird, beeinflusst Lern- und Gedächtnisprozesse nicht nur im Hippocampus (Blank et al., 2002), sondern auch in der Amygdala (Fu and Neugebauer, 2008; Kash et al., 2008; Rainnie et al., 2004). Eine chronische Aktivierung der CRF-Rezeptoren führte in der basolateralen Amygdala zu einer Reduzierung der spontanen und evozierten inhibitorischen postsynaptischen Potenziale (IPSPs), d. h., zu einer verstärkten Erregung im Netzwerk der Amygdala (Rainnie et al., 2004). Im Hippocampus wurde eine Reduzierung der Schwelle für die Induktion der LTD in Abhängigkeit von der Glucocorticoidrezeptor-Aktivierung beschrieben, welche durch Aktivierung L-Typ-abhängiger Kalziumkanäle zustande kam (Coussens et al., 1997). Wir konnten zeigen, dass der L-Typ-Kalziumkanal für die Induktion der LA-LTD relevant ist (Tchekalarova and Albrecht, 2007). In meiner Arbeit wurde der Stressfaktor insofern minimiert, dass die Tiere von Harlan-Winkelmann für mindestens 1 Woche nach dem Transport unter den gleichen Bedingungen gehalten wurden wie die Tiere von Charles-River. Nach Auskunft der einzelnen Anbieter unterschieden sich die Zucht- und Haltungsbedingungen nicht. Wir können aber nicht ausschließen, dass verschiedene Stressfaktoren bei beiden Züchtern unterschiedlich ausgeprägt waren. Ein einzelnes traumatisches Erlebnis kann die Expression von Neuropeptiden in der Amygdala und das soziale Verhalten über einen längeren Zeitraum beeinflussen (Mikics et al., 2008).

4.2.2.3. Einfluss der GABAergen Inhibition auf die Induktion der LA – LTD

Bei den Tieren vom Züchter Charles-River bestand die Notwendigkeit, die GABAerge Transmission zu reduzieren, um eine stabile LA-LTD zu erreichen. Es ist bekannt, dass die Applikation von Picrotoxin die Induktion einer LTD der CA1 – Region des Hippocampus erleichtert (Abraham and Wickens, 1991). Diese pharmakologische

Intervention führt durch Erhöhung der Exzitabilität zu einer Senkung der Schwelle für die Induktion einer LTD in der adulten CA1 – Region (Otani and Connor, 1998). Auch aus anderen Studien ist bekannt, dass eine GABA-Blockade die Induktion einer LTD im Hippocampus fördert (Kerr and Abraham, 1995; Otani and Connor, 1996; Wagner and Alger, 1995). Es wurde auch gezeigt, dass es im adulten Hippocampus teilweise unmöglich war, ohne GABA_A-Blockade eine LTD zu induzieren (Otani and Connor, 1996; Wagner and Alger, 1995). Bei jüngeren Tieren (< 35 Tagen) ist die Induktion einer LTD im Hippocampus auch ohne Blockade der GABAergen Transmission möglich (Dudek and Bear, 1992; Errington et al., 1995; Mulkey et al., 1993; Mulkey and Malenka, 1992). Im Gegensatz dazu war dies bei den älteren Tieren mit ähnlichen Protokollen nicht einheitlich gelungen (Dudek and Bear, 1992; Errington et al., 1995; Heynen et al., 1996; Otani and Connor, 1995; Wagner and Alger, 1995). Bicucullin, ein anderer GABA_A-Antagonist, zeigte die gleiche fördernde Wirkung auf die Induktion einer LTD (Zhang and Levy, 1993). Auch im adulten, visuellen Kortex musste die GABA_A-Inhibition blockiert werden, um eine LTD zu induzieren (Komatsu and Iwakiri, 1993).

Es besteht die Hypothese, dass die Wahrscheinlichkeit, eine LTD oder LTP zu erhalten, von dem Ausmaß und der Geschwindigkeit des Anstiegs der intrazellulären Kalziumkonzentration abhängt (Gean and Lin, 1993; Malenka and Nicoll, 1993). Es kann auch angenommen werden, dass sich durch eine Manipulation der GABAergen Hemmung der Einstrom des Kalziums durch spannungsabhängige Kalziumkanäle, NMDARs und mGLURs, modifizieren lässt.

Die basolaterale Amygdala (BLA) wird durch ein Netzwerk von GABAergen Neuronen in ihrer Aktivität modifiziert (Smith and Dudek, 1996), die bei Manipulationen zu merklichen Verhaltensänderungen führt (Davis et al., 1994). Dabei sind die GABAergen Interneurone in der BLA tonisch aktiv (Rammes et al., 2000). Rammes et al. (2001) untersuchten die BLA-LTD in coronalen Schnitten der Maus und fanden, dass die LTD unter dem Einfluss von GABA_A-Antagonisten schwächer war. Man kann davon ausgehen, dass der Hirnschnitt der Maus im Vergleich zur Ratte wesentlich mehr Konnektivität aufweist und somit die Erregbarkeit höher ist. Das würde erklären, dass in der Studie von Rammes et al. (2001) nur durch Verstärkung der GABAergen Transmission eine LTD in der BLA auslösbar war. In unseren Untersuchungen an horizontalen Schnitten der Maus führte die Blockade der GABAergen Transmission ebenfalls zu einer Blockierung der LA-LTD (unveröffentlichte Daten). Da sich Alter unserer Tiere, die verwendeten Paradigmen und die Schnittpräparation bei beiden

Tiergruppen (Charles-River, Harlan-Winkelmann) nicht unterschieden, kann man schlussfolgern, dass die Amygdala der Tiere von Harlan-Winkelmann eine andere Erregbarkeit aufwies als die der Tiere von Charles-River. Die geringere Erregbarkeit in den Tieren von Charles-River aufgrund einer vermutlich verstärkten GABAergen Transmission führte dazu, dass erst nach partieller Blockade der GABA_AR eine stabile LTD auslösbar war.

4.2.2.4. Inputspezifität

Unsere Ergebnisse zeigen erstmalig, dass bei niederfrequenter Reizung der Fasern innerhalb des lateralen Kerns der Amygdala sowohl in den intrazellulären als auch in den extrazellulären Ableitungen eine LTD im lateralen Kern der Amygdala induzierbar ist. Diese Ergebnisse werden durch andere Arbeiten unterstützt, die den LA als Reizort verwenden, um im basolateralen Kern eine LTD auszulösen (Wang and Gean, 1999). Im Unterschied zur thalamischen Reizung im coronalen Schnittpräparat der Ratte konnte bei Reizung der Fasern in der Capsula externa (EC) keine LTD induziert werden (Heinböckel and Pape, 2000). In unseren Untersuchungen konnten wir zeigen, dass unter partieller Blockierung der GABAergen Transmission eine zwar schwächere als bei intranukleärer LFS, aber stabile LFS-induzierte LTD ausgelöst werden konnte. Das ist der erste Nachweis einer LA-LTD, die durch Reizung der kortikalen Afferenzen zustande kommt. In der basolateralen Amygdala kann LTD nur induziert werden, wenn die kortikale Afferenz durch vorherige hochfrequente Stimulation die Schwelle des Neurons für die nachfolgende niederfrequente Reizung verändert (Aroniadou-Anderjaska et al., 2001; Li et al., 1998). Ursache für diese Unterschiede im coronalen und horizontalen Schnittpräparat scheinen wie schon diskutiert die unterschiedlich ausgeprägten Hemmmechanismen in Abhängigkeit von der Schnittebene zu sein (Samson et al., 2003; Samson and Pare, 2006). Wir konnten kürzlich zeigen, dass auch im pharmakonfreien Schnittpräparat der Maus durch EC-Stimulation LTD auslösbar ist, wenn statt Einzelpulse eine niederfrequente Doppelpulsstimulation mit einem Interstimulusintervall von 40 ms verwendet wird (Mueller and Albrecht, 2009). Mueller und Albrecht (2009) zeigten auch, dass bei alternierender niederfrequenter Stimulation der EC- und der intranukleären Afferenzen bei Ableitung mit einer Elektrode im LA diese Eingänge nicht nur konvergieren, sondern dass auch durch die intranukleäre

Stimulation LTD induziert wurde, während die EC-Reizung eine späte LTP verursachte. Eine solche späte LFS-induzierte LTP wurde auch im coronalen Schnittpräparat beobachtet (Huang and Kandel, 2007). Es kann vermutet werden, dass durch die Applikation von Picrotoxin die Schwelle zur Auslösung der EC-induzierten LTD verringert wird. Eine verringerte GABAerge Transmission bzw. eine Doppelpulsstimulation würden somit den Kalziumeinstrom in die Zelle erhöhen und damit Second Messenger Kaskaden triggern, die die Ursache einer LTD sind. Interessanterweise ist die Intaktheit des entorhinalen Kortex Voraussetzung für die unter Picrotoxin auftretende LA-LTD. Da die EC-Fasern im horizontalen Schnittpräparat sowohl Afferenzen vom entorhinalen Kortex als auch von perirhinalen Kortex enthalten (von Bohlen und Halbach and Albrecht, 2002), scheint hier die Aktivierung des entorhinalen Kortex wesentlich für die Induktion der LA-LTD zu sein.

4.2.2.5. Paradigmenabhängigkeit der LA – LTD

Wir haben in den extrazellulären Ableitungen gezeigt, dass die niederfrequente Stimulation (LFS, 900 Pulse, 1 Hz) effektiver die Induktion einer LTD verursacht als die Thetapulsstimulation (TPS), die erstmalig in der Amygdala von Heinböckel und Pape (2000) benutzt wurde. Obwohl das Membranpotenzial der Amygdalaneurone im Thetarhythmus oszilliert (Pape et al., 1998; Pape and Driesang, 1998) und die TPS ein sehr physiologisches Paradigma zur Induktion von Plastizitätsveränderungen zu sein scheint, scheint die TPS einen größeren Kalziumeinstrom zu induzieren als die niederfrequente Reizung, sodass die Amplitude der LA-LTD nach TPS schwächer reduziert ist als nach LFS. Auch in weiteren Untersuchungen unserer Arbeitsgruppe ließ sich die größere Effizienz der LFS im Vergleich zum TBS bestätigen (Schubert and Albrecht, 2008).

4.2.2.6. Reversal, Priming und Metaplastizität

Die synaptische Plastizität ist kein statisches, sondern eher ein dynamisches Phänomen. Dies ist wichtig für Verarbeitung und Speicherung neuer Gedächtnisinhalte (Abraham and Robins, 2005). Die Bienenstock, Cooper and Munro Theorie (Abraham et al., 2001) macht deutlich, dass nicht nur das Zeitintervall zwischen präsynaptischer und

postsynaptischer Aktivität für die Auslösung der LTD relevant ist, sondern auch die synaptische Aktivität vor der Stimulation („Die Geschichte der Synapse“) (Abraham et al., 2001; Abraham and Tate, 1997).

