

4 Diskussion

Im Rahmen dieser Arbeit wurden neue Ergebnisse zur Plastizität, insbesondere zur Bedeutung von GABA_A-Rezeptoren und Kainat-GluR5-Rezeptoren durch Reizung intranukleärer Afferenzen des lateralen Kerns der Amygdala (LA) im horizontalen Hirnschnitt von adulten Ratten erarbeitet. Es konnte demonstriert werden, daß in der lateralen Amygdala sowohl Feldpotentiale als auch synaptische Potentiale von Neuronen durch Manipulationen wie die Implantation einer Elektrode, Kindling, Pilocarpin oder Alkoholentzug in charakteristischer Weise beeinflusst wurden.

4.1 Eigenschaften des verwendeten horizontalen Hirnschnittpräparates

Natürlich kann aufgrund der hier verwendeten Hirnschnittmethode nicht von rein physiologischen Bedingungen, wie sie beim sich frei verhaltenden Tier vorliegen, ausgegangen werden. Je nach Schnittebene werden verschiedene Afferenzen durchtrennt und andere bleiben erhalten. In unserem Labor konnte gezeigt werden, daß in der horizontalen Schnittebene sowohl die internukleären (von Bohlen und Halbach and Albrecht, 1998b) als auch die Verbindungen des lateralen Kerns der Amygdala (LA) zum perirhinalen und entorhinalen Kortex sowie dem Hippocampus intakt bleiben (von Bohlen und Halbach and Albrecht, 2002). Daraus resultierte, daß in dieser Arbeit im Unterschied zum coronalen Hirnschnittpräparat, in welchem vor allem kortikale bzw. thalamische Afferenzen zum lateralen Kern stimuliert werden, bei intranukleärer Stimulation (Reizung im LA) zusätzlich Afferenzen von anderen amygdalären Kernen wie der zentralen, basalen und medialen Amygdala erfaßt werden. Der Nachteil dieses nicht klar definierten Einganges zu den Neuronen der lateralen Amygdala bei intranukleärer Stimulation wurde dadurch minimiert. Demgegenüber bietet die Reizung der externen Kapsel, die vor allem kortikale Afferenzen zur Amygdala enthält, die Möglichkeit des Vergleiches zu LTP-Studien im coronalen Schnittpräparat. Allerdings ist zu berücksichtigen, daß Reizung der externen

Kapsel in coronalen Schnitten bevorzugt Afferenzen vom sensorischen Kortex involviert, währenddessen im horizontalen Schnitt vor allem die Afferenzen vom entorhinalen Kortex betroffen sind. Die Induktion der amygdalären LTP konnte praktisch in allen verfügbaren Schnitten ohne pharmakologische Intervention gut reproduziert werden. Bietet der coronale Schnitt die Möglichkeit der gleichzeitigen Untersuchung der Bedeutung thalamischer und kortikaler Eingänge in die Amygdala (Li et al., 1996), welche insbesondere relevant für die Mechanismen der Angstkonditionierung sind (Rogan et al., 1997), hat der horizontale Schnitt den Vorteil, gerade in der Epilepsieforschung Berücksichtigung zu finden (Stoop and Pralong, 2000; Klueva et al., 2003), da die Verbindungen zum Hippocampus und entorhinalen Kortex erhalten bleiben.

Samson und Kollegen (2003) konnte in einer Studie zeigen, daß in coronalen und horizontalen Schnitten nicht nur unterschiedliche Afferenzen gereizt werden, sondern auch wesentliche Unterschiede in der Verschaltung bestehen. Sie fanden heraus, daß bei Reizung des basomedialen Kerns und der Ableitung im lateralen Kern der Amygdala die EPSPs in den horizontalen Schnitten bedingt durch eine geringere Aktivierung GABAerger Interneurone im Vergleich zur coronalen Ebene größer waren. Zusätzlich zeigten sie, daß die hemmenden Interneurone zum größten Teil in ventrodorsaler Richtung liegen und in der rostrocaudalen Orientierung weniger stark vertreten sind (Samson et al., 2003). Daraufhin wurde spekuliert, daß die noch weitgehend unbekannt Grundstruktur der Amygdala aus senkrecht zueinander stehenden Modulen aufgebaut sein könnte, d.h. der Anteil erregender Einflüsse würde in der horizontalen Schnittebene entsprechend größer sein als in der coronalen. Unter Berücksichtigung dieses Ergebnisses wird verständlich, weshalb in der meist gewählten coronalen Ebene die Langzeitpotenzierung zum Beispiel bei Reizung der externen Kapsel häufig nur unter dem Einwaschen von GABA_A-Antagonisten wie Picrotoxin oder Bicucullin induziert werden konnte (Tsvetkov et al., 2002; Watanabe et al., 1995), während dies unter den hier vorgestellten Arbeitsbedingungen, sowohl bei intranukleärer als auch bei kortikaler Reizung und in der Arbeit von Chapman et al. (1990) nicht notwendig war. Die Bevorzugung der intranukleären Reizung ergab sich auch aus den Ergebnissen der LTD-Studien an jungen Tieren in unserer Arbeitsgruppe. Sie zeigten, daß bei Reizung der externen Kapsel keine LTD im LA induzierbar war (Kaschel et al., 2004). Auch im coronalen Schnittpräparat ließ sich keine amygdaläre LTD im lateralen Kern auslösen, wenn die externe Kapsel gereizt wurde (Heinböckel et al., 2000). Die Unterschiede in I/O-Kurven, PPF und LTP

zwischen Wistar- und Lister-hooded Ratten sind eher auf die Stimulation unterschiedlicher Afferenzen zurückzuführen als auf Differenzen in den Rattenstämmen, da sich in jungen Wistarratten gleiche Unterschiede in Abhängigkeit von der genutzten Afferenz in einem Tierstamm nachweisen ließ (Drephal, 2005). Die Dissertation von Christian Drephal konnte auch zeigen, daß in Abhängigkeit von der stimulierten Afferenz (intranukleär vs. externe Kapsel) an der Induktion der LTP im LA verschiedene Mechanismen beteiligt sind. Während die intranukleär induzierte LTP komplett durch APV in der lateralen Amygdala blockierbar war, konnte bei Reizung der externen Kapsel zusätzlich eine Beteiligung von spannungsabhängigen Kalziumkanälen nachgewiesen werden (Drephal, 2005).

4.2 Langzeitpotenzierung in der Amygdala und Lateralisierung

In unserer Studie konnte eine stabile Hochfrequenzstimulus-induzierte LTP von ~ 60% in naiven, unbehandelten, adulten, männlichen Ratten des Stammes Wistar durch intranukleäre Reizung bzw. durch Reizung der externen Kapsel in Lister-hooded Ratten in der lateralen Amygdala induziert werden. Ähnliche Ergebnisse wurden auch bei jungen Wistarratten (8 Wochen) in horizontalen Schnitten bei intranukleärer Reizposition erzielt (von Bohlen und Halbach and Albrecht, 1998a). Somit scheint bei hochfrequenter Reizung zumindest für die untersuchte Altersgruppe keine altersabhängige Beeinträchtigung der LTP-Induktion vorzuliegen wie sie in Vorversuchen zu den Kindlingexperimenten bei Verwendung einer Thetaburststimulation (TBS) in dieser Altersgruppe beobachtet wurde.

