

1 Einleitung

1.1 Oszillationen im Cortex

Die erste physiologische Messung oszillatorischer Aktivität im Gehirn erfolgte im Jahr 1923, als H. Berger Elektroden auf der Kopfhaut seines Sohnes plazierte und rhythmische 10 Hz Wellen registrierte (Berger, 1929). Seither, mit der fortschreitenden Entwicklung neurophysiologischer Meßmethoden, wurden corticale Oszillationen unterschiedlicher Frequenzen entdeckt. Zur Beschreibung dieser Oszillationen etablierte sich eine in Frequenzbänder eingeteilte Nomenklatur: *delta* 1-4 Hz, *theta* 4-8 Hz, *alpha* 8-14 Hz, *beta* 14-30 Hz und *gamma* 30-50 Hz. Die vorkommenden Frequenzbänder, das oszillatorische Aktivitätsmuster und die Topographie dieser Oszillationen hängen vom Verhalten, insbesondere vom Wachheitsgrad ab (Steriade et al., 1993). Dabei unterscheidet man hauptsächlich zwischen drei Zuständen: tiefer Schlaf, REM-Schlaf¹ und wacher Zustand. Während des tiefen Schlafes treten langsame Oszillationen von großer Amplitude auf², die sich synchron über weite corticale Bereiche erstrecken. Während des REM-Schlafes und des wachen Zustandes dagegen werden schnelle Oszillationen kleinerer Amplitude generiert (*beta*- und *gamma* Frequenzband, charakteristische Frequenz um 40 Hz). Die Impulse zur Aktivierung bestimmter oszillatorischer Aktivitäten werden von Kernstrukturen im Hirnstamm und im basalen Vorderhirn³ direkt oder über die Zwischenstation Thalamus zum Cortex gesendet (Steriade, 1996), (Barth, MacDonald, 1996). Der isolierte Neocortex besitzt die erforderlichen Netzwerkeigenschaften, um rhythmische Aktivitäten zu generieren (corticale Oszillationen *in vitro*, siehe unten, Seite 6).

Von den unterschiedlichen Frequenzbändern gewannen insbesondere Oszillationen im *gamma*-Frequenzbereich in der Erforschung corticaler Wahrnehmungs-

¹ aus dem englischen *rapid eye movement*, während des Schlafs auftretende Phasen gesteigerter Gehirnaktivität, die mit schnellen Augenbewegungen und Träumen assoziiert sind.

² sehr langsame Oszillationen <1 Hz, *delta*-Wellen und spindelförmige Wellen 7-14 Hz

³ u.a. von zahlreichen cholinergen Kernen, dem noradrenergen *locus coeruleus*, den serotonergen *raphe* Kernen und der *formatio reticularis*, einer netzartig verbundenen Kerngebietsstruktur des Hirnstamms mit vorwiegend cholinergen Zellen

Mechanismen an Bedeutung. *Gamma*-Oszillationen wurden im visuellen Cortex der Katze in den Aktivitäten von Zellgruppen und Feldpotentialen als Antwort auf die Präsentation eines Lichtreizes entdeckt (Gray, Singer, 1989), (Gray et al., 1989) (Abb. 1-1). Durch Veränderung der Stimuluseigenschaften (z.B. Richtung und Orientierung) kann die Amplitude dieser *gamma*-Oszillationen moduliert werden. Eine maximale oszillatorische Antwort wird erzeugt, indem der Stimulus bezüglich der rezeptiven Feldeigenschaften der Zellen optimal konfiguriert wird. *Gamma*-Oszillationen können innerhalb einer corticalen Säule entlang des Schichtenprofils (Steriade et al., 1996), zwischen benachbarten corticalen Säulen (Gray et al., 1989) und auch über weitere Distanzen, sogar zwischen Hemisphären auf der Basis reziproker corticocorticaler Verbindungen, synchronisiert sein (Engel et al., 1991), (Engel et al., 1991b).

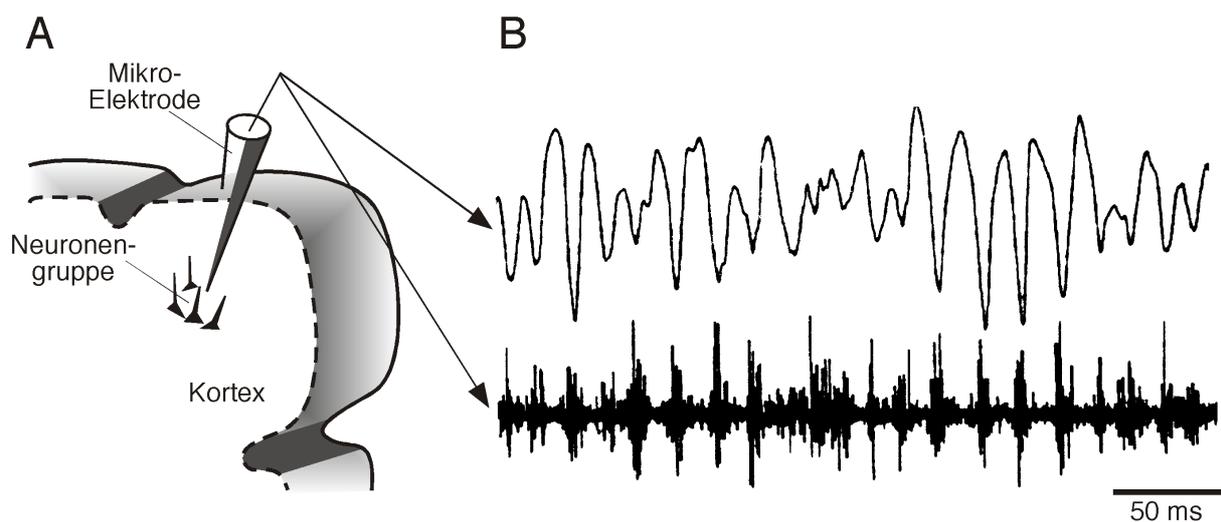


Abbildung 1-1 Corticale *gamma*-Oszillationen *in vivo*

A Experimentelle Konfiguration: Ableitung der Aktivitäten einer kleinen Neuronengruppe im visuellen Cortex der Katze.

B Durch unterschiedliche Filterung des Signals können Feld- (obere Kurve) und Multizell-Aktivitäten (untere Kurve) extrahiert werden. Passiert ein Lichtbalken ihr rezeptives Feld, antworten die Zellen mit synchronen oszillatorischen Entladungen im *gamma*-Frequenz-Bereich, welche mit den negativen Feld-Antworten korrelieren (Engel et al 1997).