Während Prozesse der Depotenzierung im Hippocampus und in der Amygdala relativ gut untersucht sind (Abraham and Huggett, 1997; Aroniadou-Anderjaska et al., 2001; Barr et al., 1995; Kang-Park et al., 2003; Lin et al., 2005; Zhu et al., 2005), gibt es in der Amygdala kaum Befunde, ob eine langfristige Reduktion der synaptischen Transmission wieder aufgehoben werden kann. Unsere Resultate zeigen, dass nach der Induktion einer stabilen LTD, die über 20 Minuten bestand, durch Paradigmen, die im LA LTP verursachen können, die synaptische Transmission nicht nur auf das Kontrollniveau gebracht, sondern auch langfristig erhöht werden kann. Durch die Thetaburststimulation (TBS), einem schwachen Paradigma der LTP-Induktion, beobachteten wir ein komplettes Reversal, d. h., die TBS hob die LTD auf. Interessanterweise führte die hochfrequente Stimulation (HFS) zu einer LTP. Die Amplitude der LTP nach Induktion der LTD hatte eine signifikant größere Amplitude als die der LTP, welche ohne vorherige Beeinflussung der synaptischen Aktivität registriert wurde. Daraus lässt sich einerseits schlussfolgern, dass ein 20 Minutenintervall für die Reversibilität der LTD noch nicht eine kritische Zeitspanne darstellt. Andererseits scheint die LFS im Sinne einer Metaplastizität die Schwelle für die Induktion einer nachfolgenden LTP zu verändern.

Nach Braunewell und Manahan-Vaughan (2001) könnte LTD selber Gedächtnis generieren oder alternativ dazu die Synapse in gewisser Art für die Bereitschaft zur Expression einer LTP „primen“. Dieses konnte durch die eigene Feststellung einer größeren LTP durch den HFS nach der LTD-Induktion bestätigt werden.

Daraus ist abzuleiten, dass nach 20 Minuten eine Umkehr möglich war bzw. eine LTP induziert werden konnte. Diese beiden Untersuchungen waren in vitro-Studien. In einer in vivo-Studie von Abraham et al. (2006) wurde die Reversibilität der LTP und der LTD im Hippocampus untersucht. Dabei konnte sowohl die persistierende LTP als auch die LTD durch Exposition der Versuchstiere in einer bereicherten Umgebung rückgängig gemacht werden. Dabei kam es nicht zum Verlust von erworbenen Gedächtnisinhalten, sondern eher zu einer Erleichterung für neues Lernen. Diese Effekte waren für die LTP von NMDA-Rezeptoren (NMDAR) abhängig.

In der basolateralen Amygdala trat die LTD erst nach dem Priming durch eine LTP-Induktion auf. Ohne diese LTP-Induktion kam es zu einer Potenzierung durch den LFS

(Li et al., 1998). Aroniadou-Anderjaska et al. (2001) zeigten, dass eine LTP nach einem HFS durch den LFS reversibel war und durch einen weiteren HFS wieder etabliert werden konnte. Sowohl der Hochfrequenzreiz als auch der TBS sind Paradigmen für die Etablierung einer stabilen LA-LTP (Drephal et al., 2006).

Interessant ist die Frage, nach welcher Zeitspanne die induzierte Veränderung der synaptischen Plastizität reversibel ist. In der eigenen Arbeitsgruppe wurde nach der Induktion einer stabilen LTP in der lateralen Amygdala einmal ein LFS nach 10 Minuten oder nach 20 Minuten appliziert. Bei den Experimenten mit den 10 Minutenintervallen konnte die LTP komplett depotenziert werden. Nach 20 Minuten gelang dies nicht mehr vollständig (Drephal et al., 2006). In einer anderen Studie am Hippocampus wurde anstelle des LFS ein Theta-Puls-Stimulus (TPS) zum Rückgängigmachen der LTP verwendet. In einem Intervall von 30 Sekunden bis 15 Minuten nach der LTP-Induktion ist diese durch den TPS reversibel, aber nach 30 Minuten oder länger kam es zur keiner signifikanten Depotenzierung mehr. Außerdem stellte sich heraus, dass dieses Phänomen von der Proteinphosphataseaktivität abhängig war und nicht vom NMDAR, sondern eher vom AMPAR beeinflusst wurde (Stäubli and Chun, 1996).

In den eigenen Untersuchungen konnte eindeutig die Abhängigkeit der LTD in der lateralen Amygdala vom NMDAR belegt werden. Ob dieser Glutamatrezeptortyp ebenfalls für die Reversibilität der LTD verantwortlich ist, muss in weiteren Experimenten geklärt werden.

4.3. Mechanismen der LA – LTD

Diese Studie untersuchte auch den Einfluss von verschiedenen Glutamatrezeptoren auf die Induktion einer LTD in der lateralen Amygdala. Es konnte gezeigt werden, dass sowohl NMDARs als auch metabotrope Glutamatrezeptoren (Bandrowski et al., 2003) einen Einfluss auf die LTD haben. Durch entsprechende Antagonisten, wie APV am NMDAR als auch MCCG am mGLUR der Gruppe II konnte die Induktion der LTD signifikant unterdrückt werden.

Die Induktion einer LTD konnte einerseits in Kombination von APV und Picrotoxin bei den Tieren von Charles-River sowie andererseits ohne Picrotoxin bei den Ratten von Harlan-Winkelmann verhindert werden. Dabei zeigte sich eine Vergrößerung der Feldpotenzialamplitude bei der Koapplikation von Picrotoxin mit APV, was auf einen

länger anhaltenden Effekt des Picrotoxins hindeutet, da dieses Phänomen bei den Tieren von Harlan-Winkelmann ohne Picrotoxin nicht auftrat. Andererseits konnte bei den Tieren von Harlan-Winkelmann nach einer zweistündigen Auswaschzeit von APV eine stabile LTD in der lateralen Amygdala induziert werden. Durch diese Untersuchung ist zu schlussfolgern, dass die homosynaptische LTD in der lateralen Amygdala einem NMDA-abhängigen Mechanismus unterliegt. Kürzlich konnten wir belegen, dass die LA-LTD sowohl von der Untereinheit NR2A des NMDARs als auch von der NR2B-Untereinheit abhängig ist (Mueller and Albrecht, 2009). Bekannt ist, dass die homosynaptische LTD an einen postsynaptischen Anstieg der Kalziumkonzentration gebunden ist. Heinböckel und Pape (2000) haben gezeigt, dass die pharmakologische Verhinderung des intrazellulären Kalziumanstieges die LA-LTD blockiert. Die Beteiligung der mGLURs bei der Induktion der LA-LTD wurde auch im coronalen Schnittpräparat bestätigt (Heinböckel and Pape, 2000). Im basolateralen Kern ist die LTD ebenfalls von NMDARs und mGLURs abhängig (Lin et al., 2000; Wang and Gean, 1999). Zusätzlich konnte inzwischen eine Beteiligung von Stickstoffmonoxid (Albrecht, 2007) und Kalziumkanälen (Tchekalarova and Albrecht, 2007) an der Induktion der LA-LTD nachgewiesen werden. Es existiert auch eine Arbeit, die im coronalen Schnittpräparat in Reaktion auf LFS eine GLU_{K5} abhängige LA-LTP beschreibt (Li et al., 2001).

Eine Aktivierung der CB1 Rezeptoren des cannabinoiden Systems an den Interneuronen der lateralen Amygdala führt zu einer Unterdrückung der LTD (Azad et al., 2008). Kürzlich konnte gezeigt werden, dass nach LTD-Induktion in der lateralen Amygdala die Zahl der AMPAR in der postsynaptischen Membran reduziert wird (Yu et al., 2008). In dieser Untersuchung wurde die Induktion der LTD durch die postsynaptische Applikation eines GLUR2-derived interference peptide unterdrückt, welches spezifisch die Clathrin-abhängige Endozytose der AMPAR blockiert.

4.4. Kurzzeitplastizität – Paired pulse Fazilitierung

Neben der LTD wurde auch die Doppelpulsreizung unter verschiedenen Bedingungen getestet. Die Doppelpulsreizung (paired pulse facilitation, PPF) ist eine kurzzeitige Veränderung der synaptischen Effizienz, welche durch die präsynaptische Freisetzungswahrscheinlichkeit mit bestimmt wird (Asztely et al., 1996). Generell muss

festgestellt werden, dass die paired pulse facilitation (PPF) nur einen indirekten Hinweis darauf liefert, ob die präsynaptische Freisetzung des Transmitters verändert ist. Exakter wäre die Bestimmung der Frequenz und Amplitude der Miniatur(m)-EPSPs oder der Miniatur-exzitatorischen postsynaptischen Ströme (mEPSCs). Es kann aber davon ausgegangen werden, dass bei kurzen Reizabständen das intrazelluläre Restkalzium in der präsynaptischen Endigung zu einer Erhöhung der Antwortamplitude auf den zweiten Reiz führt (Hess and Kuhnt, 1992). Dabei verhält sich der Grad der PPF invers zur initialen Freisetzungswahrscheinlichkeit (Dobrunz and Stevens, 1997).

Ähnlich wie bei den langfristigen Plastizitätsänderungen im Sinne einer Reduktion der EPSPs bzw. der Feldpotenzialamplituden, fanden wir keine geschlechtsspezifischen Unterschiede bei der Doppelpulsreizung mit unterschiedlichen Zeitintervallen. Unter Applikation von Picrotoxin wurden bei intranukleärer Stimulation nur bei den Tieren von Harlan-Winkelmann signifikante Differenzen gefunden. Eine partielle Blockade der GABAergen Transmission lässt eine verstärkte Glutamatfreisetzung vermuten. Bei den Tieren von Charles-River war möglicherweise die Stichprobe zu klein, um signifikante Änderungen nachzuweisen. Demgegenüber wurden bei diesen Tieren bei EC-Reizung ebenfalls signifikante Unterschiede zwischen Kontrollmessungen und nach Picrotoxinapplikation gefunden. Wenn die Stimulation der kortikalen Fasern im Vergleich zur intranukleären Reizung verstärkt GABAerge Interneurone aktiviert, wären diese unterschiedlichen Messergebnisse erklärbar. Nach Entfernung des entorhinalen Kortex lassen die Ergebnisse auf einen starken Anstieg in der Freisetzungswahrscheinlichkeit von Glutamat schließen, welches die oben genannte Vermutung unterstützt. Unter diesen Bedingungen verursachte Picrotoxin eine signifikante Reduzierung der PPF. Es ist anzumerken, dass im Hippocampus unter Picrotoxin keine Veränderungen der PPF gefunden wurden (Voronin et al., 1999). In Übereinstimmung mit den Daten von Drephal et al. (2006) konnte auch in dieser Untersuchung kein Einfluss von APV auf die PPF gefunden werden. Die Blockade der NMDARs scheint sich zumindest beim adulten Tier auf postsynaptisch lokalisierte Rezeptoren zu beziehen.

4.5. Prä- versus postsynaptische Mechanismen der LTD

Es gibt eine Reihe von Hinweisen, dass NMDARs sowohl prä- als auch postsynaptisch nachzuweisen sind, währenddessen mGLURs vorwiegend präsynaptisch an Neuronen der lateralen Amygdala lokalisiert sein sollen (Farb et al., 1995; Humeau et al., 2003; Lin et al., 2005). Die Induktion einer LTD könnte in der lateralen Amygdala durch präsynaptische mGLURs der Gruppe II zustande kommen (Lin et al., 2000; Neugebauer et al., 1997). Wir konnten kürzlich nachweisen, dass die PPF nach LTD Induktion im Vergleich zur PPF vor LFS einen Anstieg zeigt und somit mit einer reduzierten Freisetzungswahrscheinlichkeit gekoppelt ist (Mueller and Albrecht, 2009). Ähnliche Befunde sind für die LTP-Induktion im Hippocampus beschrieben worden. Die PPF ist nach der LTP-Induktion reduziert (Hsu et al., 1999; Voronin et al., 1999).