Unter TBS konnte nur in wenigen Fällen eine stabile amygdaläre LTP intranukleär induziert werden (Albrecht, unveröffentlichte Daten). Eine solch dominante Abhängigkeit vom Versuchstieralter wurde auch für die TBS-induzierte CA1-LTP beschrieben (Moore et al., 1993). Aufgrund dieser Daten wurde auf die Verwendung von TBS in dieser Arbeit verzichtet, obwohl die TBS-induzierte LTP zumindest im Hippocampus besser mit Verhaltensdaten korrelieren soll (Hölscher, 2001).

In beiden Rattenstämmen bewirkte die tetanische Reizung unabhängig vom Reizort in der rechten Hemisphäre des LA eine stärkere LTP als in der linken, d.h. es wurde eine Lateralisierung plastischer Prozesse in unbehandelten Tieren beobachtet. Eine solche Lateralisierung ist von verschiedenen Studien in den letzten Jahren auf neuronaler (z.B. hemisphärenabhängige Dominanz negativer und positiver Emotionen) und

Verhaltensebene (z.B. Händigkeit) beschrieben worden. Als Ursache einer Lateralisation werden vor allem neurochemische Verteilungsdifferenzen der Neurotransmitter, Rezeptoren und ihrer Subtypen diskutiert.

Bei der Betrachtung von Furcht oder Angstverhalten sind Dopamin und Serotonin zwei sehr wichtige Neurotransmitter, da der Grad oder die Manifestation der Angst durch die Asymmetrie von Serotonin (Rezeptor $5HT_2$, $5HT_3$, $5HT_2/5HT_3$) (Deckel and Fuqua, 1998; Andersen and Teicher, 1999) und Dopamin (Rezeptor D1, D2, D1/D2) (Thiel and Schwarting, 2001) im frontalen Kortex und der Amygdala mitbestimmt werden. Sowohl für Serotonin als auch für Dopamin sind bedeutend höhere Konzentrationen in der rechten Hemisphäre von Ratten im Vergleich zur linken gefunden worden (Arato et al., 1991; Deckel and Fuqua, 1998; Thiel and Schwarting, 2001). Diese Befunde stützen die Hypothese, daß die Mandelkernkomplexe beider Hemisphären unterschiedliche Aufgaben erfüllen (Perry et al., 2001; Zald, 2003; Baas et al., 2004). Da sowohl erfahrungsabhängige Plastizität des Gehirns als auch LTP von der monoaminergen Transmission abhängig sind (Brocher et al., 1992; Gu and Singer, 1995), könnten Hemisphärendifferenzen bezüglich der unterschiedlichen Stärke der LTP auf die oben beschriebenen Unterschiede zurückzuführen sein.

Neben den Monoaminen spielen auch Neurotransmitter wie Glutamat und GABA eine entscheidende Rolle bei der Angstkonditionierung wie auch bei LTP-Induktion (Miserendino et al., 1990; McKernan and Shinnick-Gallagher, 1997; Rogan et al., 1997; Weisskopf et al., 2002; Shinnick-Gallagher et al., 2003). Obwohl für die Amygdala keine Daten hinsichtlich einer asymmetrischen Verteilung von Untereinheiten des NMDA-Rezeptors vorliegen, konnte eine solche Asymmetrie für die NR2B-Untereinheit im Hippocampus gezeigt werden (Kawakami et al., 2003). Dies ist sehr interessant, da wir nachweisen konnten, daß die amygdaläre LTP im lateralen Kern unter unseren Versuchsbedingungen NMDA-abhängig ist (Albrecht et al., 2002), so daß Verteilungsunterschiede der einzelnen NMDA-Untereinheiten für die unterschiedliche Stärke der LTP in linker und rechter Hemisphäre ebenfalls verantwortlich sein könnten. Ausgehend von einer asymmetrischen Verteilung der Monoamine scheint interessant, daß wir in unserem Labor zeigen konnten, daß Serotonin über $5-HT_{1A}$ -Rezeptoren die GABAerge Hemmung in der Amygdala beeinflusst (Stein et al., 2000). Diese unterschiedlich ausgeprägte intranukleär induzierte LTP im LA des nicht implantierten Tieres, war nach partieller Blockade des $GABA_A$ Rezeptors mit dem Antagonisten SR95531 durch die linksseitige Verstärkung der lateralen Amygdala-LTP nicht mehr nachweisbar. Daraus könnte abgeleitet werden, daß in der linken Hemisphäre eine

geringere GABA_A-Rezeptordichte im LA vorliegen könnte oder Neuromodulatoren, welche die GABAerge Transmission beeinflussen, asymmetrisch verteilt sind. Äquivalente Daten zum Verlust der Lateralisation wurden auch unter dem spezifischen Kainatrezeptoragonisten, ATPA für nicht implantierte Wistarratten ermittelt. Diese Daten stützen eher eine biochemische Asymmetrie des Rattengehirns als unterschiedliche Neuronenzahlen in der rechten und linken Hemisphäre, welche bei extrazellulären Ableitungen auch Ursache für Modifikationen in der LTP sein könnten.

Es konnte erstmalig gezeigt werden, daß die Aktivierung der GluR5-Rezeptoruntereinheit durch ATPA bei adulten, nicht-implantierten, männlichen Wistarratten eine Reduktion der intranukleär induzierten LTP verursacht. ATPA reduzierte auch die LTP im LA in 8 Wochen alten Ratten (Drephal and Albrecht, 2003). Diese LTP-Depression war vor allem im Vergleich zum unbehandelten Hirnschnitt in der rechten Hemisphäre signifikant unterschiedlich. Ausgehend von den Daten aus der Literatur kann diese Depression bei männlichen Tieren sowohl prä- als auch postsynaptisch vermittelt werden. Eine verstärkte GABA-Ausschüttung durch postsynaptische Stimulation der GABAergen Interneurone, eine verminderte Glutamatfreisetzung oder eine vermehrte GABA-Freisetzung durch präsynaptische GluR5-Kanäle bei Diffusion („*Glutamat-Spillover*“) von aktivierten Synapsen der Nachbarschaft wären prinzipiell möglich. Würden GluR5 nur postsynaptisch an den Projektionsneuronen lokalisiert sein, müßte eine Aktivierung durch ATPA eine Vergrößerung der Feldpotentialamplitude und der Langzeitpotenzierung verursachen. Da wir sowohl eine Verringerung der Feldpotentialamplitude und eine Reduzierung der synaptischen Potentiale während des Einwaschens von ATPA in dieser Studie feststellten, als auch eine Verschlechterung der Input/Outputkurve unter ATPA in den intrazellulären Ableitungen, erscheint eine ausschließlich postsynaptische Aktivierung der Projektionsneurone durch GluR5 bei niederfrequenter Reizung (0,1 Hz), wie sie zur Bestimmung der basalen Transmission verwendet wurde, daher unwahrscheinlich. Braga et al. (2003) haben gezeigt, daß niedrige Konzentrationen, wie sie hier verwendet wurden, zu einer verstärkten GABA-Freisetzung führt, welches die ATPA-vermittelte Hemmung der LTP erklären könnte.