Obwohl sich experimentelle Hinweise dafür mehren, bleibt es bislang ungewiß, ob *gamma*-Oszillationen eine funktionelle Relevanz in neuronalen Verarbeitungsprozessen haben. Auffällig ist, daß ihr Auftreten oft mit präzis synchronisierten Zellantworten korreliert. Diese Synchronisierung wiederum und ihre funktionelle Bedeutung sind stark umstrittene Forschungsthemen der letzten Dekaden. Eine Hypothese besagt, daß Synchronisierung ein Mittel zur Koppelung von räumlich getrennten doch gemeinsam kodierenden Zellantworten darstellt (Singer, Gray, 1995), (Von der Malsburg, 1999), (Wang, Buzsaki, 1996). Synchronisierte neuronale Antworten könnten hierbei höhere Bedeutung für die weitere Verarbeitung erlangen. Auch wenn diese Hypothese nicht überall Anklang findet, da sie voraussetzt, daß Neuronen präzise zeitliche Beziehungen im Millisekundenbereich auflösen können, liegen experimentelle Befunde darüber vor, daß synchronisierte Oszillationen als Mechanismen zur kontextabhängigen Antwortselektion und -gruppierung in Frage kommen. Mehrere Studien im visuellen Cortex belegen, daß räumlich getrennte Neuronen ihre Antworten präzis synchronisieren, wenn sie von einer einzigen Stimuluskontur angeregt werden. Sie fangen jedoch an, unkorreliert voneinander zu feuern, wenn sie von zwei unterschiedlichen Konturen angeregt werden (Gray et al., 1989), (Engel et al., 1991a), (Engel et al., 1991b). In einem weiteren Beispiel wurde die Transparenz zweier Stimuli, die sich in unterschiedliche Richtungen übereinander bewegten, wie folgt manipuliert: Entweder wurden sie als zwei getrennte Stimuli oder als ein sich in die interpolierte Richtung bewegendes Muster wahrgenommen. Der Übergang zwischen diesen beiden unterschiedlichen Wahrnehmungen konnte mit Veränderungen der Antwortsynchronisierung - und nicht der Feuerrate - korreliert werden (Castelo-Branco et al., 2000). Diese Ergebnisse scheinen die vorgeschlagene Rolle von Synchronie als Kohärenzsignal neuronaler Antworten zu untermauern.

Im Gegensatz zur *in vivo* Situation zeigen corticale Zellen in Hirnschnitten für gewöhnlich keine spontanen Oszillationen, weil Interaktionen mit subcorticalen Strukturen durch das Fehlen weitreichender synaptischer Verbindungen unterbunden sind und nur lokal begrenzte Netzwerke erhalten bleiben. Jedoch ist es möglich, die Netzwerkaktivität so zu verändern, daß auch *gamma*-Oszillationen generiert werden. Cholinerge Neuromodulation in Hippocampusschnitten (Fisahn et al., 1998) bzw. kombinierte cholinerge Neuromodulation und tonische Depolarisation in Schnitten des somatosensorischen Cortex (Buhl et al., 1998)

evoziert Oszillationen im *gamma*-Frequenzbereich analog zu den *in vivo* vorkommenden Oszillationen (Abb. 1-2). Als potentieller Mechanismus für die Entstehung und Aufrechterhaltung dieser schnellen Oszillationen wurden in letzterer Studie zeitlich abgestimmte Wechselwirkungen zwischen Pyramidenzellen- und Interneuronen identifiziert.

Zusätzlich zum Modell der Interaktion zwischen Pyramidenzellen- und Interneuronenaktivitäten wurden Alternativmodelle vorgeschlagen, um den Mechanismus der Entstehung und Aufrechterhaltung von *gamma*-Oszillationen im Cortex *in situ* zu erklären. Zum Einen könnten *gamma*-Oszillationen durch die Aktivität von Zellen getragen werden, welche die intrinsische Fähigkeit zu oszillieren besitzen. Intrinsische Oszillatoren wurden bereits in den oberen corticalen Schichten beobachtet [*chattering cells* (Gray, McCormick, 1996)]. Zum Anderen könnten Interneuronen die hauptsächliche Rolle spielen, indem sie ein oszillierendes inhibitorisches Netzwerk bilden und hierbei die Aktivität des gesamten Netzwerks treiben. Solche Oszillationen im Interneuronennetzwerk konnten in Hippocampus- und Neocortex-Schnitten durch die Aktivierung metabotroper Glutamatrezeptoren ausgelöst werden und oszillatorische Aktivität in Pyramidenzellen anregen (Traub et al., 1996).