In anderen Hirnstrukturen ist bekannt, dass LTD auch von präsynaptischen NMDARs abhängig ist (Duguid and Sjostrom, 2006). Zumindest im zentralen Kern der Amygdala scheint die Induktion der LTD von postsynaptischen NMDARs abhängig zu sein (Lopez and Sah, 2007). Auch in der Intercalate-Region der Amygdala wird die LTD postsynaptisch über NMDARs vermittelt (Royer and Pare, 2002). Somit lassen unsere Ergebnisse vermuten, dass die Induktion der LA-LTD durch präsynaptische mGLURs und postsynaptische NMDARs vermittelt wird.

4.6. Ausblick

Generell ist gegenwärtig noch nicht explizit klar, welche funktionelle Bedeutung die LTD im Gehirn spielt. Während in der lateralen Amygdala noch bei zwei Jahre alten Mäusen LTP induzierbar ist (Walther et al., 2009), lässt sich im lateralen Kern der Amygdala schon bei 12 Monate alten Mäusen keine LTD mehr auslösen. Eine solche Altersabhängigkeit ist auch vom Hippocampus bekannt. Ist LTD eine Form des Vergessens oder ermöglicht die LTD das Erlernen neuer Gedächtnisinhalte? Verhindert sie den Sättigungseffekt? Ermöglicht die Verschiebung der Plastizitätsschwelle („sliding threshold“) ein dynamisches Anpassen an die Erfordernisse der Umwelt, um ein adäquates Reagieren des Organismus zu ermöglichen? Wir konnten zeigen, dass chronisches Kindling als experimentelles Epilepsiemodell und mögliche Form der Metaplastizität eine LA-LTP in Antwort auf die niederfrequente Reizung induziert,

während bei den Kontrolltieren LFS LTD verursacht. Demgegenüber kann LFS die Entwicklung von Kindling-induzierter Krampfaktivität blockieren (Weiss et al., 1995). Relativ gesichert ist die Bedeutung der LTD in der Amygdala für die Verbesserung des Signal-Rauschpegels (Royer and Pare, 2002).

Diese Arbeit und weitere Studien der Arbeitsgruppe zeigen, dass NMDARs, mGLURs und spannungsabhängige Kalziumkanäle in die Induktion der LA-LTD involviert sind. Weitere Untersuchungen sind notwendig, um die Beteiligung der verschiedenen Second Messenger Systeme bei der Induktion und Erhaltung der LTD im lateralen Kern der Amygdala abzuklären. Erste Befunde zu den Mechanismen der LA-LTD und die Mehrzahl der Befunde zu den Mechanismen der LA-LTP unterstreichen die Schlussfolgerung, dass die Plastizitätsprozesse in der Amygdala und in der CA1 Region des Hippocampus sehr ähnlich strukturiert sind.

Diese Arbeit zeigt auch, dass extrazelluläre Feldpotenzialableitungen gut geeignet sind, Plastizitätsphänomene in einer Struktur, die nicht in Schichten aufgebaut ist, abzuklären. Die übereinstimmenden Ergebnisse der extra- und intrazellulären Ableitungen ermöglichen eine solche Schlussfolgerung. Kürzlich erhielt diese Schlussfolgerung Bestätigung durch detaillierte Ableitungen durch die Arbeitsgruppe von J. LeDoux (Johnson et al., 2008).

5. Zusammenfassung

Diese Arbeit beschäftigte sich mit der LTD in der lateralen Amygdala, einer Struktur, die in engem Zusammenhang mit Emotionen und Prozessen des Lernens steht. Ähnlich der LTP stellt die LTD einen physiologischen Mechanismus neuronaler Plastizität dar. Dazu konnte in mehreren Studien gezeigt werden, dass die LTD in verschiedenen Hirnstrukturen induzierbar und von verschiedenen Rezeptorsystemen abhängig war.

Zum Zeitpunkt der Experimente dieser Arbeit existierte nur eine Arbeit zur LTD in der Amygdala an coronalen Hirnschnitten. Alle Experimente der vorliegenden Arbeit wurden an horizontalen Hirnschnitten durchgeführt. Es war möglich, bei extrazellulären Messungen sowohl durch intranukleäre Reizung als auch bei der Stimulation in der externen Kapsel eine stabile LTD zu erzeugen. Durch den Wegfall der Afferenzen vom entorhinalen Kortex kam es zu einer deutlichen Abschwächung der LTD. Die extrazellulären Ergebnisse der intranukleären Messungen konnten auch durch intrazelluläre Ableitungen bestätigt werden. Dabei war die Wahrscheinlichkeit, eine LTD auszulösen größer als in der coronalen Schnittpräparation.

In der lateralen Amygdala konnten wir zeigen, dass NMDA-, GABA- sowie metabotrope Glutamatrezeptoren an der Ausbildung einer LTD beteiligt sind und durch entsprechende Antagonisten die LTD verhindert werden konnte. Der Grad der synaptischen Depression war in diesen Experimenten unabhängig vom Geschlecht. Unterschiede wurden aber an Tieren verschiedener Anbieter gefunden. Daraus resultierte ein unterschiedlicher Einfluss des GABAergen Systems auf die Induktion der LTD.

Es gibt mehrere Paradigmen der LTD-Induktion. Durch niederfrequente Reizung (LFS, 900 Pulse, 1 Hz) und Thetapulsstimulation (TPS, 8 Hz, 150 s) konnte jeweils eine stabile LTD erzeugt werden. Dabei verursachte die niederfrequente Stimulation eine ausgeprägtere LTD im Vergleich zur Thetapulsstimulation. Die LTD ist aber keine statische Veränderung der neuronalen Plastizität. Durch Paradigmen der LTP-Induktion war die LTD nach 20 Minuten einerseits durch Thetaburststimulation reversibel, d. h., die Induktion der synaptischen Transmission wurde blockiert. Andererseits konnte durch hochfrequente Stimulation (HFS) eine größere Amplitude der LTP als in vergleichbaren Messungen zur LTP ohne vorangestellte LFS induziert werden, was man möglicherweise als „Priming“-Effekt im Rahmen der Metaplastizität interpretieren könnte.

Gegenwärtig ist die funktionelle Bedeutung der LTD im Gehirn nur ansatzweise verstanden. Weitere Untersuchungen müssen folgen, um dieses Phänomen und seine Bedeutung für Mechanismen des Lernens und Gedächtnisses explizit aufzuklären.

6. Literatur

- Abraham,W.C. and Huggett,A. (1997). Induction and reversal of long-term potentiation by repeated high-frequency stimulation in rat hippocampal slices. *Hippocampus* 7, 137-145.
- Abraham,W.C., Mason-Parker,S.E., Bear,M.F., Webb,S., and Tate,W.P. (2001). Heterosynaptic metaplasticity in the hippocampus in vivo: a BCM-like modifiable threshold for LTP. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 98, 10924-10929.
- Abraham,W.C., Mason-Parker,S.E., Irvine,G.I., Logan,B., and Gill,A.I. (2006). Induction and activity-dependent reversal of persistent LTP and LTD in lateral perforant path synapses in vivo. *Neurobiol.Learn.Mem.* 86, 82-90.
- Abraham,W.C. and Robins,A. (2005). Memory retention--the synaptic stability versus plasticity dilemma. *Trends Neurosci.* 28, 73-78.
- Abraham,W.C. and Tate,W.P. (1997). Metaplasticity: a new vista across the field of synaptic plasticity. *Prog.Neurobiol.* 52, 303-323.
- Abraham,W.C. and Wickens,J.R. (1991). Heterosynaptic long-term depression is facilitated by blockade of inhibition in area CA1 of the hippocampus. *Brain Res.* 546, 336-340.
- Adolphs,R. (2002). Recognizing emotion from facial expressions: psychological and neurological mechanisms. *Behav.Cogn Neurosci.Rev.* 1, 21-62.
- Adolphs,R., Tranel,D., and Damasio,A.R. (1998). The human amygdala in social judgment. *Nature* 393, 470-474.
- Adolphs,R., Tranel,D., and Damasio,H. (2001). Emotion recognition from faces and prosody following temporal lobectomy. *Neuropsychology.* 15, 396-404.
- Adolphs,R., Tranel,D., Damasio,H., and Damasio,A. (1994). Impaired recognition of emotion in facial expressions following bilateral damage to the human amygdala. *Nature* 372, 669-672.
- Adolphs,R., Tranel,D., Hamann,S., Young,A.W., Calder,A.J., Phelps,E.A., Anderson,A., Lee,G.P., and Damasio,A.R. (1999). Recognition of facial emotion in nine individuals with bilateral amygdala damage. *Neuropsychologia* 37, 1111-1117.
- Albrecht,D. (2007). Angiotensin-(1-7)-induced plasticity changes in the lateral amygdala are mediated by COX-2 and NO. *Learn.Mem.* 14, 177-184.
- Albrecht, D. and von Bohlen und Halbach (2008). Cellular Cognition: A Focus on LTP and LTD in the lateral nucleus of the amygdala. In: *Synaptic Plasticity: New Research*, Eds: T.F. Kaiser and F.J. Peters, Nova Science Publishers, Inc., pp: 271-311.

- Alheid,G., De Olmos,J.S., and Beltramino,C.A. (1995). Amygdala and extended amygdala. In: The rat nervous system. (Paxinos G, ed), pp 495-578.NewYork: Academic.
- Amorapanth,P., LeDoux,J.E., and Nader,K. (2000). Different lateral amygdala outputs mediate reactions and actions elicited by a fear-arousing stimulus. *Nat.Neurosci.* 3, 74-79.
- Anwyl,R. (1999). Metabotropic glutamate receptors: electrophysiological properties and role in plasticity. *Brain Res.Brain Res.Rev.* 29, 83-120.
- Aroniadou-Anderjaska,V., Post,R.M., Rogawski,M.A., and Li,H. (2001). Input-specific LTP and depotentiation in the basolateral amygdala. *Neuroreport* 12, 635-640.
- Asztely,F., Xiao,M.Y., and Gustafsson,B. (1996). Long-term potentiation and paired-pulse facilitation in the hippocampal CA1 region. *Neuroreport* 7, 1609-1612.
- Azad,S.C., Kurz,J., Marsicano,G., Lutz,B., Zieglgansberger,W., and Rammes,G. (2008). Activation of CB1 specifically located on GABAergic interneurons inhibits LTD in the lateral amygdala. *Learn.Mem.* 15, 143-152.
- Bailey,D.J., Kim,J.J., Sun,W., Thompson,R.F., and Helmstetter,F.J. (1999). Acquisition of fear conditioning in rats requires the synthesis of mRNA in the amygdala. *Behav.Neurosci.* 113, 276-282.
- Balleine,B.W. and Killcross,S. (2006). Parallel incentive processing: an integrated view of amygdala function. *Trends Neurosci.* 29, 272-279.
- Bandrowski,A.E., Huguenard,J.R., and Prince,D.A. (2003). Baseline glutamate levels affect group I and II mGluRs in layer V pyramidal neurons of rat sensorimotor cortex. *J.Neurophysiol.* 89, 1308-1316.
- Barr,D.S., Lambert,N.A., Hoyt,K.L., Moore,S.D., and Wilson,W.A. (1995). Induction and reversal of long-term potentiation by low- and high-intensity theta pattern stimulation. *J.Neurosci.* 15, 5402-5410.
- Barrionuevo,G., Schottler,F., and Lynch,G. (1980). The effects of repetitive low frequency stimulation on control and "potentiated" synaptic responses in the hippocampus. *Life Sci.* 27, 2385-2391.
- Bartlett,T.E., Bannister,N.J., Collett,V.J., Dargan,S.L., Massey,P.V., Bortolotto,Z.A., Fitzjohn,S.M., Bashir,Z.I., Collingridge,G.L., and Lodge,D. (2007). Differential roles of NR2A and NR2B-containing NMDA receptors in LTP and LTD in the CA1 region of two-week old rat hippocampus. *Neuropharmacology* 52, 60-70.
- Bashir,Z.I. and Collingridge,G.L. (1994). An investigation of depotentiation of long-term potentiation in the CA1 region of the hippocampus. *Exp.Brain Res.* 100, 437-443.
- Blair,H.T. and LeDoux,J.E. (2000). Single-unit recording of auditory and nociceptive responses from lateral amygdala neurons during auditory fear conditioning in freely behaving rats. *Soc.Neurosci. Abs.* 26, 1254..