Die Hemisphärenunterschiede werden aber nicht allein durch eine asymmetrische Verteilung der Transmitter und Rezeptoren, sondern auch durch gesammelte Erfahrungen, Alter, Geschlecht und Tierstamm der Versuchstiere bestimmt. Aus der Literatur ist bekannt, daß Neuigkeitsreize im neonatalen Alter, bzw. erfahrungsabhängige Plastizität von Ratten in der CA1 Region des rechten

Hippocampus die LTP verstärken. Korrelativ führten solche Neuigkeitseindrücke bzw. erfahrungsabhängige Plastizität zu Modulationen der hippocampalen volumetrischen Asymmetrie (Verstynen et al., 2001).

4.3 Einfluß der linksseitigen BLA-Elektrodenimplantation auf die LTP in der lateralen Amygdala

Obwohl die Wirkungen von Läsionen, die sich aus der Kindlingelektrodenimplantation ergeben, im allgemeinen als minimal betrachtet werden, haben dennoch einige Berichte anhaltende neurochemische, histologische und Verhaltensänderungen als Antwort auf solche Implantationen gezeigt (Löscher et al., 1995). Auch in der hier vorliegenden Studie zeigten sich Veränderungen durch Implantation. Die Implantation in den linken basolateralen Kern der Amygdala (BLA) führte zu einer signifikanten Verschlechterung der amygdalären LTP im lateralen Kern in der rechten Hemisphäre. Daraus resultierte der Verlust der Hemisphärendifferenz. Die durch die Implantation ausgelösten neurochemischen Prozesse könnten über laterale Hemmung oder „*spreading depression*“ auf die andere Hemisphäre übergreifen. Die partielle Blockade des GABA_A-Rezeptors verursachte in den Hirnschnitten der linken Hemisphäre von implantierten Wistarratten keinen so starken Anstieg des LTP-Wertes im LA (Anstieg ~ 8 %) wie er bei den nicht implantierten Tieren (Anstieg ~ 26 %) beobachtet wurde. Demgegenüber wurde in den implantierten Tieren in der rechten Hemisphäre unter SR95531 ein Anstieg der LTP um etwa 15 % gemessen im Vergleich zum nicht implantierten Tier von etwa 9 %. Dieses Ergebnis weist darauf hin, daß die linksseitige Kindlingelektrodenimplantation in den BLA zu einer Veränderung des GABAergen System der betroffenen Hemisphäre führen könnte, indem möglicherweise die Implantation eine Hochregulierung der GABAergen Rezeptoren verursacht. Allerdings fanden Löscher et al. (1999) eine verminderte GABA-Akkumulation in der Amygdala nach langandauernder Elektrodenimplantation. In Übereinstimmung mit unseren Daten stehen Befunde, die nach Elektrodenimplantation in den Bulbus olfactorius gefunden wurden (Ben Attia et al., 1992). Die Autoren konnten zeigen, daß es nach Implantation der Elektrode in den Bulbus olfactorius zu einer Hochregulierung von Benzodiazepinrezeptoren im Bulbus olfactorius und ipsilateral im Hippocampus kommt. Diese und die von uns beobachteten Veränderungen wären als adaptive Antwort des Gehirns auf die verursachten Mikroläsionen zu werten.

Interessanterweise führte im Unterschied zur ATPA-vermittelten Reduktion der LTP in den nicht implantierten Tieren die Applikation des GluR5-Agonisten zu einer LTP-Fazilitierung im LA in den implantierten Tieren.

Möglicherweise führen die durch die Implantation verursachten neurochemischen Prozesse zu einer Veränderung der Rezeptorenanzahl, so daß die geringe ATPA-Konzentration nun postsynaptisch einen erregenden Einfluß haben könnte.

Diese Fazilitierung der LTP durch ATPA in der lateralen Amygdala war hemisphärenindifferent. Auch hier zeigt sich, daß die Verwendung von implantierten, nicht stimulierten Kontrolltieren eine wichtige Voraussetzung ist, um den Kindlingeffekt richtig beurteilen zu können.

4.4 Einfluß des Kindlings 48 Stunden nach dem letzten Anfall auf die LTP in der lateralen Amygdala

Es existieren nur wenige Studien, welche sich mit LTP-Änderungen beschäftigen, die in Folge einer Kindlingprozedur entstehen. Befunde aus der Literatur zu Veränderungen der LTP in der Amygdala nach Kindling sind mir nicht bekannt. Allerdings konnte für den Hippocampus eine Reduzierung der LTP nach Kindling gezeigt werden (Anwyl et al., 1987; Leung and Wu, 2003). Diese Daten konnten wir für die CA1-Region bestätigen (Schubert and Albrecht, 2003). An humanem hippocampalen Gewebe konnte ebenfalls eine LTP-Reduktion nachgewiesen werden, wenn der Patient an Epilepsie erkrankt war (Beck et al., 2000). Hinsichtlich der Amygdala gibt es eine Studie von Wang und Gean (1999), in der gezeigt werden konnte, daß in BLA-gekindelten männlichen Sprague-Dawley Ratten die Langzeitdepression im BLA nicht mehr auslösbar war.

Wir konnten erstmalig nachweisen, daß es in der lateralen Amygdala infolge der BLA-Kindlingprozedur zu einer Verschlechterung der LTP kommt. Die Verschlechterung war davon abhängig, wieviele Anfälle das Tier hatte, d.h. die K7-Tiere wiesen eine signifikant größere amygdaläre LTP auf als die K15-Tiere. Ähnlich wie nach Elektrodenimplantation war nach BLA-Kindling kein Hemisphärenunterschied mehr nachweisbar.

Allerdings verursachte die teilweise Blockierung des GABA_A-Rezeptors mit dem spezifischen Antagonisten SR95531 eine deutliche Lateralisierung in der K7-Gruppe. Die ipsilaterale Hemisphäre (Ort der Elektrodenimplantation) zeigte eine Fazilitierung