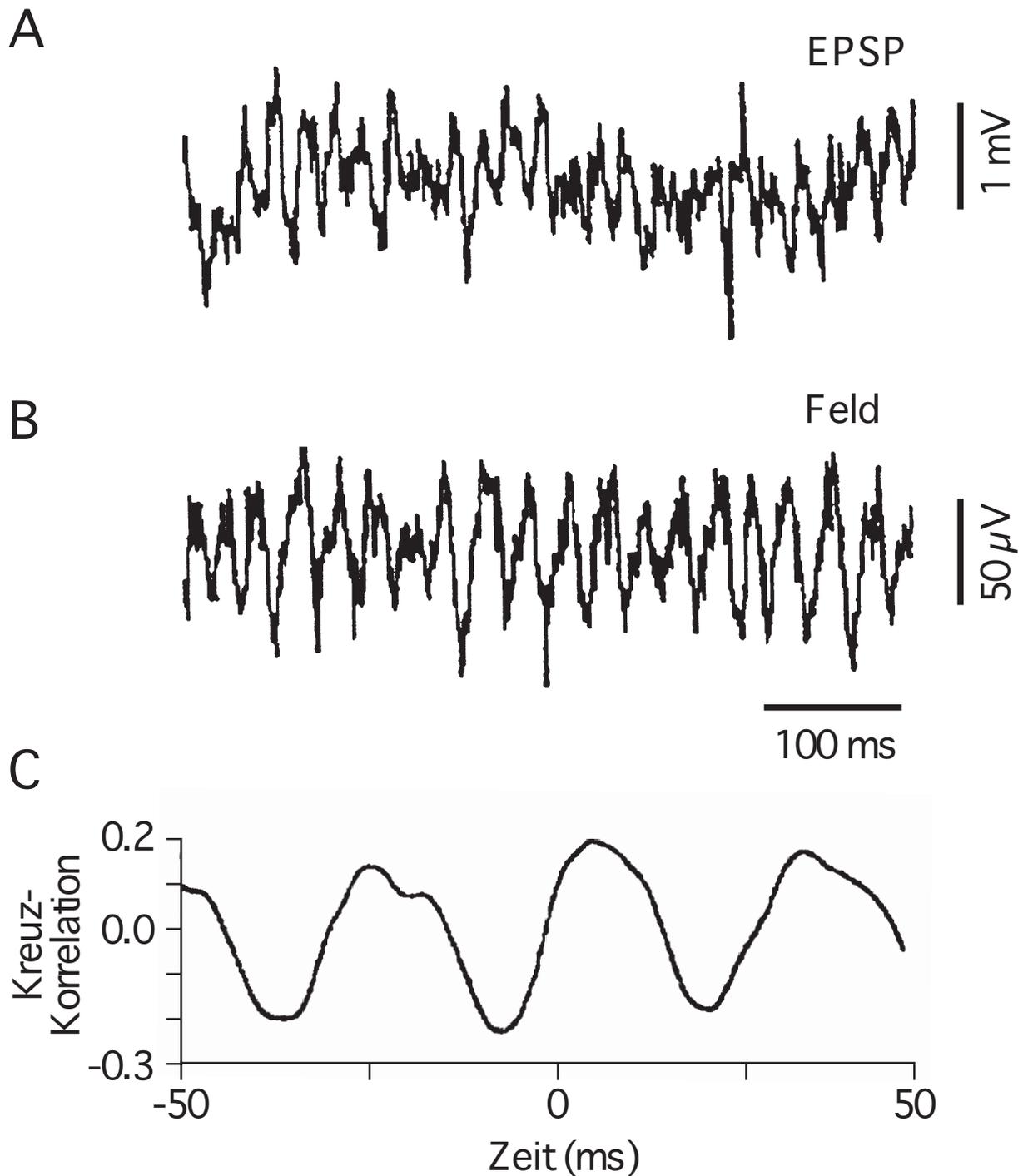


Abbildung 1-2 Corticale gamma-Oszillationen in vitro

Durch tonische Depolarisation und Neuromodulation (Applikation von Kainat und Carbachol) können *gamma*-Oszillationen im corticalen Hirnschnitt evoziert werden. Die intrazellulären oszillatorischen unterschwelligen Aktivitäten (EPSPs, obere Kurve) korrelieren mit der Feldaktivität (mittlere Kurve, unteres Korrelogramm, modifiziert aus Buhl et al, 1998).

Hat man mechanistische Modelle über die Entstehung corticaler Oszillationen aufgestellt und sie experimentell belegt, bleibt die Frage der funktionellen Bedeutung dieser Oszillationen. Können Oszillationen der Synchronisierung neuronaler Aktivitäten dienen? Um dies auf der Ebene von Zellen und kleinen Netzwerken zu studieren, haben sich *in vitro* Präparationen etabliert, welche den entscheidenden Vorteil bieten, daß Funktionen und Mechanismen unter kontrollierten Bedingungen untersucht werden können. Auf dieser Weise wurde *in vitro* in Olivenkernneuronen gezeigt, daß unterschwellige oszillatorische Aktivität eine synchronisierende Funktion übernehmen kann (Lamp, Yarom, 1993). In dieser Studie simuliert ein in das Zellsoma injizierter sinuswellenförmiger Strom die zu studierende Membranpotential (V_m)-Oszillation. Evoziert man dann synaptische Potentiale, hängt ihr Summationsverhalten von deren Phasenlage zur Oszillation ab. Diese phasenabhängige, nichtlineare Summation führt zu einer zeitlichen Verschiebung synaptischer Antworten, sodaß die größte Antwort mit dem Oszillationsgipfel (Peak) synchronisiert wird. Auch im visuellen Cortex *in vitro* ließen sich ähnliche synchronisierende Effekte oszillatorischer V_m Modulation beobachten (Volgushev et al., 1998). Dort wurde die Summation von N-Methyl-D-Aspartat (NMDA)-Rezeptor-abhängigen Potentialen mit der Oszillation studiert. Durch die nichtlineare Summation der synaptischen Potentiale mit dem oszillierenden V_m wurden Aktionspotentiale evoziert, welche präzise auf die nachfolgenden Peaks der Oszillation synchronisiert waren. Diese experimentellen Hinweise auf die Rolle von Oszillationen bei der Synchronisierung neuronaler Aktivitäten und die Hypothese, daß Synchronie korrelierten kohärenten Antworten höhere Effizienz verleiht, werfen die Frage auf, ob Oszillationen auch für die Evaluierung und aktivitätsabhängige Anpassung der Antwortkohärenz von Wichtigkeit sind.

1.2 Hebb'sche Plastizität

Der Begriff Hebb'scher Plastizität wird verwendet, um assoziative aktivitätsabhängige synaptische Modifikationen zu beschreiben. Hebb'sche Plastizität gilt als neuronales Modell für Lernen und Gedächtnis. Es wird angenommen, daß relevante sensorische Erfahrungen durch aktivitätsabhängige Veränderungen synaptischer Gewichte in Netzwerkreorganisationen "niedergeschrieben" werden können. Dieses Modell greift auf das folgende grundlegende Postulat von Donald Hebb zurück:

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

(Hebb, 1949)

Einerseits wird durch dieses Postulat hervorgehoben, daß synaptische Plastizität ein assoziativer Prozeß ist: Die Zusammenwirkung prä- und postsynaptischer Aktivitäten bewirkt eine synaptische Veränderung. Andererseits beinhaltet es eine Aussage über die Kausalitätsanforderungen synaptischer Modifikationen: Die Aktivität der präsynaptischen Zelle (*cell A*) trägt dazu bei, daß die postsynaptische Zelle (*cell B*) feuert. Damit verbunden ist auch die Sequenzsensitivität synaptischer Modifikationen: Ein kausaler Zusammenhang besteht nur, wenn die präsynaptische Zelle vor der postsynaptischen Zelle aktiv ist. 24 Jahre nachdem das Hebb'sche Postulat aufgestellt wurde, lieferte die Entdeckung der synaptischen Langzeitpotenzierung (LTP) durch Bliss und Løvmø den ersten experimentellen Beweis für seine Richtigkeit. Nach tetanischer Stimulation synaptischer Eingänge im Hippocampus des Kaninchens konnte eine Verstärkung synaptischer Antworten gemessen werden (Bliss, Løvmø, 1973). Ein besonders passendes physiologisches Korrelat des Hebb'schen Postulats findet man in der postnatalen Entwicklung des visuellen Cortex: Zellen, welche kohärent miteinander feuern, werden verstärkt miteinander verschaltet. *„Cells that fire together, wire together“*. Daraus resultiert eine aktivitätsabhängige funktionelle Konsolidierung und Verfeinerung des Netzwerks

(Löwel, Singer, 1992), (Katz, 1993). Jedoch werden durch das Hebb'sche Postulat nur monopolare aktivitätsabhängige Modifikationen (Verstärkungen) synaptischer Verbindungen beschrieben. Doch wenn synaptische Verbindungen verstärkt werden können, erscheint es, als sei die Umkehrung dieser Verstärkung oder die kontrasterhöhende Abschwächung anderer synaptischer Verbindungen die Voraussetzung für eine flexible Reorganisation des synaptischen Netzwerks. An diesen Gedankenansatz anknüpfend erweiterte Gunther Stent 1973 das Hebb'sche Plastizitätsmodell und stellte folgendes Postulat auf:

“When the axon of cell A repeatedly failed to excite cell B while cell B is firing under the influence of other presynaptic axons, metabolic change takes place in one or both cells such that A's efficiency, as one of the cells firing B, is decreased.”
(Stent, 1973)

Diese Erweiterung sollte die von Hubel und Wiesel beobachtete Verschiebung der Okulardominanz in Neuronen des visuellen Cortex erklären. Durch monokulare Deprivation oder operativ induziertes Schielen während der kritischen Entwicklungsphase, verändern sich die Okulardominanz-Eigenschaften der kortikalen Neuronen in kompetitiver Weise. Das gesunde Auge wird dominant repräsentiert und das geschlossene oder das durch das Schielen schwächer benutzte Auge wird unterrepräsentiert (Wiesel, Hubel, 1963), (Hubel, Wiesel, 1965). Stents Postulat beschreibt Abschwächungen synaptischer Verbindungen und führt sie auf die kausale und/oder zeitliche Inkohärenz zwischen prä- und postsynaptischen Aktivitäten zurück. Experimentelle Induktion synaptischer Abschwächungen (Langzeitdepression, LTD) wurde wie im Falle von LTP zuerst im Hippocampus (Levy, Steward, 1983) und später in anderen kortikalen Strukturen wie zum Beispiel in Schnitten des visuellen Cortex demonstriert (Artola et al., 1990). Durch die Bipolarität aktivitätsabhängiger synaptischer Modifikationen können synaptische Gewichte ohne die Gefahr einer Sättigung reguliert werden.