- Blair, H.T., Schafe, G.E., Bauer, E.P., Rodrigues, S.M., and LeDoux, J.E. (2001). Synaptic plasticity in the lateral amygdala: a cellular hypothesis of fear conditioning. *Learn.Mem.* 8, 229-242.
- Blair, R.J., Morris, J.S., Frith, C.D., Perrett, D.I., and Dolan, R.J. (1999). Dissociable neural responses to facial expressions of sadness and anger. *Brain* 122 (Pt 5), 883-893.
- Blanchard, R.J. and Blanchard, D.C. (1969). Passive and active reactions to fear-eliciting stimuli. *J.Comp Physiol Psychol.* 68, 129-135.
- Blank, T., Nijholt, I., Eckart, K., and Spiess, J. (2002). Priming of long-term potentiation in mouse hippocampus by corticotropin-releasing factor and acute stress: implications for hippocampus-dependent learning. *J.Neurosci.* 22, 3788-3794.
- Bliss, T.V. and Collingridge, G.L. (1993). A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature* 361, 31-39.
- Boccardi, M., Pennanen, C., Laakso, M.P., Testa, C., Geroldi, C., Soininen, H., and Frisoni, G.B. (2002). Amygdaloid atrophy in frontotemporal dementia and Alzheimer's disease. *Neurosci.Lett.* 335, 139-143.
- Bolles, R.C. and Fanselow, M.S. (1982). Endorphins and behavior. *Annu.Rev.Psychol.* 33, 87-101.
- Bordi, F. and LeDoux, J.E. (1994). Response properties of single units in areas of rat auditory thalamus that project to the amygdala. II. Cells receiving convergent auditory and somatosensory inputs and cells antidromically activated by amygdala stimulation. *Exp.Brain Res.* 98, 275-286.
- Braunewell, K.H. and Manahan-Vaughan, D. (2001). Long-term depression: a cellular basis for learning? *Rev.Neurosci.* 12, 121-140.
- Breiter, H.C., Etcoff, N.L., Whalen, P.J., Kennedy, W.A., Rauch, S.L., Buckner, R.L., Strauss, M.M., Hyman, S.E., and Rosen, B.R. (1996). Response and habituation of the human amygdala during visual processing of facial expression. *Neuron* 17, 875-887.
- Brown, M.W. and Xiang, J.Z. (1998). Recognition memory: neuronal substrates of the judgement of prior occurrence. *Prog.Neurobiol.* 55, 149-189.
- Cahill, L. and McGaugh, J.L. (1998). Mechanisms of emotional arousal and lasting declarative memory. *Trends Neurosci.* 21, 294-299.
- Cahill, L., Weinberger, N.M., Roozendaal, B., and McGaugh, J.L. (1999). Is the amygdala a locus of "conditioned fear"? Some questions and caveats. *Neuron* 23, 227-228.
- Campeau, S. and Davis, M. (1995). Involvement of subcortical and cortical afferents to the lateral nucleus of the amygdala in fear conditioning measured with fear-potentiated startle in rats trained concurrently with auditory and visual conditioned stimuli. *J.Neurosci.* 15, 2312-2327.

- Canteras,N.S. and Swanson,L.W. (1992). Projections of the ventral subiculum to the amygdala, septum, and hypothalamus: a PHAL anterograde tract-tracing study in the rat. *J.Comp Neurol.* 324, 180-194.
- Chapman,P.F. and Bellavance,L.L. (1992). Induction of long-term potentiation in the basolateral amygdala does not depend on NMDA receptor activation. *Synapse* 11, 310-318.
- Chapman,P.F., Kairiss,E.W., Keenan,C.L., and Brown,T.H. (1990). Long-term synaptic potentiation in the amygdala. *Synapse* 6, 271-278.
- Cho,K., Kemp,N., Noel,J., Aggleton,J.P., Brown,M.W., and Bashir,Z.I. (2000). A new form of long-term depression in the perirhinal cortex. *Nat.Neurosci.* 3, 150-156.
- Clugnet,M.C. and 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. *J.Neurosci.* 10, 2818-2824.
- Cohen,P. (1988). Protein phosphorylation and hormone action. *Proc.R.Soc.Lond B Biol.Sci.* 234, 115-144.
- Collins,D.R. and Pare,D. (2000). Differential fear conditioning induces reciprocal changes in the sensory responses of lateral amygdala neurons to the CS(+) and CS(-). *Learn.Mem.* 7, 97-103.
- Conn,P.J. and Pin,J.P. (1997). Pharmacology and functions of metabotropic glutamate receptors. *Annu.Rev.Pharmacol.Toxicol.* 37, 205-237.
- Coussens,C.M., Kerr,D.S., and Abraham,W.C. (1997). Glucocorticoid receptor activation lowers the threshold for NMDA-receptor-dependent homosynaptic long-term depression in the hippocampus through activation of voltage-dependent calcium channels. *J.Neurophysiol.* 78, 1-9.
- Cummings,J.A., Mulkey,R.M., Nicoll,R.A., and Malenka,R.C. (1996). Ca²⁺ signaling requirements for long-term depression in the hippocampus. *Neuron* 16, 825-833.
- Davies,C.H., Davies,S.N., and Collingridge,G.L. (1990). Paired-pulse depression of monosynaptic GABA-mediated inhibitory postsynaptic responses in rat hippocampus. *J.Physiol* 424, 513-531.
- Davis,H.P. and Squire,L.R. (1984). Protein synthesis and memory: a review. *Psychol.Bull.* 96, 518-559.
- Davis,M. (1992). The role of the amygdala in fear and anxiety. *Annu.Rev.Neurosci.* 15, 353-375.
- Davis,M. and Lee,Y. Fear and anxiety: Possible roles of the amygdala and bed nucleus of the stria terminalis. 1998. *Cognit. Emotion* 12, 277-305.
- Davis,M., Rainnie,D., and Cassell,M. (1994). Neurotransmission in the rat amygdala related to fear and anxiety. *Trends Neurosci.* 17, 208-214.

- De Olmos, J., Alheid, G.F., and Beltramino, C.A. (1985). Amygdala. In *The rat nervous system: Forebrain and midbrain*. (ed. G. Paxinos), pp. 223-334 Academic Press, San Diego, CA.
- Dingledine, R., Borges, K., Bowie, D., and Traynelis, S.F. (1999). The glutamate receptor ion channels. *Pharmacol. Rev.* 51, 7-61.
- Dingledine, R. and Conn, P.J. (2000). Peripheral glutamate receptors: molecular biology and role in taste sensation. *J. Nutr.* 130, 1039S-1042S.
- Dobrunz, L.E. and Stevens, C.F. (1997). Heterogeneity of release probability, facilitation, and depletion at central synapses. *Neuron* 18, 995-1008.
- Doron, N.N. and LeDoux, J.E. (1999). Organization of projections to the lateral amygdala from auditory and visual areas of the thalamus in the rat. *J. Comp. Neurol.* 412, 383-409.
- Drephal, C., Schubert, M., and Albrecht, D. (2006). Input-specific long-term potentiation in the rat lateral amygdala of horizontal slices. *Neurobiol. Learn. Mem.* 85, 272-282.
- Dudai, Y. (2004). The neurobiology of consolidations, or, how stable is the engram? *Annu. Rev. Psychol.* 55, 51-86.
- Dudek, S.M. and Bear, M.F. (1992). Homosynaptic long-term depression in area CA1 of hippocampus and effects of N-methyl-D-aspartate receptor blockade. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 89, 4363-4367.
- Duguid, I. and Sjostrom, P.J. (2006). Novel presynaptic mechanisms for coincidence detection in synaptic plasticity. *Curr. Opin. Neurobiol.* 16, 312-322.
- Ekman, P. and Friesen, W. Pictures of facial affect. 1976. Palo Alto, CA: Consulting Psychologists.
- Errington, M.L., Bliss, T.V., Richter-Levin, G., Yenk, K., Doyere, V., and Laroche, S. (1995). Stimulation at 1-5 Hz does not produce long-term depression or depotentiation in the hippocampus of the adult rat in vivo. *J. Neurophysiol.* 74, 1793-1799.
- Faber, E.S., Callister, R.J., and Sah, P. (2001). Morphological and electrophysiological properties of principal neurons in the rat lateral amygdala in vitro. *J. Neurophysiol.* 85, 714-723.
- Fanselow, M.S. and Kim, J.J. (1994). Acquisition of contextual Pavlovian fear conditioning is blocked by application of an NMDA receptor antagonist D,L-2-amino-5-phosphonovaleric acid to the basolateral amygdala. *Behav. Neurosci.* 108, 210-212.
- Fanselow, M.S., Kim, J.J., Yipp, J., and De Oca, B. (1994). Differential effects of the N-methyl-D-aspartate antagonist DL-2-amino-5-phosphonovalerate on acquisition of fear of auditory and contextual cues. *Behav. Neurosci.* 108, 235-240.
- Fanselow, M.S. and LeDoux, J.E. (1999). Why we think plasticity underlying Pavlovian fear conditioning occurs in the basolateral amygdala. *Neuron* 23, 229-232.

- Farb,C.R., Aoki,C., and LeDoux,J.E. (1995). Differential localization of NMDA and AMPA receptor subunits in the lateral and basal nuclei of the amygdala: a light and electron microscopic study. *J.Comp Neurol.* 362, 86-108.
- Farb,C.R. and LeDoux,J.E. (1997). NMDA and AMPA receptors in the lateral nucleus of the amygdala are postsynaptic to auditory thalamic afferents. *Synapse* 27, 106-121.
- Faulkner,B. and Brown,T.H. (1999). Morphology and physiology of neurons in the rat perirhinal-lateral amygdala area. *J.Comp Neurol.* 411, 613-642.
- Feldman,D.E., Nicoll,R.A., Malenka,R.C., and Isaac,J.T. (1998). Long-term depression at thalamocortical synapses in developing rat somatosensory cortex. *Neuron* 21, 347-357.
- Fu,Y. and Neugebauer,V. (2008). Differential mechanisms of CRF1 and CRF2 receptor functions in the amygdala in pain-related synaptic facilitation and behavior. *J.Neurosci.* 28, 3861-3876.
- Funahashi,M., Matsuo,R., and Stewart,M. (2000). Propagation of synchronous burst discharges from entorhinal cortex to morphologically and electrophysiologically identified neurons of rat lateral amygdala. *Brain Res.* 884, 104-115.
- Gean,P.W. and Chang,F.C. (1991). Bursting discharges in disinhibited amygdala slices: the role of excitatory amino acid receptors. *Neuropharmacology* 30, 797-802.
- Gean,P.W. and Lin,J.H. (1993). D-2-amino-5-phosphonovalerate blocks induction of long-term depression of the NMDA receptor-mediated synaptic component in rat hippocampus. *Neurosci.Lett.* 158, 170-172.
- Goelet,P., Castellucci,V.F., Schacher,S., and Kandel,E.R. (1986). The long and the short of long-term memory--a molecular framework. *Nature* 322, 419-422.
- Goldstein,L.E., Rasmusson,A.M., Bunney,B.S., and Roth,R.H. (1996). Role of the amygdala in the coordination of behavioral, neuroendocrine, and prefrontal cortical monoamine responses to psychological stress in the rat. *J.Neurosci.* 16, 4787-4798.
- Good,M., Day,M., and Muir,J.L. (1999). Cyclical changes in endogenous levels of oestrogen modulate the induction of LTD and LTP in the hippocampal CA1 region. *Eur.J.Neurosci.* 11, 4476-4480.
- Goosens,K.A. and Maren,S. (2001). Contextual and auditory fear conditioning are mediated by the lateral, basal, and central amygdaloid nuclei in rats. *Learn.Mem.* 8, 148-155.
- Hamani,C. and Mello,L.E. (1997). Status epilepticus induced by pilocarpine and picrotoxin. *Epilepsy Res.* 28, 73-82.
- Harrison,N. and Nau,C. (2008). Sensitization of nociceptive ion channels by inhaled anesthetics--a pain in the gas? *Mol.Pharmacol.* 74, 1180-1182.