der LTP (Anstieg um 15 %) im LA unter SR95531, wohingegen in der rechten Hemisphäre eine geringfügige Depression der amygdalären LTP (-11 %) zu beobachten war. Damit wurde nach Kindling unter SR95531 eine Umkehr der Lateralisierung festgestellt. Geht man davon aus, daß durch die Kindlingprozedur vor allem ein Zelltod ipsilateral induziert wird (von Bohlen und Halbach et al., 2004) und GABAerge Neurone eher betroffen sind als Pyramidenzellen (Löscher and Schwark, 1987), könnte man annehmen, daß die verwendeten geringen Antagonistenkonzentration eher eine Fazilitierung der LTP auf der ipsilateralen Hemisphäre verursachen sollte, da SR95531 aufgrund der geringeren Zahl der Interneurone im linken lateralen Kern der Amygdala der gekindelten Tiere wirksamer sein könnte als in der rechten Hemisphäre. Betrachtet man die Ergebnisse beider Hemisphären zusammen, dann verursachte SR95531 in den extrazellulären Ableitungen langfristig keine signifikante Veränderung der LTP in der lateralen Amygdala von gekindelten Tieren. Somit konnte durch die Beeinflussung der GABAergen Transmission die BLA-Kindling-induzierte Reduktion der amygdalären LTP im lateralen Kern nicht aufgehoben werden. In den intrazellulären Ableitungen wurde in den gekindelten Tieren nach HFS keine LTP beobachtet. Ursache könnte eine veränderte Leitfähigkeit sein, die die beobachteten reduzierten Eingangswiderstände und die reduzierten AP-Amplituden erklären würde. Es würden somit postsynaptisch weniger Aktionspotentiale entstehen und eine LTP würde nicht mehr induziert werden können. Hierfür spricht, daß in den Kindlingtieren die Erregbarkeit erhöht war und durch SR95531 zusätzlich verstärkt wurde. Zusammengefaßt läßt sich vermuten, daß ein Zellverlust an GABAergen Interneuronen für Unterschiede der SR95531-Wirkung zwischen nicht implantierten und gekindelten Tieren verantwortlich zu machen ist. Die Daten zeigten unter SR95531 eine stärkere Fazilitierung der LTP in nicht implantierten Tieren als in den gekindelten Tieren. Aus der Literatur ist bekannt, daß gekindelte Sprague-Dawley Ratten im BLA reduzierte IPSPs aufwiesen (Rainnie et al., 1992). Allerdings bursteten in dieser Studie viele basolaterale Amygdala-Neurone als Zeichen generell erhöhter Erregbarkeit, was ich in den Ableitungen mit der scharfen Mikroelektrode in den von mir gekindelten Wistarratten nicht beobachten konnte. GABA_A-Rezeptorveränderungen scheinen an den Kindling-induzierten Veränderungen der LTP in der lateralen Amygdala nicht maßgeblich beteiligt zu sein, da zumindest nach hippocampalem Kindling 24 Stunden nach dem letzten Anfall die mRNS für verschiedene Untereinheiten des GABA-Rezeptors in Hippocampus, Amygdala, entorhinalem und frontoparietalem Kortex nicht verändert waren (Lee et al., 1994).

Jedoch wurde in den gleichen Strukturen nach hippocampalem Kindling eine Reduktion der AMPA/Kainat mRNS (22-58%) 24 Stunden nach dem letzten Anfall festgestellt (Lee et al., 1994), welches für die Erklärung der Kindling-induzierten Hemmung der LTP im LA eine Rolle spielen könnte.

Die Arbeiten der Gruppe Rogawski zeigen, daß GluR5-Kainatrezeptoren eine bedeutsame Rolle beim Auslösen epileptiformer Aktivität in der Amygdala spielen und an langfristigen Plastizitätsmechanismen teilnehmen (Rogawski et al., 2001; Rogawski et al., 2003). In diesen Studien wird die Bedeutung einer hochfrequenten Stimulation für die Aktivierung der GluR5 hervorgehoben. In der hier vorgestellten Studie führte die Applikation des spezifischen GluR5 Agonisten ATPA in K7- Wistarratten 48 Stunden nach dem letzten Anfall zu einer sehr ausgeprägten Verbesserung der Hochfrequenzreiz-induzierten amygdalären LTP im lateralen Kern in beiden Hemisphären. Diese Verbesserung zeigte ebenfalls wie unter teilweiser GABA_A Blockade eine Umkehrung der Hemisphärenlateralisation. ATPA führte in der linken stimulierten Hemisphäre zu einer besonders starken Fazilitierung der LTP im LA, dieser LTP-Wert lag über dem LTP-Wert der naiven, nicht implantierten Kontrollgruppe in der lateralen Amygdala und entsprach dem LTP-Wert unter GABA_A Blockade dieser Kontrollgruppe. Auch in den Schnitten der rechten Hemisphäre von K7-Tieren wurde eine deutliche Verbesserung der LTP unter dem GluR5 Agonisten im LA ermittelt, diese LTP entsprach dem amygdalären LTP Wert der nicht implantierten Wistarratten ohne GABA_A Blockade. Die intrazellulär erfaßten Daten korrelieren sehr gut mit den extrazellulär erfaßten Daten. Somit kann festgestellt werden, daß die schwächere LTP im lateralen Kern in den gekindelten Tieren nicht alleinig auf Zellverluste zurückzuführen ist, da sie auch pharmakologische beeinflussbar ist. Dieses Ergebnis läßt eine postsynaptische Hochregulation der GluR5-tragenden Kainatkanäle an Projektionsneuronen des LA unter pathologischen Bedingungen vermuten, deren Aktivierung an eine tetanische Stimulation gebunden zu sein scheint. Eine Hochregulation von Kainatrezeptoren wurde für den Hippocampus von Amygdalagekindelten Tieren nachgewiesen (Hikiji et al., 1993). Der Einfluß der Kainatrezeptoren ist in der Amygdala bislang nur unzureichend erforscht worden. Die bisher durchgeführten Studien, darunter auch die vorliegende Arbeit, deuten sowohl auf eine prä- (Braga et al., 2003) als auch auf eine postsynaptische Lokalisation dieser Rezeptoren hin (Li et al., 2001; Rogawski et al., 2001).

4.5 Einfluß der Implantation und des elektrischen Kindling der BLA auf LTD und Reversal in der lateralen Amygdala

Während zahlreiche LTP-Studien in der Literatur zum LA existieren, gibt es nur zwei Arbeiten, die zeigen, daß im LA auch Langzeitdepression (LTD) auslösbar ist (Heinböckel and Pape, 2000; Kaschel et al., 2004). In der hier vorgestellten Studie führte, in Übereinstimmung mit unseren früheren Untersuchungen an unbehandelten jüngeren Wistarratten (Kaschel et al., 2004), die niederfrequente Thetapulsstimulation (TPS) intranukleärer Afferenzen des LA in nicht implantierten und implantierten adulten männlichen Wistarratten zu einer langfristigen Depression der synaptischen Transmission. LTD ließ sich auch bei TPS thalamischer Afferenzen im coronalen Schnittpräparat induzieren (Heinböckel and Pape, 2000), während TPS kortikaler Afferenzen wirkungslos war (Heinböckel and Pape, 2000). Eine andere niederfrequente Reizung (LFS; 900x1 Hz) führte im BLA von BLA-gekündelten Tieren weder zu einer LTD noch zu einer LTP (Wang and Gean, 1999). In unseren Experimenten verursachte die intranukleäre Thetapulsstimulation wie auch die intranukleäre niederfrequente Reizung (LFS) demgegenüber eine Potenzierung der synaptischen Transmission in BLA-gekündelten Tieren. Man kann vermuten, daß aufgrund der Epileptogenese, welche durch die Kindlingprozedur verursacht wurde, TPS und LFS im Sinne einer Metaplastizität einen höheren intrazellulären Kalziumspiegel bewirken und somit die Schwelle in Richtung LTP verschieben. Damit in Übereinstimmung steht die erhöhte synaptische basale Transmission, welche bei Kindlingtieren ermittelt wurde. Es ist bekannt, daß LFS durch ihre hyperpolarisierende Wirkung die Epileptogenese verzögern kann (Velisek et al., 2002). Ich zeige hier, daß normalerweise LTD-auslösende Reize durch Kindling zu einem LTP-Stimulus werden. Kirkwood und Bear (1994) postulierten die Idee einer dualen Schwelle für die synaptische Plastizität. In diesem Sinne sind LTP und LTD mit unterschiedlichen Graden synaptischer Aktivität assoziiert. Es wurde auch vermutet, daß die Schwelle, die Richtung und die Stärke der synaptischen Änderung durch vorhergehende synaptische Aktivität moduliert wird. Dafür hat Abraham und Bear (1996) den Begriff „Metaplastizität“ verwendet. Unsere Arbeitsgruppe konnten in früheren Untersuchungen schon zeigen (Kaschel et al., 2004), daß eine Niederfrequenzreizung (LFS), welche der Applikation einer hochfrequenten Reizung (2x100 Hz) vorangeht, eine starke Fazilitierung der Hochfrequenzstimulus-induzierten LTP im LA hervorruft, d.h. die mit diesem Paradigma LFS/HFS induzierte LTP war wesentlich größer als die