Die von Hebb und Stent postulierten Plastizitätsregeln sind in den letzten Jahrzehnten in Algorithmen zur Beschreibung synaptischer Plastizität integriert

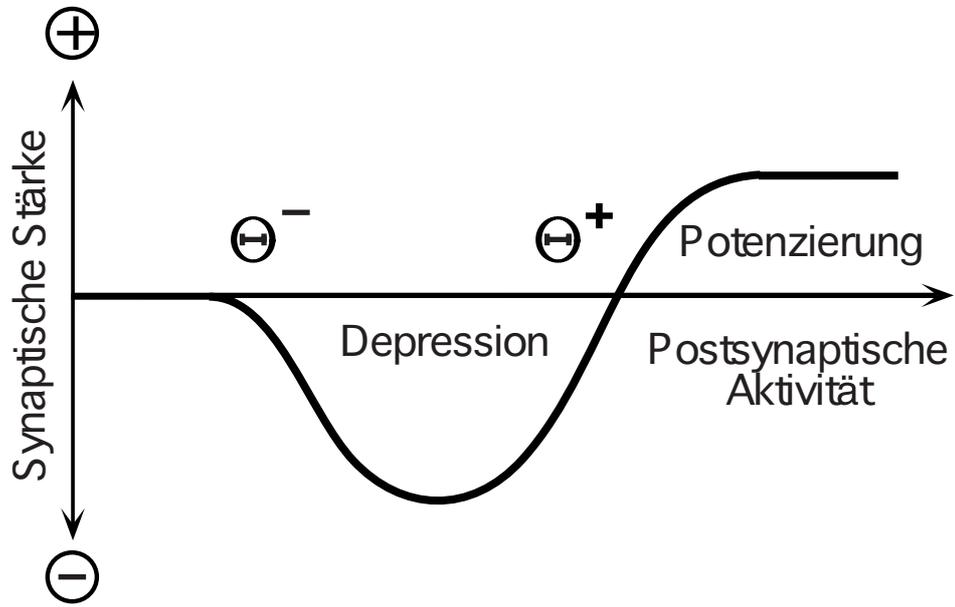
worden. Diese Algorithmen stellen synaptische Veränderungen als Funktion der Kovarianz prä- und postsynaptischer Aktivitäten dar (Bienenstock et al., 1982), (Bear et al., 1987). Überschreitet laut diesen Algorithmen die postsynaptische Aktivität die kritische Schwelle für synaptische Modifikationen θ_+ , werden Synapsen verstärkt. Im Gegenzug werden Synapsen geschwächt, wenn postsynaptische Antworten unter θ_+ liegen, jedoch größer als eine andere kritische Schwelle, θ_- sind. Die Schwellen θ_+ und θ_- haben keinen festgelegten Wert, sondern können sich als Funktion der Aktivität verändern (Bear, 1996) (Abb. 1-3). Als physiologische Korrelate für diese theoretischen Schwellen gelten die Stärke der postsynaptischen Depolarisation, die damit verbundene Stärke der NMDA-Rezeptoren-Aktivierung und die Amplitude und Kinetik des postsynaptischen Kalziumsignals (Artola et al., 1990), (Artola, Singer, 1993), (Hansel et al., 1996), (Hansel et al., 1997), (Nishiyama et al., 2000), (Zucker, 1999) (Abb. 1-3).

Abbildung 1-3 Modifikationsschwellen für LTD und LTP Induktion

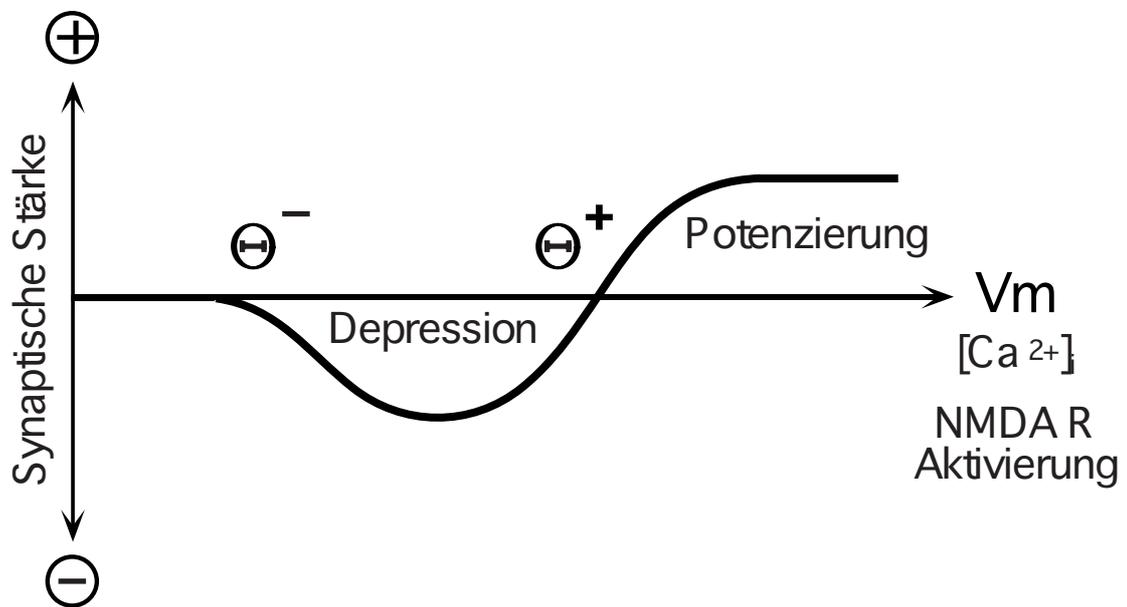
A Nach dem Modell von Bienenstock, Cooper und Munroe verändert sich die synaptische Stärke als Funktion der postsynaptischen Aktivität. LTP wird induziert, wenn die postsynaptische Aktivität die Schwelle θ^+ überschreitet, während LTD daraus resultiert, daß die postsynaptische Aktivität kleiner als die Schwelle θ^+ jedoch größer als die Schwelle θ^- ist.

B Varianten dieses Modells korrelieren Veränderungen der synaptischen Stärke an die postsynaptische Depolarisation V_m , an den intrazellulären Ca^{2+} -Einstrom $[Ca^{2+}]_i$ oder an die Aktivierung von NMDA-Rezeptoren.