- Heinböckel,T. and Pape,H.C. (2000). Input-specific long-term depression in the lateral amygdala evoked by theta frequency stimulation. *J.Neurosci.* *20*, RC68.
- Helmstetter,F.J. (1992). The amygdala is essential for the expression of conditional hypoalgesia. *Behav.Neurosci.* *106*, 518-528.
- Helmstetter,F.J. and Bellgowan,P.S. (1994). Effects of muscimol applied to the basolateral amygdala on acquisition and expression of contextual fear conditioning in rats. *Behav.Neurosci.* *108*, 1005-1009.
- Hess,G. and Kuhnt,U. (1992). Presynaptic calcium transients evoked by paired-pulse stimulation in the hippocampal slice. *Neuroreport* *3*, 361-364.
- Heynen,A.J., Abraham,W.C., and Bear,M.F. (1996). Bidirectional modification of CA1 synapses in the adult hippocampus in vivo. *Nature* *381*, 163-166.
- Holscher,C. (2002). Different strains of rats show different sensitivity to block of long-term potentiation by nitric oxide synthase inhibitors. *Eur.J.Pharmacol.* *457*, 99-106.
- Hsu,K.S., Ho,W.C., Huang,C.C., and Tsai,J.J. (1999). Prior short-term synaptic disinhibition facilitates long-term potentiation and suppresses long-term depression at CA1 hippocampal synapses. *Eur.J.Neurosci.* *11*, 4059-4069.
- Huang,Y.Y. and Kandel,E.R. (1998). Postsynaptic induction and PKA-dependent expression of LTP in the lateral amygdala. *Neuron* *21*, 169-178.
- Huang,Y.Y. and Kandel,E.R. (2007). Low-frequency stimulation induces a pathway-specific late phase of LTP in the amygdala that is mediated by PKA and dependent on protein synthesis. *Learn.Mem.* *14*, 497-503.
- Humeau,Y., Shaban,H., Bissiere,S., and Luthi,A. (2003). Presynaptic induction of heterosynaptic associative plasticity in the mammalian brain. *Nature* *426*, 841-845.
- Jia,Z., Agopyan,N., Miu,P., Xiong,Z., Henderson,J., Gerlai,R., Taverna,F.A., Velumian,A., MacDonald,J., Carlen,P., Abramow-Newerly,W., and Roder,J. (1996). Enhanced LTP in mice deficient in the AMPA receptor GluR2. *Neuron* *17*, 945-956.
- Johnson,L.R., Hou,M., Ponce-Alvarez,A., Gribelyuk,L.M., Alphas,H.H., Albert,L., Brown,B.L., LeDoux,J.E., and Doyere,V. (2008). A recurrent network in the lateral amygdala: a mechanism for coincidence detection. *Front Neural Circuits.* *2*, 3.
- Jolkkonen,E. and Pitkanen,A. (1998). Intrinsic connections of the rat amygdaloid complex: projections originating in the central nucleus. *J.Comp Neurol.* *395*, 53-72.
- Kacew,S. and Festing,M.F. (1996). Role of rat strain in the differential sensitivity to pharmaceutical agents and naturally occurring substances. *J.Toxicol.Enviroin.Health* *47*, 1-30.

- Kandel, E.R. (1997). Genes, synapses, and long-term memory. *J. Cell Physiol* 173, 124-125.
- Kang-Park, M.H., Sarda, M.A., Jones, K.H., Moore, S.D., Shenolikar, S., Clark, S., and Wilson, W.A. (2003). Protein phosphatases mediate depotentiation induced by high-intensity theta-burst stimulation. *J. Neurophysiol.* 89, 684-690.
- Kapp, B.S., Frysinger, R.C., Gallagher, M., and Haselton, J.R. (1979). Amygdala central nucleus lesions: effect on heart rate conditioning in the rabbit. *Physiol Behav.* 23, 1109-1117.
- Kaschel, T., Schubert, M., and Albrecht, D. (2004). Long-term depression in horizontal slices of the rat lateral amygdala. *Synapse* 53, 141-150.
- Kash, T.L., Nobis, W.P., Matthews, R.T., and Winder, D.G. (2008). Dopamine enhances fast excitatory synaptic transmission in the extended amygdala by a CRF-R1-dependent process. *J. Neurosci.* 28, 13856-13865.
- Kemp, N. and Bashir, Z.I. (1999). Induction of LTD in the adult hippocampus by the synaptic activation of AMPA/kainate and metabotropic glutamate receptors. *Neuropharmacology* 38, 495-504.
- Kemp, N. and Bashir, Z.I. (2001). Long-term depression: a cascade of induction and expression mechanisms. *Prog. Neurobiol.* 65, 339-365.
- Kerr, D.S. and Abraham, W.C. (1995). Cooperative interactions among afferents govern the induction of homosynaptic long-term depression in the hippocampus. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A* 92, 11637-11641.
- Kim, J.J. and Fanselow, M.S. (1992). Modality-specific retrograde amnesia of fear. *Science* 256, 675-677.
- Kirkwood, A. and Bear, M.F. (1994). Homosynaptic long-term depression in the visual cortex. *J. Neurosci.* 14, 3404-3412.
- Kluver, H. and Bucy, P.C. (1997). Preliminary analysis of functions of the temporal lobes in monkeys. 1939. *J. Neuropsychiatry Clin. Neurosci.* 9, 606-620.
- Komatsu, Y. and Iwakiri, M. (1993). Long-term modification of inhibitory synaptic transmission in developing visual cortex. *Neuroreport* 4, 907-910.
- Krettek, J.E. and Price, J.L. (1978). A description of the amygdaloid complex in the rat and cat with observations on intra-amygdaloid axonal connections. *J. Comp Neurol.* 178, 255-280.
- Krezel, W., Dupont, S., Krust, A., Chambon, P., and Chapman, P.F. (2001). Increased anxiety and synaptic plasticity in estrogen receptor beta -deficient mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A* 98, 12278-12282.
- LaBar, K.S. and LeDoux, J.E. (1996). Partial disruption of fear conditioning in rats with unilateral amygdala damage: correspondence with unilateral temporal lobectomy in humans. *Behav. Neurosci.* 110, 991-997.

- LaBar, K.S., LeDoux, J.E., Spencer, D.D., and Phelps, E.A. (1995). Impaired fear conditioning following unilateral temporal lobectomy in humans. *J. Neurosci.* *15*, 6846-6855.
- LeDoux, J.E. (1995). Emotion: clues from the brain. *Annu. Rev. Psychol.* *46*, 209-235.
- LeDoux, J.E. (2000). Emotion circuits in the brain. *Annu. Rev. Neurosci.* *23*, 155-184.
- LeDoux, J.E., Cicchetti, P., Xagoraris, A., and Romanski, L.M. (1990). The lateral amygdaloid nucleus: sensory interface of the amygdala in fear conditioning. *J. Neurosci.* *10*, 1062-1069.
- LeDoux, J.E., Farb, C.R., and Romanski, L.M. (1991). Overlapping projections to the amygdala and striatum from auditory processing areas of the thalamus and cortex. *Neurosci. Lett.* *134*, 139-144.
- LeDoux, J.E., Iwata, J., Cicchetti, P., and Reis, D.J. (1988). Different projections of the central amygdaloid nucleus mediate autonomic and behavioral correlates of conditioned fear. *J. Neurosci.* *8*, 2517-2529.
- LeDoux, J.E., Ruggiero, D.A., Forest, R., Stornetta, R., and Reis, D.J. (1987). Topographic organization of convergent projections to the thalamus from the inferior colliculus and spinal cord in the rat. *J. Comp. Neurol.* *264*, 123-146.
- Li, H., Chen, A., Xing, G., Wei, M.L., and Rogawski, M.A. (2001). Kainate receptor-mediated heterosynaptic facilitation in the amygdala. *Nat. Neurosci.* *4*, 612-620.
- Li, H., Weiss, S.R., Chuang, D.M., Post, R.M., and Rogawski, M.A. (1998). Bidirectional synaptic plasticity in the rat basolateral amygdala: characterization of an activity-dependent switch sensitive to the presynaptic metabotropic glutamate receptor antagonist 2S-alpha-ethylglutamic acid. *J. Neurosci.* *18*, 1662-1670.
- Lin, C.H., Lee, C.C., Huang, Y.C., Wang, S.J., and Gean, P.W. (2005). Activation of group II metabotropic glutamate receptors induces depotentiation in amygdala slices and reduces fear-potentiated startle in rats. *Learn. Mem.* *12*, 130-137.
- Lin, H.C., Wang, S.J., Luo, M.Z., and Gean, P.W. (2000). Activation of group II metabotropic glutamate receptors induces long-term depression of synaptic transmission in the rat amygdala. *J. Neurosci.* *20*, 9017-9024.
- Linke, R., Braune, G., and Schwegler, H. (2000). Differential projection of the posterior paralamina thalamic nuclei to the amygdaloid complex in the rat. *Exp. Brain Res.* *134*, 520-532.
- Lisman, J. (1989). A mechanism for the Hebb and the anti-Hebb processes underlying learning and memory. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* *86*, 9574-9578.
- Liu, L., Wong, T.P., Pozza, M.F., Lingenhoehl, K., Wang, Y., Sheng, M., Auberson, Y.P., and Wang, Y.T. (2004). Role of NMDA receptor subtypes in governing the direction of hippocampal synaptic plasticity. *Science* *304*, 1021-1024.