amygdaläre LTP, welche in naiven Tieren mittels HFS induziert werden konnte. Die hier vorgestellten Ergebnisse zeigen, daß die Schwelle für LTP/LTD durch die Kindlingprozedur verschoben werden kann entsprechend dem Modell von Bienenstock, Cooper und Munro (1982). Während LFS intranukleärer Afferenzen in allen Ableitungen unseres Labor an jüngeren adulten Wistarratten eine LTD induzierte (Kaschel et al., 2004), verursachte LFS kortikaler Afferenzen im BLA von Sprague-Dawley Ratten eine LTP, die durch GluR5 Rezeptoren vermittelt wurde (Li et al., 2001). Aufgrund der starken Abhängigkeit der plastischen Änderungen von der „Vorgeschichte“ des Neurons, Reizparadigma und Afferentierung halten wir die Schlußfolgerung von Chapman (2001) nicht für gerechtfertigt, daß grundlegende Mechanismen der Plastizität in der Amygdala andere sind als im Hippocampus, die er aufgrund der Daten von Li et al. (2001) postulierte. Nachgewiesen ist bisher nur eine andere Dichte der GluR5- Rezeptoren in Amygdala und Hippocampus. Ähnlich wie in unseren früheren Untersuchungen in jüngeren Tieren bei Verwendung der niederfrequenten Stimulation (LFS) (Kaschel et al., 2004), verursachte die HFS 25 min nach Induktion der Thetapulsstimulus induzierten LTD nicht nur ein Auslöschen der LTD (Reversal), sondern eine LTP. Dieser Effekt war reproduzierbar. Daraus resultiert, daß die vorangehende Aktivität die Induktion einer LTP beeinflussen kann. Ähnliche Befunde konnten im BLA erhoben werden (Li et al., 1998; Aroniadou-Anderjaska et al., 2001). Diese Autoren zeigten, daß eine Potenzierung der Afferenzen zum BLA die Auslösung einer LFS induzierten LTD erleichterten. Im Unterschied zum nicht implantierten Tier, konnte nach Elektrodenimplantation der zweite Thetapulsstimulus keine deutliche LTD mehr auslösen, so daß die Elektrodenimplantation selbst, wie vorher für die Induktion der LTP diskutiert, die plastischen Prozesse beeinflusst. Demgegenüber verursachten die der Thetapulsstimulation (TPS) zeitlich folgenden hochfrequenten Reizung in beiden Fällen nicht nur ein Auslöschen der LTD, sondern eine signifikante LTP. Während die der TPS nachfolgende hochfrequente Reizung in den implantierten Tieren die Thetapulsstimulus-induzierte LTD komplett auslöschte und in eine Potenzierung umwandelte, verstärkte der nachfolgende HFS in den gekindelten Tieren die durch Thetapulsstimulus induzierte LTP. Während der zweite TPS nach LTP-Induktion in den implantierten Tieren keine LTD mehr auslöste, führte der zweite TPS in den gekindelten Tieren nun zu einer schwachen Depression, welche durch einen erneuten Hochfrequenzstimulus zum Reversal führte, so daß die Ausgangswerte, welche nach der ersten hochfrequenten Reizung beobachtet wurden, wieder erreicht wurden. Die der zweiten TPS zeitlich vorangestellte HFS führte

demzufolge durch „Priming“ zur Induktion einer LTD, die bei der ersten TPS in den Kindlingtieren nicht festgestellt werden konnte. In den implantierten Tieren wurde dagegen eine weitere Steigerung der LTP nach HFS beobachtet. Diese Differenzen zwischen implantierten und gekindelten Tieren sind als LTP-Sättigungsunterschiede zu interpretieren und bedürfen weitergehender Untersuchungen. Zumindest wird aus diesen Untersuchungen klar, daß die „Vorgeschichte“ des Neurons, in unserem Falle das Kindling, nicht nur die LTP reduzierte, sondern auch die Auslösung einer LTD erschwerte. Die unterschiedliche Beeinflussung der Induktion einer LTP oder LTD in Abhängigkeit von der „Vorgeschichte“ des Neurons ist vermutlich auf die unterschiedlichen Mechanismen, welche an der Induktion der LTP/LTD beteiligt sind, zurückzuführen. Wir konnten zeigen, daß die HFS-induzierte amygdaläre LTP im lateralen Kern wie auch die LFS-induzierte LTD von NMDA-Rezeptoren abhängig ist (Albrecht et al., 2002; Kaschel et al., 2004). An der Generierung einer LTD im LA sind auch metabotrope Glutamatrezeptoren involviert (Heinböckel and Pape, 2000; Kaschel et al., 2004). Außerdem scheinen präsynaptische Mechanismen an der Induktion einer LTD in der lateralen Amygdala zumindest für die LFS-induzierte LTD beteiligt zu sein (Kaschel et al., 2004). Aus der Literatur ist bekannt, daß neben NMDA-Rezeptoren auch die glutamatergen mGluR durch Kindling verändert werden können (Akbar et al., 1996; Holmes et al., 1996; Neugebauer et al., 1997a; Neugebauer et al., 1997b; Friedl et al., 1999; Neugebauer et al., 2000; Nagaraja et al., 2004).

4.6 Die basale synaptische Übertragung und das Paired-Pulse-Verhalten

Die basale synaptische Transmission in der lateralen Amygdala wird, wie unsere Arbeitsgruppe schon in einer früheren Untersuchung zeigen konnte (Pollandt et al., 2003), auch im horizontalen Schnittpräparat im wesentlichen durch AMPA- und Kainatrezeptoren vermittelt. Damit stimmen unsere Daten mit denen überein, die im coronalen Schnittpräparat erhoben wurden, (Rainnie et al., 1991a; Gean and Chang, 1992; Li et al., 1996). Meine Ergebnisse, welche zeigen, daß ATPA die basale Transmission im implantierten Tier und im gekindelten Tier beeinflussen kann und somit die GluR5 auch an basaler Transmission beteiligt ist, bestätigt frühere Arbeiten aus der Gruppe Rogawski (Li and Rogawski, 1998).