A



B



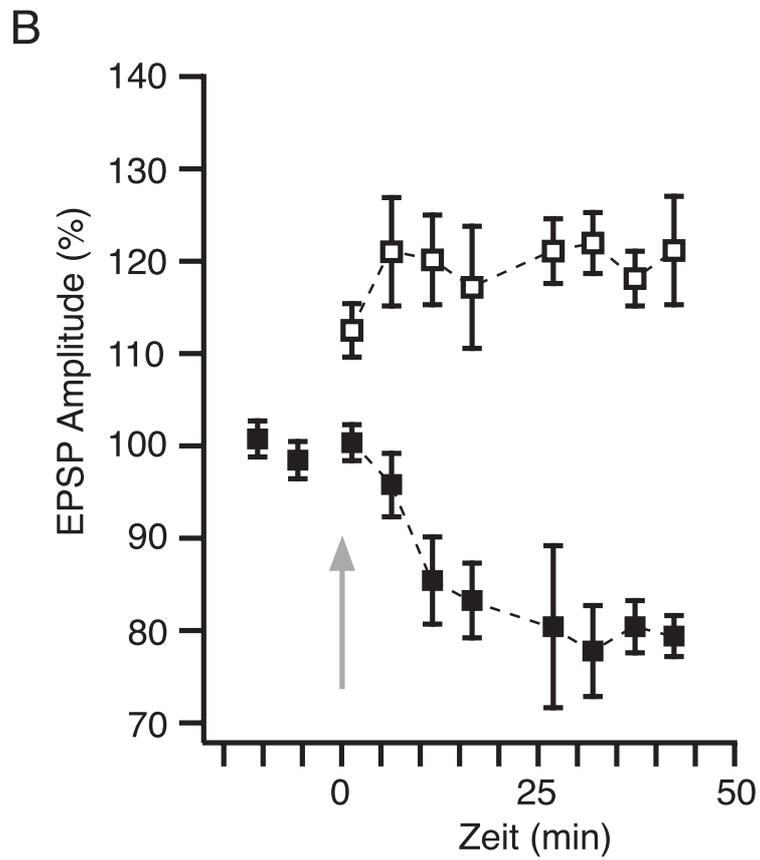
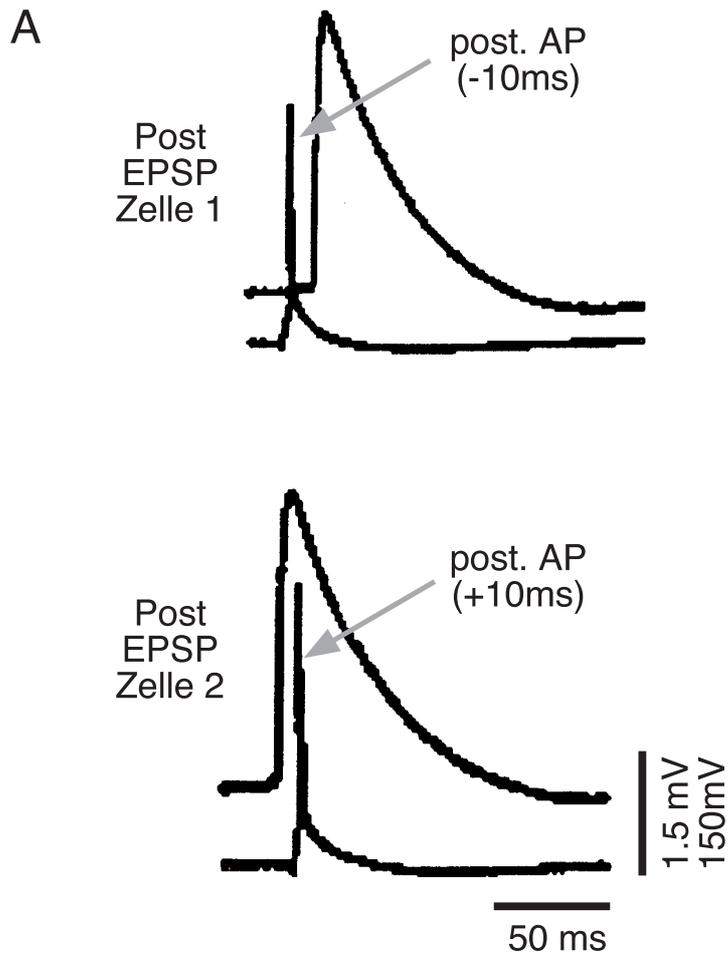
Die Erforschung Hebb'scher Plastizität führte dazu, daß sich unterschiedliche Aktivitätsprotokolle für die Induktion von LTP und LTD etabliert haben. Klassische Protokolle bestehen aus wiederholter präsynaptischer Stimulation in unterschiedlichen Frequenzen, welche in manchen Fällen an postsynaptische Depolarisation gekoppelt wird. Als klassisches Protokoll für die Induktion von LTP werden kurze hochfrequente Tetani (100 Hz, 1s) appliziert. Dagegen gilt als klassisches Protokoll für LTD eine langanhaltende 1 Hz Stimulation (900 Pulse, 10 Minuten). Doch wenn sich synaptische Plastizität als ein gutes Modell für Lernen und Gedächtnis behaupten will, müssen für ihre Induktion Aktivitätsmuster nachgeahmt werden, welche *in vivo* während aufmerksamen Verhaltens und während Lernphasen vorkommen. Dies wurde in den letzten Jahren angestrebt und mit dem Fortschritt von Ableitungstechniken konnten physiologischere Konditionierungsprotokolle angewandt werden. Zum Beispiel konnte an Doppel- und Mehrfachableitungen die im Hebb'schen Postulat beinhaltete Sequenzsensitivität synaptischer Modifikationen näher studiert werden. Wie beeinflusst das zeitliche Verhältnis zwischen prä- und postsynaptischen Aktivitäten die resultierende synaptische Plastizität? Die meisten der neuen Studien belegen, daß synaptische Verbindungen verstärkt werden, wenn die präsynaptische Zelle vor der postsynaptischen Zelle feuert. Sie werden geschwächt, wenn die präsynaptische Zelle nach der postsynaptischen Zelle feuert (Abb. 1-4).

Abbildung 1-4 Sequenzsensitivität Hebb'scher Plastizität

Über die Polarität Hebb'scher Modifikationen bestimmen zeitliche und kausale Kohärenzanforderungen für prä- und postsynaptische Aktivitäten. Ein Beispiel für die Sequenzsensitivität Hebb'scher Plastizität lieferte eine Doppelableitungstudie an Schicht V Pyramidenzellen (Zelle 1 und Zelle 2) im somatosensorischen Cortex der Ratte.

A War die Sequenz prä- und postsynaptischer Aktivitäten inkohärent (post-AP 10 ms vor post-EPSP), wurde die synaptische Verbindung abgeschwächt (LTD, schwarze Quadrate in B). War die Sequenz prä- und postsynaptischer Aktivitäten aber kohärent (post-AP 10 ms nach post-EPSP), wurde die synaptische Verbindung verstärkt (LTP, weiße Quadrate in B).