- Lopez,d.A. and Sah,P. (2007). Bidirectional synaptic plasticity at nociceptive afferents in the rat central amygdala. *J.Physiol* 581, 961-970.
- Lynch,G.S., Dunwiddie,T., and Gribkoff,V. (1977). Heterosynaptic depression: a postsynaptic correlate of long-term potentiation. *Nature* 266, 737-739.
- Mahanty,N.K. and Sah,P. (1998). Calcium-permeable AMPA receptors mediate long-term potentiation in interneurons in the amygdala. *Nature* 394, 683-687.
- Malenka,R.C. (1994). Synaptic plasticity in the hippocampus: LTP and LTD. *Cell* 78, 535-538.
- Malenka,R.C., Kauer,J.A., Perkel,D.J., and Nicoll,R.A. (1989). The impact of postsynaptic calcium on synaptic transmission--its role in long-term potentiation. *Trends Neurosci.* 12, 444-450.
- Malenka,R.C. and Nicoll,R.A. (1993). NMDA-receptor-dependent synaptic plasticity: multiple forms and mechanisms. *Trends Neurosci.* 16, 521-527.
- Malenka,R.C. and Nicoll,R.A. (1999). Long-term potentiation--a decade of progress? *Science* 285, 1870-1874.
- Manahan-Vaughan,D. (2000). Group III metabotropic glutamate receptors modulate long-term depression in the hippocampal CA1 region of two rat strains in vivo. *Neuropharmacology* 39, 1952-1958.
- Manahan-Vaughan,D. and Braunewell,K.H. (1999). Novelty acquisition is associated with induction of hippocampal long-term depression. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 96, 8739-8744.
- Mangan,P.S., Scott,C.A., Williamson,J.M., and Bertram,E.H. (2000). Aberrant neuronal physiology in the basal nucleus of the amygdala in a model of chronic limbic epilepsy. *Neuroscience* 101, 377-391.
- Maren,S. (1995). Sexually dimorphic perforant path long-term potentiation (LTP) in urethane-anesthetized rats. *Neurosci.Lett.* 196, 177-180.
- Maren,S. (1996). Synaptic transmission and plasticity in the amygdala. An emerging physiology of fear conditioning circuits. *Mol.Neurobiol.* 13, 1-22.
- Maren,S., Aharonov,G., and Fanselow,M.S. (1997). Neurotoxic lesions of the dorsal hippocampus and Pavlovian fear conditioning in rats. *Behav.Brain Res.* 88, 261-274.
- Maren,S., De Oca,B., and Fanselow,M.S. (1994). Sex differences in hippocampal long-term potentiation (LTP) and Pavlovian fear conditioning in rats: positive correlation between LTP and contextual learning. *Brain Res.* 661, 25-34.
- Maren,S. and Fanselow,M.S. (1995). Synaptic plasticity in the basolateral amygdala induced by hippocampal formation stimulation in vivo. *J.Neurosci.* 15, 7548-7564.

- Maren,S. and Fanselow,M.S. (1996). The amygdala and fear conditioning: has the nut been cracked? *Neuron* 16, 237-240.
- Maren,S. and Fanselow,M.S. (1997). Electrolytic lesions of the fimbria/fornix, dorsal hippocampus, or entorhinal cortex produce anterograde deficits in contextual fear conditioning in rats. *Neurobiol.Learn.Mem.* 67, 142-149.
- Martinez-Garcia,F., Martinez-Marcos,A., and Lanuza,E. (2002). The pallial amygdala of amniote vertebrates: evolution of the concept, evolution of the structure. *Brain Res.Bull.* 57, 463-469.
- Massey,P.V., Johnson,B.E., Moulton,P.R., Auberson,Y.P., Brown,M.W., Molnar,E., Collingridge,G.L., and Bashir,Z.I. (2004). Differential roles of NR2A and NR2B-containing NMDA receptors in cortical long-term potentiation and long-term depression. *J.Neurosci.* 24, 7821-7828.
- McDonald,A.J. (1982). Neurons of the lateral and basolateral amygdaloid nuclei: a Golgi study in the rat. *J.Comp Neurol.* 212, 293-312.
- McDonald,A.J. (1984). Neuronal organization of the lateral and basolateral amygdaloid nuclei in the rat. *J.Comp Neurol.* 222, 589-606.
- McDonald,A.J. (1985). Immunohistochemical identification of gamma-aminobutyric acid-containing neurons in the rat basolateral amygdala. *Neurosci.Lett.* 53, 203-207.
- McDonald,A.J. (1992). Projection neurons of the basolateral amygdala: a correlative Golgi and retrograde tract tracing study. *Brain Res.Bull.* 28, 179-185.
- McDonald,A.J. (1998). Cortical pathways to the mammalian amygdala. *Prog.Neurobiol.* 55, 257-332.
- McDonald,A.J. (2003). Is there an amygdala and how far does it extend? An anatomical perspective. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 985, 1-21.
- McDonald,A.J. and Augustine,J.R. (1993). Localization of GABA-like immunoreactivity in the monkey amygdala. *Neuroscience* 52, 281-294.
- McDonald,A.J. and Mascagni,F. (1997). Projections of the lateral entorhinal cortex to the amygdala: a Phaseolus vulgaris leucoagglutinin study in the rat. *Neuroscience* 77, 445-459.
- McDonald,A.J., Mascagni,F., and Guo,L. (1996). Projections of the medial and lateral prefrontal cortices to the amygdala: a Phaseolus vulgaris leucoagglutinin study in the rat. *Neuroscience* 71, 55-75.
- McGaugh,J.L., Cahill,L., and Roozendaal,B. (1996). Involvement of the amygdala in memory storage: interaction with other brain systems. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 93, 13508-13514.
- McKernan,M.G. and Shinnick-Gallagher,P. (1997). Fear conditioning induces a lasting potentiation of synaptic currents in vitro. *Nature* 390, 607-611.

- Medina,L., Legaz,I., Gonzalez,G., De Castro,F., Rubenstein,J.L., and Puelles,L. (2004). Expression of Dbx1, Neurogenin 2, Semaphorin 5A, Cadherin 8, and Emx1 distinguish ventral and lateral pallial histogenetic divisions in the developing mouse claustramygdaloid complex. *J.Comp Neurol.* 474, 504-523.
- Meldrum,B.S. (2000). Glutamate as a neurotransmitter in the brain: review of physiology and pathology. *J.Nutr.* 130, 1007S-1015S.
- Mikics,E., Toth,M., Varju,P., Gereben,B., Liposits,Z., Ashaber,M., Halasz,J., Barna,I., Farkas,I., and Haller,J. (2008). Lasting changes in social behavior and amygdala function following traumatic experience induced by a single series of foot-shocks. *Psychoneuroendocrinology* 33, 1198-1210.
- Millhouse,O.E. and De Olmos,J. (1983). Neuronal configurations in lateral and basolateral amygdala. *Neuroscience* 10, 1269-1300.
- Milner,B., Squire,L.R., and Kandel,E.R. (1998). Cognitive neuroscience and the study of memory. *Neuron* 20, 445-468.
- Mody,I. (2005). Aspects of the homeostatic plasticity of GABAA receptor-mediated inhibition. *J.Physiol* 562, 37-46.
- Monyer,H., Burnashev,N., Laurie,D.J., Sakmann,B., and Seeburg,P.H. (1994). Developmental and regional expression in the rat brain and functional properties of four NMDA receptors. *Neuron* 12, 529-540.
- Morris,J.S., Frith,C.D., Perrett,D.I., Rowland,D., Young,A.W., Calder,A.J., and Dolan,R.J. (1996). A differential neural response in the human amygdala to fearful and happy facial expressions. *Nature* 383, 812-815.
- Mueller,T. and Albrecht,D. Both NR2A and NR2B subunits of the NMDA receptor are critical for long-term potentiation and long-term depression in the lateral amygdala of horizontal slices of adult mice. *Learn.Mem.* (in press). 2009.
- Mulkey,R.M., Endo,S., Shenolikar,S., and Malenka,R.C. (1994). Involvement of a calcineurin/inhibitor-1 phosphatase cascade in hippocampal long-term depression. *Nature* 369, 486-488.
- Mulkey,R.M., Herron,C.E., and Malenka,R.C. (1993). An essential role for protein phosphatases in hippocampal long-term depression. *Science* 261, 1051-1055.
- Mulkey,R.M. and Malenka,R.C. (1992). Mechanisms underlying induction of homosynaptic long-term depression in area CA1 of the hippocampus. *Neuron* 9, 967-975.
- Muller,J., Corodimas,K.P., Fridel,Z., and LeDoux,J.E. (1997). Functional inactivation of the lateral and basal nuclei of the amygdala by muscimol infusion prevents fear conditioning to an explicit conditioned stimulus and to contextual stimuli. *Behav.Neurosci.* 111, 683-691.

- Nader, K., Majidishad, P., Amorapanth, P., and LeDoux, J.E. (2001). Damage to the lateral and central, but not other, amygdaloid nuclei prevents the acquisition of auditory fear conditioning. *Learn.Mem.* *8*, 156-163.
- Nader, K., Schafe, G.E., and LeDoux, J.E. (2000). Fear memories require protein synthesis in the amygdala for reconsolidation after retrieval. *Nature* *406*, 722-726.
- Neki, A., Ohishi, H., Kaneko, T., Shigemoto, R., Nakanishi, S., and Mizuno, N. (1996). Pre- and postsynaptic localization of a metabotropic glutamate receptor, mGluR2, in the rat brain: an immunohistochemical study with a monoclonal antibody. *Neurosci.Lett.* *202*, 197-200.
- Neugebauer, V., Keele, N.B., and Shinnick-Gallagher, P. (1997). Epileptogenesis in vivo enhances the sensitivity of inhibitory presynaptic metabotropic glutamate receptors in basolateral amygdala neurons in vitro. *J.Neurosci.* *17*, 983-995.
- Neyton, J. and Paoletti, P. (2006). Relating NMDA receptor function to receptor subunit composition: limitations of the pharmacological approach. *J.Neurosci.* *26*, 1331-1333.
- Okabe, S., Collin, C., Auerbach, J.M., Meiri, N., Bengzon, J., Kennedy, M.B., Segal, M., and McKay, R.D. (1998). Hippocampal synaptic plasticity in mice overexpressing an embryonic subunit of the NMDA receptor. *J.Neurosci.* *18*, 4177-4188.
- Otani, S. and Connor, J.A. (1995). Long-term depression of naive synapses in adult hippocampus induced by asynchronous synaptic activity. *J.Neurophysiol.* *73*, 2596-2601.
- Otani, S. and Connor, J.A. (1996). Rapid dendritic Ca²⁺ influx is associated with induction of homosynaptic long-term depression in adult rat hippocampus. *Eur.J.Pharmacol.* *318*, R5-R6.
- Otani, S. and Connor, J.A. (1998). Requirement of rapid Ca²⁺ entry and synaptic activation of metabotropic glutamate receptors for the induction of long-term depression in adult rat hippocampus. *J.Physiol* *511 (Pt 3)*, 761-770.
- Pape, H.C. and Driesang, R.B. (1998). Ionic mechanisms of intrinsic oscillations in neurons of the basolateral amygdaloid complex. *J.Neurophysiol.* *79*, 217-226.
- Pape, H.C., Pare, D., and Driesang, R.B. (1998). Two types of intrinsic oscillations in neurons of the lateral and basolateral nuclei of the amygdala. *J.Neurophysiol.* *79*, 205-216.
- Pare, D. and Gaudreau, H. (1996). Projection cells and interneurons of the lateral and basolateral amygdala: distinct firing patterns and differential relation to theta and delta rhythms in conscious cats. *J.Neurosci.* *16*, 3334-3350.
- Pare, D., Pape, H.C., and Dong, J. (1995a). Bursting and oscillating neurons of the cat basolateral amygdaloid complex in vivo: electrophysiological properties and morphological features. *J.Neurophysiol.* *74*, 1179-1191.