In früheren Untersuchungen konnten wir mit 1 μ M ATPA an jungen Tieren ebenfalls eine Reduktion der basalen Transmission im LA feststellen (Drephal and Albrecht, 2003). Eine Reduzierung der basalen Transmission durch ATPA wurde mit gleichen Konzentrationen auch in der CA1 Region des Hippocampus gefunden (Vignes et al., 1998). Li et al. (2001) zeigten für den coronalen Schnitt, daß die von uns verwendeten niedrigen ATPA- Konzentrationen in der Amygdala die basale synaptische Transmission reduzieren, während hohe ATPA-Konzentrationen diese verstärken. Eine Konzentrationsabhängigkeit der Wirkung von ATPA ist auch vom Hippocampus bekannt (Malva et al., 2003). Geringe Agonistenkonzentrationen potenzieren und hohe Agonistenkonzentrationen hemmen die Freisetzung von GABA (Jiang et al., 2001). In diesem Zusammenhang sind die Ergebnisse von Braga et al. (2003) interessant, die in der basolateralen Amygdala erhoben wurden. Die Autoren konnten zeigen, daß geringe ATPA-Konzentrationen (1 μ M) die Frequenz der mIPSPs erhöhen, während hohe Konzentrationen (10 μ M) deren Frequenz reduzieren (Braga et al., 2003). Die präsynaptische Fazilitierung bzw. die Depression der GABAergen Transmission durch ATPA oder Glutamat war dabei nicht an die Aktivierung von L-Typ-Kalziumkanälen gekoppelt. Eine verstärkte Freisetzung von GABA bei niedrigen ATPA-Konzentrationen würde die von mir beobachtete Reduzierung der basalen synaptischen Transmission erklären. Ursächlich scheint dieser Effekt durch präsynaptisch lokalisierte GluR5-tragende Kanäle an GABAergen Interneuronen vermittelt zu werden (Braga et al., 2003).

Unter physiologischen Bedingungen könnte im Rahmen des „*Glutamat-Spillover*“, also einer Erhöhung der Umgebungskonzentration von Glutamat, bzw. durch starke synchrone Aktivität glutamaterger Synapsen, eine tonische Aktivierung der präsynaptischen GluR5-Einheiten erfolgen (Braga et al., 2003). Leichte Anstiege von Glutamat würden demnach eine Hemmung vermitteln, während besonders große Erhöhungen zu vermehrter Aktivität führen würden. Hinweise auf präsynaptische Mechanismen der ATPA-Wirkung fand ich zumindest in den extrazellulären Ableitungen der gekindelten Tiere. Die PPF wurde unter ATPA verbessert, so daß eine verminderte GABA-Freisetzung zu vermuten wäre. *In-vivo* könnte die durch geringe ATPA- bzw. Glutamatkonzentrationen vermittelte Hemmung eine Schutzfunktion vor emotional unbedeutenden externen und internen Reizen bedeuten. Im Gegensatz dazu könnten emotional signifikante Stimuli wie akute Bedrohung, Angst oder Schmerz eine starke Erregung in der Amygdala auslösen und durch Diffusion hoher

Glutamatkonzentration in die Nachbarschaft die GABAerge Hemmung auf diese Weise reduzieren (Braga et al., 2003).

In Übereinstimmung mit der extrazellulär erfaßten verringerten basalen Transmission in allen Tiergruppen konnte auch intrazellulär durch ATPA eine Absenkung der Input/Outputkurve in diesen Tieren erfaßt werden. Die Änderung des Eingangswiderstandes unter ATPA stützt die Vermutung, daß ATPA postsynaptisch wirkt. Ich konnte eine Reduktion des Eingangswiderstandes unter 2 μM ATPA im nicht implantierten und implantierten Tier feststellen. Braga et al. (2003), welche in erster Linie präsynaptische ATPA-Effekte beschreiben, konnten im BLA mit 1 μM ATPA keine Veränderungen des Eingangswiderstandes feststellen, wohingegen 10 μM ATPA ebenfalls zu einer Reduzierung des Eingangswiderstandes führte. Inwieweit die fehlende Beeinflussung des Paired-Pulse-Verhaltens durch ATPA in meinen intrazellulären Untersuchungen einen präsynaptischen Effekt wirklich ausschließt, muß in weiterführenden Untersuchungen durch Messung der mIPSP geklärt werden.

Wie schon in der Einleitung beschrieben worden ist, liegt im Unterschied zum Hippocampus und hier insbesondere zur CA3 Region, in der Amygdala eine höhere Dichte von GluR5 vor (Bettler et al., 1990; Li et al., 2001; Braga et al., 2003). Während die LTP in der CA3-Region des Hippocampus an GluR6-Knock-out-Mäusen (*GluR6*^{-/-}) signifikant reduziert ist, zeigen GluR5-Knock-out-Mäuse (*GluR5*^{-/-}) im Vergleich zum Wildtyp keine Veränderungen in der CA3-LTP (Contractor et al., 2001).

In Übereinstimmung mit der Literatur konnte im Unterschied zur Reduktion der LTP in den extrazellulären Ableitungen eine erhöhte Erregbarkeit in den gekindelten Tieren festgestellt werden. Als Ursachen einer erhöhten Erregbarkeit nach Kindling werden im LA neben Verringerung der hemmenden Mechanismen auch Veränderungen in der glutamatergen Transmission diskutiert (Rainnie et al., 1992). An der Vermittlung dieser erhöhten Erregbarkeit sind nach unseren Untersuchungen die GluR5 nicht beteiligt. Es wurde beschrieben, daß Kindling die Amplituden von NMDA- und non-NMDA-Rezeptor-vermittelten EPSPs vergrößert und die Schwelle der Aktionspotential-generierung in Sprague-Dawley Ratten herabsetzt (Rainnie et al., 1992). Demgegenüber konnte aber auch gezeigt werden, daß man fünf Tage nach Kurzzeitkindling zwar in der ipsilateralen Amygdala eine Erhöhung der Anzahl von NMDA und AMPA Rezeptoren fand, jedoch nicht in der contralateralen Amygdala (Cincotta et al., 1991).

Wie in der Einleitung beschrieben wurde, ist die durch Kindling ausgelöste Epileptogenese auch vom verwendeten Rattenstamm abhängig. Während in Sprague-

Dawley Ratten durch BLA-Kindling die Gesamtzahl der Neurone in der Amygdala nicht signifikant verändert war (Tuunanen and Pitkänen, 2000), konnten unsere Arbeitsgruppe sowohl ipsi- als auch contralateral einen deutlichen Zellverlust in Wistarratten bestimmen (von Bohlen und Halbach et al., 2004). Somit kann man vermuten, daß unter unseren Versuchsbedingungen die durch Kindling ausgelöste Vergrößerung der Exzitabilität schwächer ausgeprägt ist als in Sprague-Dawley Ratten und somit nur in den extrazellulären, nicht aber in den intrazellulären Ableitungen nachweisbar war. Es ist anzumerken, daß im Unterschied zu der Studie von Rainnie et al. (1992) andere Autoren keine signifikant erhöhte Erregbarkeit in Neuronen des BLA nach Kindling (intrazelluläre Ableitungen) finden konnten (Mangan et al., 2000).