B Zeitverlauf des Experiments. Pfeil: Zeitpunkt des kohärenten bzw. inkohärenten Konditionierungsprotokolls (modifiziert aus Markram et al. 1997).



Eine synaptische Verstärkung folgt somit einem kausalen Zusammenhang zwischen prä- und postsynaptischer Aktivität, während der Ausschluß kausaler Zusammenhänge oder unkohärente prä- und postsynaptische Aktivitäten eine Abschwächung der synaptischen Verbindungen zur Folge haben (Markram et al., 1997), (Bi, Poo, 1991), (Feldman, 2000), (Nishiyama et al., 2000). Es bleibt jedoch unklar, ob die beobachtete Sequenzsensitivität Hebb'scher Modifikationen auch dann erhalten bleibt, wenn Zellen ihre Feuerrate stark erhöhen und schnelle oszillatorische Aktivitäten zeigen.

Auf der Suche nach physiologisch relevanteren Protokollen gewann die Nachahmung von *theta*-strukturierten Aktivitätsmustern an Bedeutung für die Induktion synaptischer Plastizität. Hierbei werden kurze hochfrequente Salven von Stimulationspulsen (100 Hz) in einem langsamen *theta*-Rhythmus appliziert (Larson et al., 1986), (Huerta, Lisman, 1996), (Hölscher et al., 1997). Doch *theta*-Rhythmen reflektieren hippocampale Aktivitätsmuster besser als neocorticale. Eine neue Art von Protokoll für die Induktion synaptischer Plastizität wird in der vorliegenden Arbeit vorgeschlagen. Dabei wurde versucht, die schnellen Oszillationen im *beta*- und *gamma*-Frequenzband nachzuahmen, die während exploratorischen oder aufmerksamen Verhaltens *in vivo* im Cortex auftreten.

Der Frage der funktionellen Bedeutung oszillatorischer Aktivität in Plastizitätsprozessen, insbesondere der Frage, ob Oszillationen zeitliche Fenster für die Regulierung synaptischer Stärken definieren können, wurde bereits im entorhinalen Cortex und im Hippocampus nachgegangen. In einer frühen Studie im entorhinalen Cortex anästhesierter Ratten ließ sich entweder synaptische Potenzierung oder Depression in Abhängigkeit von der Phasenlage der *theta*-Oszillationen induzieren (Pavlidis et al., 1988). Die Hypothese von Plastizitätsfenstern während Oszillationen wurde in *in vivo* und *in vitro* Studien im Hippocampus der Ratte weiterverfolgt. Auch aus diesen Studien geht hervor, daß der Phasenwinkel synaptischer Aktivierung relativ zur Oszillation über die Polarität resultierender Modifikationen entscheidet. Waren Synapsen zur positiven Phase der cholinergisch modulierten *theta*-Oszillation aktiv, wurden sie potenziert, während zuvor potenzierte Synapsen, wenn sie in der negativen Phase der Oszillation stimuliert wurden, depotenzierten (Huerta, Lisman, 1993), (Huerta, Lisman, 1995), (Hölscher et al., 1997) (Abb. 1-5). Ein weiterer interessanter Aspekt von Huerta und Lisman's Befunden liegt in der deutlich herabgesetzten Schwelle für Plastizität

während *theta*-Oszillationen im Hippocampus. Es genügte eine einmalige Salve von 4 Stimulationspulsen, um synaptische Veränderungen zu induzieren. Dieses Aktivitätsmuster erscheint physiologischer, als die klassischen Konditionierungsprotokolle zur Induktion von Plastizität (Tetanus).

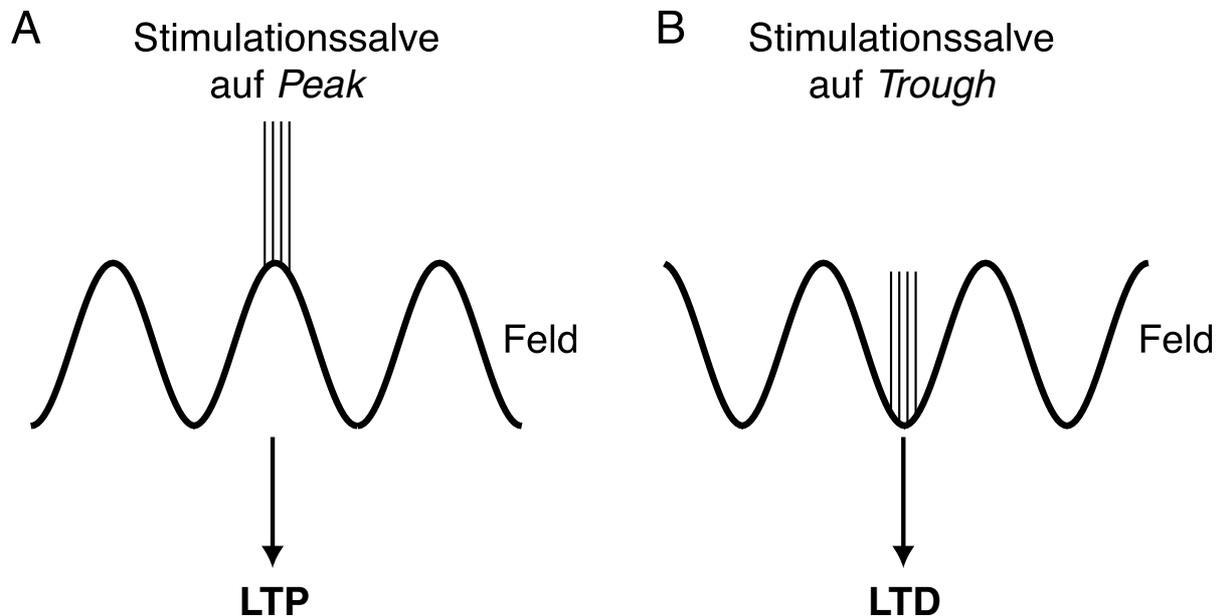


Abbildung 1-5 Oszillationen und Plastizität im Hippocampus

Während cholinerg modulierter *theta*-Oszillationen in Hippocampusschnitten ist die Polarität synaptischer Modifikationen abhängig von der Phasenlage präsynaptischer Aktivierung.

A Eine Stimulationssalve, die mit der positiven Phase (*Peak*) der Feldoszillation koinzident ist, induziert LTP.

B Eine Salve, die mit der negativen Phase (*Trough*) koinzident ist, induziert eine Depotenzierung zuvor potenziert Synapsen (modifiziert aus Huerta und Lisman 1996).