- Pare,D., Quirk,G.J., and LeDoux,J.E. (2004). New vistas on amygdala networks in conditioned fear. *J.Neurophysiol.* 92, 1-9.
- Pare,D. and Smith,Y. (1993). The intercalated cell masses project to the central and medial nuclei of the amygdala in cats. *Neuroscience* 57, 1077-1090.
- Pare,D., Smith,Y., and Pare,J.F. (1995b). Intra-amygdaloid projections of the basolateral and basomedial nuclei in the cat: Phaseolus vulgaris-leucoagglutinin anterograde tracing at the light and electron microscopic level. *Neuroscience* 69, 567-583.
- Park,Y., Jo,J., Isaac,J.T., and Cho,K. (2006). Long-term depression of kainate receptor-mediated synaptic transmission. *Neuron* 49, 95-106.
- Pearce,R.A., Grunder,S.D., and Faucher,L.D. (1995). Different mechanisms for use-dependent depression of two GABAA-mediated IPSCs in rat hippocampus. *J.Physiol* 484 (Pt 2), 425-435.
- Pelletier,J.G. and Pare,D. (2004). Role of amygdala oscillations in the consolidation of emotional memories. *Biol.Psychiatry* 55, 559-562.
- Petralia,R.S., Wang,Y.X., Niedzielski,A.S., and Wenthold,R.J. (1996). The metabotropic glutamate receptors, mGluR2 and mGluR3, show unique postsynaptic, presynaptic and glial localizations. *Neuroscience* 71, 949-976.
- Petrovich,G.D. and Swanson,L.W. (1997). Projections from the lateral part of the central amygdalar nucleus to the postulated fear conditioning circuit. *Brain Res.* 763, 247-254.
- Phillips,R.G. and LeDoux,J.E. (1992). Differential contribution of amygdala and hippocampus to cued and contextual fear conditioning. *Behav.Neurosci.* 106, 274-285.
- Phillips,R.G. and LeDoux,J.E. (1995). Lesions of the fornix but not the entorhinal or perirhinal cortex interfere with contextual fear conditioning. *J.Neurosci.* 15, 5308-5315.
- Pitkanen,A. and Amaral,D.G. (1998). Organization of the intrinsic connections of the monkey amygdaloid complex: projections originating in the lateral nucleus. *J.Comp Neurol.* 398, 431-458.
- Pitkanen,A., Pikkarainen,M., Nurminen,N., and Ylinen,A. (2000). Reciprocal connections between the amygdala and the hippocampal formation, perirhinal cortex, and postrhinal cortex in rat. A review. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 911, 369-391.
- Pitkanen,A., Savander,V., and LeDoux,J.E. (1997). Organization of intra-amygdaloid circuitries in the rat: an emerging framework for understanding functions of the amygdala. *Trends Neurosci.* 20, 517-523.
- Pitkanen,A., Stefanacci,L., Farb,C.R., Go,G.G., LeDoux,J.E., and Amaral,D.G. (1995). Intrinsic connections of the rat amygdaloid complex: projections originating in the lateral nucleus. *J.Comp Neurol.* 356, 288-310.

- Pollandt,S., Drephal,C., and Albrecht,D. (2003). 8-OH-DPAT suppresses the induction of LTP in brain slices of the rat lateral amygdala. *Neuroreport* 14, 895-897.
- Price,J.L., Russchen,F.T., and Amaral,D.G. (1987). The limbic region. In *Handbook of chemical neuroanatomy, Vol 5, Integrated systems of the CNS, Pt I* (Bjorklund A, Hokfelt T, Swanson LW, eds), pp 279-388. Amsterdam: Elsevier..
- Puelles,L., Kuwana,E., Puelles,E., Bulfone,A., Shimamura,K., Keleher,J., Smiga,S., and Rubenstein,J.L. (2000). Pallial and subpallial derivatives in the embryonic chick and mouse telencephalon, traced by the expression of the genes *Dlx-2*, *Emx-1*, *Nkx-2.1*, *Pax-6*, and *Tbr-1*. *J.Comp Neurol.* 424, 409-438.
- Quirk,G.J., Armony,J.L., and LeDoux,J.E. (1997). Fear conditioning enhances different temporal components of tone-evoked spike trains in auditory cortex and lateral amygdala. *Neuron* 19, 613-624.
- Quirk,G.J., Repa,C., and LeDoux,J.E. (1995). Fear conditioning enhances short-latency auditory responses of lateral amygdala neurons: parallel recordings in the freely behaving rat. *Neuron* 15, 1029-1039.
- Rainnie,D.G., Asprodini,E.K., and Shinnick-Gallagher,P. (1993). Intracellular recordings from morphologically identified neurons of the basolateral amygdala. *J.Neurophysiol.* 69, 1350-1362.
- Rainnie,D.G., Bergeron,R., Sajdyk,T.J., Patil,M., Gehlert,D.R., and Shekhar,A. (2004). Corticotrophin releasing factor-induced synaptic plasticity in the amygdala translates stress into emotional disorders. *J.Neurosci.* 24, 3471-3479.
- Rammes,G., Eder,M., Dodt,H.U., Kochs,E., and Zieglgansberger,W. (2001). Long-term depression in the basolateral amygdala of the mouse involves the activation of interneurons. *Neuroscience* 107, 85-97.
- Rammes,G., Steckler,T., Kresse,A., Schutz,G., Zieglgansberger,W., and Lutz,B. (2000). Synaptic plasticity in the basolateral amygdala in transgenic mice expressing dominant-negative cAMP response element-binding protein (CREB) in forebrain. *Eur.J.Neurosci.* 12, 2534-2546.
- Repa,J.C., Muller,J., Apergis,J., Desrochers,T.M., Zhou,Y., and LeDoux,J.E. (2001). Two different lateral amygdala cell populations contribute to the initiation and storage of memory. *Nat.Neurosci.* 4, 724-731.
- Rodrigues,S.M., Farb,C.R., Bauer,E.P., LeDoux,J.E., and Schafe,G.E. (2004). Pavlovian fear conditioning regulates Thr286 autophosphorylation of Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II at lateral amygdala synapses. *J.Neurosci.* 24, 3281-3288.
- Rogan,M.T. and LeDoux,J.E. (1995). LTP is accompanied by commensurate enhancement of auditory-evoked responses in a fear conditioning circuit. *Neuron* 15, 127-136.
- Rogan,M.T., Stäubli,U.V., and LeDoux,J.E. (1997). Fear conditioning induces associative long-term potentiation in the amygdala. *Nature* 390, 604-607.

- Rogan,M.T., Weisskopf,M.G., Huang,Y.Y., Kandel,E.R., and LeDoux,J.E. Long-term potentiation in the amygdala: Implications for memory. 2001. In *Neuronal mechanisms of memory formation*. (ed.C. Hölscher), pp. 58–76. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Rolls,E.T. (1992). Neurophysiological mechanisms underlying face processing within and beyond the temporal cortical visual areas. *Philos.Trans.R.Soc.Lond B Biol.Sci.* 335, 11-20.
- Romanski,L.M., Clugnet,M.C., Bordi,F., and Ledoux,J.E. (1993). Somatosensory and auditory convergence in the lateral nucleus of the amygdala. *Behav.Neurosci.* 107, 444-450.
- Romanski,L.M. and LeDoux,J.E. (1992). Equipotentiality of thalamo-amygdala and thalamo-cortico-amygdala circuits in auditory fear conditioning. *J.Neurosci.* 12, 4501-4509.
- Royer,S. and Pare,D. (2002). Bidirectional synaptic plasticity in intercalated amygdala neurons and the extinction of conditioned fear responses. *Neuroscience* 115, 455-462.
- Sah,P., Faber,E.S., Lopez,d.A., and Power,J. (2003). The amygdaloid complex: anatomy and physiology. *Physiol Rev.* 83, 803-834.
- Sah,P. and Lopez,d.A. (2003). Excitatory synaptic transmission in the lateral and central amygdala. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 985, 67-77.
- Samson,R.D., Dumont,E.C., and Pare,D. (2003). Feedback inhibition defines transverse processing modules in the lateral amygdala. *J.Neurosci.* 23, 1966-1973.
- Samson,R.D. and Pare,D. (2006). A spatially structured network of inhibitory and excitatory connections directs impulse traffic within the lateral amygdala. *Neuroscience* 141, 1599-1609.
- Schafe,G.E. and LeDoux,J.E. (2000). Memory consolidation of auditory pavlovian fear conditioning requires protein synthesis and protein kinase A in the amygdala. *J.Neurosci.* 20, RC96.
- Schubert,M. and Albrecht,D. (2008). Activation of kainate GLU(K5) transmission rescues kindling-induced impairment of LTP in the rat lateral amygdala. *Neuropsychopharmacology* 33, 2524-2535.
- Schubert,M., Drephal,C., and Albrecht,D. (2008). Gender-dependent ATPA-induced changes in long-term potentiation in the rat lateral amygdala. *FASEB J.* 22, 1268-1274.
- Schubert,M., Siegmund,H., Pape,H.C., and Albrecht,D. (2005). Kindling-induced changes in plasticity of the rat amygdala and hippocampus. *Learn.Mem.* 12, 520-526.
- Shi,C.J. and Cassell,M.D. (1999). Perirhinal cortex projections to the amygdaloid complex and hippocampal formation in the rat. *J.Comp Neurol.* 406, 299-328.

- Shigemoto,R., Kinoshita,A., Wada,E., Nomura,S., Ohishi,H., Takada,M., Flor,P.J., Neki,A., Abe,T., Nakanishi,S., and Mizuno,N. (1997). Differential presynaptic localization of metabotropic glutamate receptor subtypes in the rat hippocampus. *J.Neurosci.* *17*, 7503-7522.
- Siebert,M., Markowitsch,H.J., and Bartel,P. (2003). Amygdala, affect and cognition: evidence from 10 patients with Urbach-Wiethe disease. *Brain* *126*, 2627-2637.
- Smith,B.N. and Dudek,F.E. (1996). Amino acid-mediated regulation of spontaneous synaptic activity patterns in the rat basolateral amygdala. *J.Neurophysiol.* *76*, 1958-1967.
- Smith,M.L., Glass,G.V., and Miller,T.J. The benefits of psychotherapy. 1980. Baltimore: J. Hopkins Univ. Press.
- Smith,Y. and Pare,D. (1994). Intra-amygdaloid projections of the lateral nucleus in the cat: PHA-L anterograde labeling combined with postembedding GABA and glutamate immunocytochemistry. *J.Comp Neurol.* *342*, 232-248.
- Smith,Y., Pare,J.F., and Pare,D. (2000). Differential innervation of parvalbumin-immunoreactive interneurons of the basolateral amygdaloid complex by cortical and intrinsic inputs. *J.Comp Neurol.* *416*, 496-508.
- Sosulina,L., Meis,S., Seifert,G., Steinhauser,C., and Pape,H.C. (2006). Classification of projection neurons and interneurons in the rat lateral amygdala based upon cluster analysis. *Mol.Cell Neurosci.* *33*, 57-67.
- Stäubli,U. and Chun,D. (1996). Factors regulating the reversibility of long-term potentiation. *J.Neurosci.* *16*, 853-860.
- Swanson,L.W. and Petrovich,G.D. (1998). What is the amygdala? *Trends Neurosci.* *21*, 323-331.
- Szinyei,C., Heinbockel,T., Montagne,J., and Pape,H.C. (2000). Putative cortical and thalamic inputs elicit convergent excitation in a population of GABAergic interneurons of the lateral amygdala. *J.Neurosci.* *20*, 8909-8915.
- Tchekalarova,J. and Albrecht,D. (2007). Angiotensin II suppresses long-term depression in the lateral amygdala of mice via L-type calcium channels. *Neurosci.Lett.* *415*, 68-72.
- Turner,B.H. and Herkenham,M. (1991). Thalamoamygdaloid projections in the rat: a test of the amygdala's role in sensory processing. *J.Comp Neurol.* *313*, 295-325.
- van Groen,T. and Wyss,J.M. (1990). Extrinsic projections from area CA1 of the rat hippocampus: olfactory, cortical, subcortical, and bilateral hippocampal formation projections. *J.Comp Neurol.* *302*, 515-528.
- Vazdarjanova,A. and McGaugh,J.L. (1999). Basolateral amygdala is involved in modulating consolidation of memory for classical fear conditioning. *J.Neurosci.* *19*, 6615-6622.