Ausgehend von der Zellcharakterisierung wurden in unserer intrazellulären Studie wahrscheinlich ausschließlich die Aktivität von Projektionsneuronen in der lateralen Amygdala abgeleitet, da entsprechend der Kriterien der Charakterisierung von GABAergen Interneuronen (Szinyei et al., 2000; Bauer and LeDoux, 2004) in der lateralen Amygdala solche Zellen („fast spiking“, nicht akkommodierend) von mir nicht erfaßt werden konnten. Da der Anteil von GABAergen Interneuronen in der lateralen Amygdala nur 25% beträgt (McDonald and Augustine, 1993) und die GABAergen Interneurone ein kleineres Soma aufweisen, ist die Wahrscheinlichkeit geringer, GABAerge Neurone zu penetrieren und ihre Aktivität abzuleiten.

In Übereinstimmung mit den Daten aus der Literatur (Rainnie et al., 1992; Shoji et al., 1998) wurden die meisten Parameter der Zellen der lateralen Amygdala (z.B. Membranpotential, Zeitkonstante, Schwelle, AP-Dauer, Strom-Spannungskurve) durch Kindling nicht signifikant beeinflusst. Allerdings war die AP-Amplitude in den gekindelten Tieren in unseren Untersuchungen signifikant verringert, was auf Kindling-induzierte Veränderungen des Natriumkanals hinweisen könnte, da die Nachhyperpolarisation nach Kindling nicht beeinflusst zu sein scheint (Asproдини et al., 1992). Der Eingangswiderstand der Neurone war in den gekindelten Tieren im Unterschied zu den Daten von Rainnie et al. (1992) und Neugebauer et al. (2000) signifikant verringert. Diese Unterschiede könnten aus den unterschiedlichen Rattenstämmen resultieren, welche von mir und den zitierten Autoren verwendet wurden.

Es ist bekannt, daß die durch Kindling-induzierte NMDA-Aktivierung die GABA-vermittelte Hemmung herabsetzen soll und somit die Anfallsentwicklung vorantreiben könnte (Morimoto, 1989). Ich konnte bei den von mir verwendeten niedrigen Konzentrationen von SR95531 keine Veränderungen in der synaptischen Transmission und im Paired-Pulse-Verhalten in den nicht implantierten Wistarratten ermitteln,

währenddessen eine erhöhte Exzitabilität unter SR95531 nach Kindling festgestellt werden konnte. Die geringe Konzentration war bewußt gewählt worden, um epileptische Entladungen zu vermeiden. Aus der Literatur ist bekannt, daß 0,1 μM SR95531 etwa 25 % der GABA_A -Transmission blockiert (Jones et al., 1998). Geht man von einem durch Kindling induzierten Zellverlust vor allem der GABA ergen Interneurone aus, dann könnte SR95531 in den gekindelten Tieren eine größere Wirksamkeit entfalten, wodurch die Anhebung der Input/Outputkurve unter SR95531 in den gekindelten Tieren erklärbar wäre. In Übereinstimmung mit meinen Messungen ist aus anderen Hirnstrukturen bekannt, daß SR95531, Picrotoxin oder Bicucullin den Eingangswiderstand der Neurone erhöht (Paladini and Tepper, 1999; Scuvee-Moreau et al., 2002).

Die Kindlingelektrodenimplantation zeigte bei hemisphärenspezifischer Betrachtung keine Veränderung der synaptischen Transmission und des PP-Verhaltens unter dem GABA_A Antagonisten SR95531 in der linken Hemisphäre. In den gekindelten Tieren dagegen wurde durch SR95531 die PPF links verschlechtert.

Die intrazellulären Daten zeigten eine hemisphärenunspezifische Verschlechterung der PPF unter SR95531 im K7-Schnittpräparat. Bei postsynaptischer Lokalisation der GABA_A - Rezeptoren wäre zumindest für die kurzen Reizintervalle eine Verbesserung der PPF unter SR95531 zu erwarten. Die gewonnenen Daten stützen die Hypothese über den Einbau von präsynaptischen GABA_A Rezeptoren bedingt durch die Kindlingprozedur, welches adaptiv die erhöhte Exzitabilität nach Kindling reduzieren könnten, und so die Neurone vor zu hoher intrazellulärer Kalziumkonzentration schützt und somit Apoptose reduziert. Eine präsynaptische Lokalisation von GABA_A -Rezeptoren ist bisher allerdings nur für den Hippocampus beschrieben worden (Ruiz et al., 2003).

Generell konnten die Messungen dieser Arbeit die Ergebnisse anderer Studien bestätigen, die das Paired-Pulse-Verhalten in der Amygdala untersucht haben (Zinebi et al., 2001; Zinebi et al., 2002) . Mittlere Reizabstände erzeugten eine Paired-Pulse-Fazilitierung (Zinebi et al., 2001) und lange eine GABA_B -vermittelte Paired-Pulse-Depression (Zinebi et al., 2002). Das Maximum der Fazilitierung lag unter den hier vorgestellten Messbedingungen bei 30-50 ms und bestätigt somit die Befunde von Zinebi et al. (2001) an thalamoamygalären Synapsen. Damit scheinen bei diesem Interstimulusintervall die präsynaptische Kalziumkonzentration und daraus folgend auch die Transmitterfreisetzung maximal zu sein.

4.7 Pilocarpin

Während die Kindlingtiere 48h nach dem letzten Anfall untersucht wurden, lagen die letzten spontanen Anfälle in den Pilocarpin-behandelten Tieren mehrere Tage bis Wochen zurück. Nichtsdestoweniger wurde auch in dieser Tiergruppe eine im Vergleich zur Kontrollgruppe reduzierte LTP im LA gemessen. Somit scheint die Depression der LTP nach Kindling kein akuter Effekt, sondern ein Effekt der neurochemischen und neurohistologischen Epileptogenese zu sein. Die Ergebnisse zeigten auch, daß die beiden verwendeten Epileptiemodelle, obwohl sie z.T. auf unterschiedlichen Mechanismen zu beruhen scheinen, eine veränderte Plastizität des Gehirns verursachen. Im Unterschied zum Kindlingmodell konnte keine LTP Verbesserung in der lateralen Amygdala unter dem spezifischen GluR5 Agonisten ATPA beobachtet werden, obwohl Smolders et al. (2002) durch den spezifischen GluR5-Rezeptorantagonisten Pilocarpin-induzierte Anfälle unterdrücken konnte. Es ist zu vermuten, daß die durch Pilocarpin-verursachten Zellverluste (Mello et al., 1993; Mello and Covolan, 1996) so massiv sind, daß die Stimulation der GluR5 mit der von mir verwendeten ATPA Konzentration von 2 µM nicht ausreichte, die Plastizitätsdefizite zu kompensieren. Andererseits ist nicht vollständig auszuschließen, daß die ATPA-induzierte Verbesserung der LTP in den elektrisch gekindelten Tieren ein kurzfristiger Effekt ist, der sich 4 Wochen nach dem letzten Anfall nicht mehr nachweisen läßt. Um diese Frage zu klären, sind weitere Untersuchungen notwendig.