Die meisten Studien über den Einfluß von Oszillationen auf synaptische Plastizität wurden, wie oben beschrieben, an den für den Hippocampus charakteristischen Oszillationen im *theta*-Frequenzband untersucht. Vor der Durchführung der vorliegenden Studie war jedoch noch unklar, ob schnellere Oszillationen im Cortex ebenfalls phasenbezogene Plastizitätsfenster definieren können. Wenn die Hypothese zutrifft, daß Synchronie der Bindung korrelierter Aktivität dient, dann sollte

synchrones Feuern zur Verstärkung dieser synaptischen Verbindungen (LTP) führen. Somit würde die synaptische Bindung von synchron oszillierenden Zellen stärker werden. Im Gegenzug sollte asynchrones Feuern LTD auslösen. Dies würde eine Entkoppelung asynchron oszillierender Zellen zur Folge haben. Dabei muß die Zeit-Auflösung bzw. die Phasenwinkel-Auflösung während schneller Oszillationen den *in vivo* Bedingungen genügen.

1.3 Der visuelle Cortex der Ratte

Der visuelle Cortex befindet sich am okzipitalen Pol der corticalen Hemisphären. Er wird in 3 Areale unterteilt: Areal 17, Areal 18 (oder 18b) und Areal 18a. Während die Areale 18 und 18a in weitere funktionell verschiedene Subareale mit umstrittener Nomenklatur und Topographie untergliedert werden (Coogan, Burkhalter, 1993), (Johnson, Burkhalter, 1997), bezeichnet man das anatomisch und physiologisch gut identifizierbare Areal 17 als primären visuellen Cortex oder V_1 . Er erhält die afferente über den Thalamus verschaltete frequenzmodulierte Information aus der Netzhaut und ist an grundlegenden Aufgaben der corticalen Verarbeitung dieser Information beteiligt. Anatomisch läßt sich der primäre visuelle Cortex durch seine charakteristische Dichte kleiner Zellen in Schicht IV von den anderen Arealen gut abgrenzen [granuläre Schicht, (Krieg, 1946)]. In Schicht IV münden die meisten thalamocorticalen Eingangssignale, wo sie verarbeitet und zu supra- und infragranulären Schichten weitergeleitet werden. Anatomische Studien über die weitere Verschaltung des primären visuellen Cortex mit hierarchisch höheren Arealen haben zweierlei gezeigt: Erstens sind corticocorticale Projektionen topographisch organisiert; zweitens unterliegen Vorwärts- und Rückprojektionen einer charakteristischen Schichtung (Coogan, Burkhalter, 1993). Mit einer Flächenausdehnung von 7.1 mm^2 und einer Tiefe von 1.3 bis 1.5 mm enthält der primäre visuelle Cortex schätzungsweise 300 000 Neuronen (Peters, 1985). Er ist funktionell so organisiert, daß Neuronen entlang der corticalen Fläche an der topographischen Netzhautrepräsentation beteiligt sind (Montero, 1981). Sie sind senkrecht zur Oberfläche und somit senkrecht zur Schichtung des Cortex in funktionellen Säulen (Kolumnen) ähnlicher rezeptiver Feldeigenschaften angeordnet. Corticale Neuronen werden in exzitatorische glutamaterge Pyramidenzellen (Projektionsneuronen) und inhibitorische GABAerge lokal verschaltete Interneuronen unterteilt. Pyramidenzellen, vor allem in den supragranulären Schichten (Schicht

II/III), senden einerseits ihre Axone rechtwinklig zur corticalen Oberfläche zu tiefer gelegenen Schichten und durch die weiße Substanz zu anderen Arealen. Sie besitzen andererseits mehrere Millimeter lange horizontale Axonkollaterale, welche funktionelle Säulen und Areale miteinander verbinden (Horizontalverbindungen). Man vermutet, daß diese hier untersuchten Horizontalverbindungen an der kontextabhängigen Integration visueller Information über einen weiten Bereich des visuellen Felds beteiligt sind (Gilbert, 1992), (Gilbert, Wiesel, 1992). Wie bereits erörtert, besitzt das corticale Netzwerk in Schicht II/III die notwendige intrinsische synaptische Verschaltungsvoraussetzung, um *gamma*-Oszillationen durch Interaktionen von Pyramidenzellen und Interneuronen zu unterstützen (Buhl et al., 1998). Unter dieser Voraussetzung physiologischer Relevanz wurde die vorliegende Untersuchung über den Einfluß oszillatorischer Aktivität auf Hebb'sche Plastizität in Schicht II/III durchgeführt.

1.4 Cholinerge und noradrenerge Neuromodulation

1.4.1 Acetylcholin

Acetylcholin ist der erste Neurotransmitter, der im Zentralnervensystem identifiziert wurde (Eccles et al., 1956). Der Hauptursprung cholinergischer Projektionen zum Cortex liegt in unterschiedlichen Kernen des basalen Vorderhirns⁴. Man nimmt an, dass die corticale Innervation durch das cholinerge System sowohl diffus als auch gezielt über Synapsen erfolgt. Unter den cholinergen Rezeptoren wird zwischen zwei grundlegenden Typen unterschieden: metabotrope muskarinische Rezeptoren, welche über G-Proteinen an sekundäre intrazelluläre Kaskaden gekoppelt sind und ionotrope, nikotinische Rezeptoren, welche einen Kationenfluß (Na^+ , K^+ , Ca^{2+}) durch die Zellmembran bewirken. Diese zwei Rezeptortypen werden weiter in Subtypen unterteilt. Bei den muskarinischen Rezeptoren richtet sich die Subtypenklassifikation nach den Rezeptoruntereinheiten und der metabotropen Kaskade, die an die Rezeptoraktivierung gebunden ist: M1, M3 und M5 muskarinische Rezeptoren aktivieren die Phospholipase C, während M2 und M4 muskarinische Rezeptoren die Adenylatzyklase hemmen. Bei den nikotinischen Rezeptoren werden homo-oligomere Rezeptoren (*alpha7*) von hetero-oligomeren Rezeptoren (*alphax-beta*),

⁴ hauptsächlich *Nucleus basalis* of Meynert und septale Kerne

z.B. *alpha4-beta2*) unterschieden. Muskarinische Rezeptoren erreichen in den oberflächlichen Schichten des visuellen Cortex ihre höchste Dichte (Shaw, Teyler, 1982) und befinden sich vorwiegend an den Dendriten von Neuronen. Nikotinische Rezeptoren sind einerseits auf Dendriten andererseits auf den Endigungen thalamocorticaler Fasern lokalisiert (Sahin et al., 1992), (Schroder et al., 1989). Auf die funktionellen Konsequenzen dieser unterschiedlichen Rezeptoren-Topographie wird noch eingegangen (siehe unten).