- von Bohlen und Halbach,O. and Albrecht,D. (1998). Tracing of axonal connectivities in a combined slice preparation of rat brains--a study by rhodamine-dextran-amine-application in the lateral nucleus of the amygdala. *J.Neurosci.Methods* 81, 169-175.
- von Bohlen und Halbach,O. and Albrecht,D. (2002). Reciprocal connections of the hippocampal area CA1, the lateral nucleus of the amygdala and cortical areas in a combined horizontal slice preparation. *Neurosci.Res.* 44, 91-100.
- Voronin,L.L., Rossokhin,A.V., and Sokolov,M.V. (1999). Intracellular studies of the interaction between paired-pulse facilitation and the delayed phase of long-term potentiation in the hippocampus. *Neurosci.Behav.Physiol* 29, 347-354.
- Wagner,J.J. and Alger,B.E. (1995). GABAergic and developmental influences on homosynaptic LTD and depotentiation in rat hippocampus. *J.Neurosci.* 15, 1577-1586.
- Walker,D.L. and Davis,M. (2002). The role of amygdala glutamate receptors in fear learning, fear-potentiated startle, and extinction. *Pharmacol.Biochem.Behav.* 71, 379-392.
- Walther,T., Albrecht,D., Becker,M., Schubert,M., Kouznetsova,E., Wiesner,B., Maul,B., Schliebs,R., Grecksch,G., Furkert,J., Sterner-Kock,A., Schultheiss,H.P., Becker,A., and Siems,W.E. (2009). Improved learning and memory in aged mice deficient in amyloid beta-degrading neutral endopeptidase. *PLoS.One.* 4, e4590.
- Wang J.O., Limin Mao, Nikhil K.Parelkar, Qingsong Tang, Zhenguo Liu, Shazia Sarwar, and Eun Sang Choe (2003). Glutamate-regulated Behavior, Transmitter Release, Gene Expression and Addictive Plasticity in the Striatum: Roles of Metabotropic Glutamate Receptors. *Current Neuropharmacology*.
- Wang,S.J. and Gean,P.W. (1999). Long-term depression of excitatory synaptic transmission in the rat amygdala. *J.Neurosci.* 19, 10656-10663.
- Washburn,M.S. and Moises,H.C. (1992). Electrophysiological and morphological properties of rat basolateral amygdaloid neurons in vitro. *J.Neurosci.* 12, 4066-4079.
- Watson,J.B. and Rayner,R. (1920). Conditioned emotional reactions. *Journal of Experimental Psychology* 3, 1, pp. 1-14..
- Weiss,S.R., Li,X.L., Rosen,J.B., Li,H., Heynen,T., and Post,R.M. (1995). Quenching: inhibition of development and expression of amygdala kindled seizures with low frequency stimulation. *Neuroreport* 6, 2171-2176.
- Weisskopf,M.G., Bauer,E.P., and LeDoux,J.E. (1999). L-type voltage-gated calcium channels mediate NMDA-independent associative long-term potentiation at thalamic input synapses to the amygdala. *J.Neurosci.* 19, 10512-10519.
- Weisskopf,M.G. and LeDoux,J.E. (1999). Distinct populations of NMDA receptors at subcortical and cortical inputs to principal cells of the lateral amygdala. *J.Neurophysiol.* 81, 930-934.

- Wilensky,A.E., Schafe,G.E., and LeDoux,J.E. (1999). Functional inactivation of the amygdala before but not after auditory fear conditioning prevents memory formation. *J.Neurosci.* *19*, RC48.
- Wilensky,A.E., Schafe,G.E., and LeDoux,J.E. (2000). The amygdala modulates memory consolidation of fear-motivated inhibitory avoidance learning but not classical fear conditioning. *J.Neurosci.* *20*, 7059-7066.
- Woodson,W., Farb,C.R., and Ledoux,J.E. (2000). Afferents from the auditory thalamus synapse on inhibitory interneurons in the lateral nucleus of the amygdala. *Synapse* *38*, 124-137.
- Wyllie,D.J., Manabe,T., and Nicoll,R.A. (1994). A rise in postsynaptic Ca²⁺ potentiates miniature excitatory postsynaptic currents and AMPA responses in hippocampal neurons. *Neuron* *12*, 127-138.
- Yu,S.Y., Wu,D.C., Liu,L., Ge,Y., and Wang,Y.T. (2008). Role of AMPA receptor trafficking in NMDA receptor-dependent synaptic plasticity in the rat lateral amygdala. *J.Neurochem.* *106*, 889-899.
- Zamani,M.R., Desmond,N.L., and Levy,W.B. (2000). Estradiol modulates long-term synaptic depression in female rat hippocampus. *J.Neurophysiol.* *84*, 1800-1808.
- Zhang,D.X. and Levy,W.B. (1993). Bicuculline permits the induction of long-term depression by heterosynaptic, translaminar conditioning in the hippocampal dentate gyrus. *Brain Res.* *613*, 309-312.
- Zhu,Y., Pak,D., Qin,Y., McCormack,S.G., Kim,M.J., Baumgart,J.P., Velamoor,V., Auberson,Y.P., Osten,P., van Aelst,L., Sheng,M., and Zhu,J.J. (2005). Rap2-JNK removes synaptic AMPA receptors during depotentiation. *Neuron* *46*, 905-916.
- Ziakopoulos,Z., Tillet,C.W., Brown,M.W., and Bashir,Z.I. (1999). Input-and layer-dependent synaptic plasticity in the rat perirhinal cortex in vitro. *Neuroscience* *92*, 459-472.

7. Anhang

7.1. Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
ACSF	artificial cerebrospinal fluid, künstliche Cerebrospinalflüssigkeit
AMPA	α -Amino-3-hydroxy-5-methyl-isoxazolpropionacid
AMPA	AMPA-Rezeptor
AP	Aktionspotenzial
APV	2-Amino-5-phosphonovaleriat
BCM	Bienenstock, Cooper and Munro Theorie
BLA	Basolateraler Kern der Amygdala
bzw.	beziehungsweise
CA 1	Region im Hippocampus
ca.	circa
cAMP	zyklisches Adenosinmonophosphat
CB1	cannabinoid receptor type 1
CE	zentraler Kern der Amygdala
CPPG	(RS)- α -Cyclopropyl-4-phosphonophenylglycin
CRF	corticotrophe releasing factor
CS	conditioned stimulus, bedingter Reiz
d. h.	das heißt
EC	Externen Kapsel
Ent	Entorhinaler Kortex
EPSP	Excitatory Postsynaptic Potential, exzitatorisches postsynaptisches Potenzial
et al.	et alii, und andere
fEPSP	field excitatory postsynaptic potential
GABA	Gamma-amino-butteracid
GLU _{K5}	ionotroper Glutamatrezeptor 5, Kainatrezeptor
HFS	high frequency stimulation, Hochfrequenzstimulation
Hipp	Hippocampus
I/O	Input/Output
I/V	Intensitäts-Spannungskurve (intrazelluläre Messung)
IN	intranukleäre in der lateralen Amygdala
IPSCs	inhibitory postsynaptic potentials, inhibitorische postsynaptische Potenziale
ITC	intercalated cell masses, interkalierte (zwischenlagerte) Zellmassen
LA	Lateraler Kern der Amygdala
LA-LTD	LTD in der lateralen Amygdala
LFS	low frequency stimulation, Niederfrequenzstimulation
LTD	long-term depression, Langzeitdepression
LTP	long-term potentiation, Langzeitpotenzierung
mA	Milliampere
μ A	Mikroampere

μM	Mikromol
MCCG	2S,1S',2S'-2-Methyl-2-(2'carboxycyclopropyl)glycin
mEPSCs	Miniatur-exzitatorische postsynaptische Ströme
mGluRs	metabotrope Glutamatrezeptoren
min	Minuten
mM	Millimol
ms	Millisekunden
mV	Millivolt
n	Anzahl (n)
NMDA	N-methyl-D-aspartat
NMDAR	NMDA-Rezeptor
NR	NMDA-Rezeptoruntereinheit
pA	Picoampere
PPD	paired pulse depression
PPF	paired pulse facilitation, Paired-Pulse-Fazilitierung
Prh	perirhinaler Kortex
PTX	Picrotoxin
STP	short-term plasticity, Kurzzeitplastizität
Tab.	Tabelle
TBS	theta burst stimulation
TPS	theta puls stimulation, Theta-Puls-Stimulation
TRPV1	transient receptor potential cation channel, subfamily V, member 1 (Capsaicin-Rezeptor)
US	unconditioned stimulus, unconditionierter Reiz
vs.	versus, verglichen mit
z. B.	zum Beispiel

7.2. Publikationen

- Albrecht, D.; Drephal, C. and Kaschel, T. (2002). Intraamygdaloid-induced long-term potentiation and long-term depression in the lateral nucleus of the amygdala are NMDA-dependent. *Abstr. Neurosci. Soc.* 648.15
- Kaschel, T. and Albrecht, D. (2002). NMDA – Dependent Long-Term-Depression (LTD) in the lateral Amygdala. *Berlin Neuroscience Forum 2002*. poster 46, Abstract Book p. 90.
- Kaschel, T., Schubert, M., & Albrecht, D. (2004). Long-term depression in horizontal slices of the rat lateral amygdala. *Synapse* 53, 141-150.
- Schubert, M., Kaschel, T. and Albrecht, D. (2003). The amygdala is not the hippocampus. Proc. of the 5th Meeting of the German Neuroscience Society, 29th Göttingen Neurobiology Conference. N. Elsner and H. Zimmermann (eds.), *Georg-Thieme Verlag, Stuttgart, New York*, p. 673.

7.3. Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre an Eidesstatt, die vorliegende Dissertation selbstständig und ohne unzulässige Hilfe Dritter verfasst sowie die benutzte Literatur und Hilfsmittel vollständig erwähnt zu haben. Die vorliegende Studie ist bisher von keiner anderen Fakultät abgelehnt worden und stellt auch in Teilen keine Kopie anderer Arbeiten dar. Sofern fremde Abbildungen zur Illustration verwendet wurden, ist dies als Quelle und im Literaturverzeichnis angegeben.

Gartz/Oder, den 01.02.2010

Tobias Kaschel

7.4. Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektrischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

7.5. Danksagung

Ich möchte mich bei meiner Doktormutter Frau PD Dr. Albrecht bedanken. Sie hat mich mit ihrer Geduld und ihrem Engagement an dieses Thema herangeführt und motiviert, diese Doktorarbeit durchzuführen und zu beenden.

Weiterhin möchte ich Herrn Dr. Gabriel für die technische Unterstützung und den MTA's der Arbeitsgruppe, Herrn R. Schneider und Frau K. Berlin für die zuverlässige Vorbereitung der Arbeitsmittel danken.

Mein Dank gilt auch Herrn Dr. H. Siegmund für die Programmierung der Signal – Scriptfiles, ohne die die Auswertung der Messdaten schwierig geworden wäre.

Ich danke meiner Lebensgefährtin und meinem Sohn, meinen Eltern und Schwiegereltern, die mir mit ihrer Geduld und Unterstützung immer zur Seite standen und damit zur Fertigstellung dieser Arbeit wesentlich beigetragen haben.