4.8 Alkoholentzug

Während unsere Ergebnisse einerseits in Übereinstimmung mit einer Studie im Hippocampus (Roberto et al., 2002) keine signifikanten Veränderungen in Erregbarkeit und PP-Verhalten in der lateralen Amygdala durch einmaligen oder mehrmaligen Alkoholentzug zeigten, führte andererseits Alkoholentzug zu einer Depression der amygdalären LTP. Der Grad der Reduzierung der amygdalären LTP war für einmaligen oder mehrmaligen Entzug nicht signifikant unterschiedlich. Die Lateralisation der Hemisphären in den Lister-hooded Ratten konnte nur durch mehrmaligen Alkoholentzug aufgehoben werden, wobei hier in der rechten Hemisphäre die Verringerung der LTP größer als in der linken war. In der CA1-Region des Hippocampus fanden wir eine signifikant stärkere Verringerung der CA1-LTP nach mehrmaligem Entzug im Vergleich zum einmaligen Entzug (Stephens et al., 2004).

Eine reduzierte hippocampale LTP nach Alkoholentzug wurde bis zu 7 Monate nach Entzug beschrieben (Peris et al., 1997a). Bei direkter Alkoholwirkung (30 mM) wurde im Hippocampus nur in sehr jungen Ratten ebenfalls eine Depression der LTP gefunden, während bei 12 Wochen alten Tieren die CA1-LTP nicht signifikant verändert war (Pyapali et al., 1999). Ähnliche Ergebnisse wurden in der Amygdala bei direkter Alkoholgabe gefunden.

In 6-8 Wochen alten Mäusen bewirkte Alkoholgabe eine Depression der LTP im dorsolateralen Kern der Stria terminalis, welche durch Veränderungen der GABAergen und der glutamatergen Transmission zustande kam (Weitlauf et al., 2004). Diese akute Wirkung von Alkohol auf die GABAerge Transmission ließ sich sowohl prä- als auch postsynaptisch an Neuronen der zentralen Amygdala nachweisen (Roberto et al., 2003). Basolateral amygdalär induzierte LTP im Gyrus dentatus, welche nicht NMDA-abhängig ist, wurde durch Alkohol ebenfalls hemmend beeinflusst (Abe et al., 2004). Als Ursache diskutieren die Autoren eine Alkohol-induzierte Verstärkung der GABAergen Transmission, da PicROTOXIN, ein GABA_A-Rezeptorantagonist, die Alkohol-induzierte LTP-Unterdrückung blockierte. Obwohl es viele Studien zur direkten Wirkung des Alkohols auf die glutamaterge und GABAerge Transmission gibt, existieren nur wenige Untersuchungen, die sich mit den neurochemischen und elektrophysiologischen Veränderungen nach Alkoholentzug beschäftigen. LTP in der CA1 Region, welche durch HFS induziert wurde, konnte nach Entzug (Roberto et al., 2002) ähnlich unterdrückt werden wie wir das für Thetaburststimulus-induzierte CA1-LTP zeigen konnten (Stephens et al., 2004). Prendergast et al. (2004) fanden, daß der Entzug nach einer 10-tägigen Alkoholgabe bei Ratten durch Aktivierung des Netzwerkes in der CA1 Region und der Akkumulation von intrazellulärem Kalzium zur Neurodegeneration im Hippocampus führt. Daraus resultiert, daß ich bei der Interpretation meiner Daten ähnlich wie beim Kindling nicht nur mit neurochemischen Alterationen (Esteban et al., 2002; Olive et al., 2002) zu rechnen haben, sondern auch möglicherweise mit morphologischen Änderungen bis hin zum Zellverlust.

Sanna et al. (2003) konnten zeigen, daß Änderungen der GABA_A-Rezeptor-Genexpressierung im Hippocampus nicht nur bei direkter Alkoholeinwirkung zu beobachten ist, sondern auch noch nach Entzug. Nach chronischer Alkoholbehandlung wurde auch eine höhere Dichte für 3H-Bicucullin-Bindungen nachgewiesen (Peris et al., 1997b). Eine verstärkte GABA-Freisetzung, bedingt durch Alkoholentzug, könnte der Depression der LTP in der lateralen Amygdala zugrundeliegen. Tremwel et al. (1994) zeigten, daß die Applikation von Bicucullin, einem GABA_A-

Rezeptorantagonisten, die nach Alkoholentzug beobachtete Reduzierung der LTP blockieren konnte. Generell wird dem GABAergen System für Plastizitätsveränderungen nach Alkoholentzug eine größere Bedeutung zugeordnet als Veränderungen des glutamatergen Systems (Peris et al., 1997b). Die Veränderungen des glutamatergen Systems verursachen vor allem die bei Alkoholabhängigkeit erhöhte Erregbarkeit der Neurone, welche durch die Krampfanfälle neurotoxisch wirken. Da in unseren Versuchen, welche zwei bis sechs Wochen nach dem finalen Entzug durchgeführt wurden, die Input/Outputkurve nach Entzug nicht verändert war, ist unter meinen Versuchsbedingungen eher mit Veränderungen der GABAergen Transmission zu rechnen. Die akuten Folgen eines Entzuges, welche neben dem Anstieg der glutamatergen Transmission mit verstärkter Angst korrelieren (De Witte et al., 2003), sind zu dem Zeitpunkt meiner Untersuchungen vermutlich nicht mehr meßbar. Die in dem Experiment beobachtete Unterdrückung der amygdalären LTP nach Alkoholentzug könnte die elektrophysiologische Basis für die in den gleichen Tieren beobachtete erschwerte Ausbildung von Assoziationen zwischen neutralen (Ton) und aversiven (Fußschock-) Reizen sein (Stephens et al., 2004).

4.9 Ausblick

Die hier dargestellten Ergebnisse belegen, daß sehr unterschiedlich ausgelöste Modifikationen der plastischen Prozesse des Gehirns, die letztendlich auf der Basis einer induzierten Epileptogenese, welche durch Epilepsiemodelle oder Alkoholentzug verursacht wurden, in einer Depression der LTP in der Amygdala münden. Die zugrundeliegenden neurochemischen und morphologischen Prozesse, die im Rahmen dieser Arbeit nur zum Teil aufgeklärt werden konnten, liefern eine solide Grundlage für die in der Literatur beschriebenen Verhaltensänderungen, welche durch Kindling, Pilocarpin oder Alkoholentzug ausgelöst wurden. Damit stützen die hier beschriebenen Ergebnisse die Hypothese, daß LTP-ähnliche Mechanismen bei Lern- und Gedächtnisprozessen eine Rolle spielen. Während es zur Rolle des Hippocampus inzwischen eine Fülle von Daten zum räumlichen Lernen und zu den Veränderungen gibt, welche durch verschiedene Epilepsiemodelle ausgelöst werden, zeigen unsere Ergebnisse erstmalig, inwieweit LTP in der Amygdala verändert wird und welche Mechanismen involviert sind. Es konnte erstmalig gezeigt werden, daß die Plastizität in der Amygdala auch nach Kindling und Pilocarpin beeinflusst wird und daß die Reduktion

der amygdalären LTP im lateralen Kern durch Modifikationen glutamaterger Prozesse zu erklären ist. Damit ergeben sich nicht nur neue Möglichkeiten zur Interpretation von Verhaltensänderungen, sondern auch die Möglichkeit einer gezielten pharmakologischen Intervention.