Das cholinerge System spielt eine entscheidende Rolle für die Regulierung von corticalen Aktivierungszuständen. Die den Cortex innervierenden cholinergen Neuronen ruhen während des Tiefschlafs, zeigen jedoch tonisches Feuern während REM-Schlaf und Wachheit. Dabei werden Fluktuationen der cholinergen Neuronenaktivität von Veränderungen des Wachheits- oder Aufmerksamkeitsgrades begleitet. Aus Stimulationsversuchen von corticalen cholinergen Projektionen⁵ geht hervor, dass cholinerge Ausschüttung Hirnrindenzellen depolarisiert und verstärkt synchronisierte *gamma*-Oszillationen induziert (Metherate et al., 1992), (Munk et al., 1996), (Steriade et al., 1996), (Herculano-Houzel et al., 1999). Auch in corticalen Hirnschnitten bewirkt die cholinerge Modulierung, dass Oszillationen im *theta*- (Lukatch, MacIver, 1997) oder *gamma*-Frequenzband auftreten (Buhl et al., 1998). Darüberhinaus beeinflusst das cholinerge System auch die synaptische Übertragung und die aktivitätsabhängige synaptische Plastizität im Cortex. Zum Beispiel kann die exzitatorische glutamaterge Übertragung auf Pyramidenzellen im präfrontalen Cortex der Ratte differentiell durch muskarinische Rezeptoraktivierung abgeschwächt und durch nikotinische Rezeptoraktivierung verstärkt werden (Vidal, Changeux, 1993). Eine ähnliche differenzielle Modulierung wurde in Schnitten des somatosensorischen Thalamus und Cortex beobachtet. Dort wirkt sich die Aktivierung muskarinischer Rezeptoren hemmend auf alle exzitatorischen Synapsen aus, während die Aktivierung nikotinischer Rezeptoren nur auf thalamocorticale Synapsen, jedoch nicht auf intracorticale Synapsen verstärkend wirkte (Gil et al., 1997). Durch die unterschiedliche Topographie muskarinischer und nikotinischer Rezeptoren kann diese differenzielle Modulierung die relative Gewichtung thalamocorticalen und intracorticalen Informationsflusses verändern. Auch für die

⁵ *nucleus basalis* oder *formatio reticularis* Stimulation

corticale Plastizität spielt die cholinerge Modulation eine bedeutende Rolle. Das Unterbinden cholinergischer Innervierung hat starke Auswirkungen auf die corticale Entwicklungsplastizität: verspätete oder sogar verhinderte Plastizität wurde im visuellen Cortex der Katze nach Läsionen der cholinergen Kerne oder Zugabe cholinergischer Antagonisten beobachtet (Bear, Singer, 1986), (Gu, Singer, 1993). Noch im adulten visuellen Cortex unterliegt synaptische Plastizität dem Einfluß cholinergischer Modulation. Die synergistische Aktivierung cholinergischer und noradrenerger Rezeptoren begünstigt die Induktion von LTP in Hirnschnitten des adulten visuellen Cortex (Bröcher et al., 1992). Aus den hier nur angerissenen Ergebnissen der Erforschung cholinergischer Modulation offenbarte eine *in vivo* Studie im somatosensorischen Fässhencortex der Ratte (Vibrissenrepräsentation) einen weiteren funktionellen modulatorischen Aspekt, der als Modell für kontextabhängiges Lernen vorgeschlagen wurde. Veränderungen neuronaler Antworten, die in Anwesenheit von Acetylcholin induziert wurden, waren ausschließlich im gleichen neuromodulatorischen Zustand wieder abrufbar, d.h. unter erneuter Zugabe von Acetylcholin (Shulz et al., 2000). Demnach scheint es, als könnte das cholinerge System zustandsabhängige Fenster erhöhter Bereitschaft für aktivitätsabhängige corticale Reorganisationen definieren und deren Expression kontextuelle Bedeutung beimessen.

1.4.2 Noradrenalin

Das noradrenerge System nimmt seinen Ursprung im *locus coeruleus* und durchläuft präfrontale corticale Regionen, bevor es die tiefen Schichten des dorsolateralen Cortex erreicht (Peters, 1985). Von dort aus verzweigen sich noradrenerge Endigungen, um die oberen corticalen Schichten zu innervieren. Ob Noradrenalin diffus im Cortex ausgeschüttet wird oder ob die Ausschüttung auf synaptisch lokalisierte Rezeptoren gerichtet ist, ist noch umstritten. Noradrenerge Rezeptoren sind ausschließlich metabotrop und werden in *alpha*- und *beta*-Rezeptoren unterteilt. Während *alpha1*-Rezeptoren postsynaptisch lokalisiert und an die metabotrope Phospholipase C Kaskade positiv gekoppelt sind, werden *alpha2*- und *beta*-Rezeptoren oft gegenübergestellt. Zwar treten sie beide prä- und postsynaptisch auf, jedoch beeinflussen sie die Adenylatzyklase-Kaskade gegensätzlich (*alpha2*-Rezeptoren hemmen sie, *beta*-Rezeptoren aktivieren sie).

Neben Acetylcholin ist auch Noradrenalin in die Regulierung von corticalen Aktivierungszuständen involviert. Noradrenerge Neuronen sind im Tief- und REM-Schlaf ruhig. Sie feuern während Wachheits- und Aufmerksamkeitszuständen (Grace et al., 1998), (Rajkowski et al., 1998). Aufgrund der obengenannten antagonistischen Aktivierungen verschiedener Rezeptorsubtypen fällt die Wirkung von Noradrenalin im Cortex differentiell aus. Zum Beispiel wird die Exzitabilität corticaler GABAerger Interneuronen je nach Interneuronentyp auf heterogene Weise durch Noradrenalin moduliert (Kawaguchi, Shindou, 1998), die von Pyramidenzellen dagegen erhöht (Madison, Nicoll, 1982), (Haas, Konnerth, 1983). Im Thalamus und im Cortex kann die noradrenerge ähnlich der cholinergen Modulation das Feuern von Pyramidenzellen von einer phasischen Salvenaktivität in eine tonische Aktivität mit einzelnen Aktionspotentialen überführen (McCormick, Prince, 1988), (Pape, McCormick, 1989), (Wang, McCormick, 1993). Diese Änderung des Aktivitätsmodus unterdrückt die für Schlafphasen charakteristische langsame oszillatorische Koppelung zwischen Cortex und Thalamus. Auf diese Weise kann Noradrenalin den über den Thalamus verschalteten sensorischen Informationstransfer zum Cortex erleichtern. Obwohl noradrenerge Ausschüttung zur corticalen Depolarisation und Aktivierung beiträgt, welche das Auftreten von *gamma*-Oszillationen begünstigen, gibt es im Unterschied zu Acetylcholin keine Hinweise dafür, daß Noradrenalin allein *gamma*-Oszillationen im corticalen Netzwerk auslösen kann. Im Hinblick auf Plastizitätsmodulation üben Noradrenalin und Acetylcholin eine synergistische positive Wirkung auf die Entwicklungs- und die adulte Plastizität im visuellen Cortex aus (Bear, Singer, 1986), (Bröcher et al., 1992). Der noradrenerge, LTP begünstigende Effekt wurde auf die Aktivierung von *beta*-adrenergen Rezeptoren zurückgeführt (Bröcher et al., 1992), (Kato, 1993). Dagegen wird LTD im visuellen Cortex durch die Aktivierung von *alpha*-Adrenozeptoren gefördert (Kirkwood et al., 1999). Diese vielseitigen modulatorischen Einflüsse verleihen dem noradrenergen System eine beachtliche Kontrolle über den corticalen Aktivierungszustand, die Verarbeitung sensorischer Information und die aktivitätsabhängige Reorganisation synaptischer Verbindungen.