

3 Ergebnisse

Die Aktionspotentiale aller Zellen ($n=136$) erreichten ihr Maximum über der 0 mV-Spannungslinie. Das Ruhemembranpotential lag durchschnittlich um -73 ± 9 mV, das AP-Schwellenpotential um -40 ± 6 mV und der Membranwiderstand um 163 ± 53 M Ω (Mittelwert \pm Standardabweichung).

In 14 Zellen wurden am Ende des Plastizitätsexperiments die glutamatergen Rezeptorantagonisten CNQX (20 μ M) und APV (50 μ M) co-appliziert, um eine eventuelle Kontaminierung der PSPs durch Inhibition aufzuspüren. Doch die gemessenen PSPs zeigten sich als exzitatorisch, da sie vollständig durch CNQX und APV blockiert wurden (Abb. 3-1).

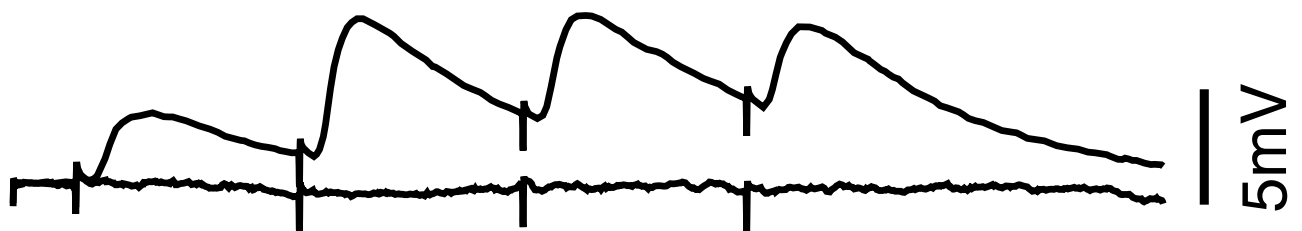


Abbildung 3-1: Ausschluß von IPSP-Kontamination

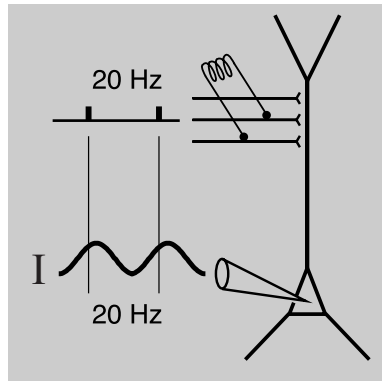
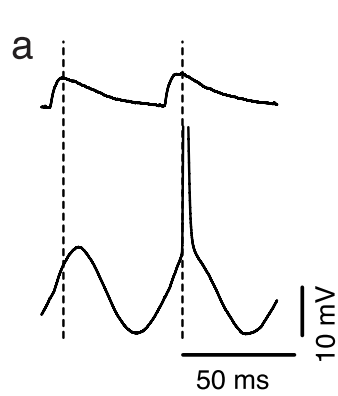
Am Ende des Experiments wurden in 14 Zellen die Glutamaterezeptoren durch Applikation von CNQX (20 μ M) und APV (50 μ M) blockiert. EPSPs (obere Kurve) verschwanden nach Applikation von CNQX und APV (untere Kurve) vollständig. Dadurch konnte eine Kontamination durch monosynaptische IPSPs ausgeschlossen werden.

3.1 Oszillatorisch induzierte synaptische Plastizität in Standard-Ringer

3.1.1 OSZ-Konditionierung induziert synaptische Plastizität

Der Effekt der OSZ-Konditionierung in Standard Ringer wurde in 29 Zellen untersucht, in 21 Zellen mit einer Oszillationsfrequenz von 20 Hz, in 8 Zellen mit einer Oszillationsfrequenz von 40 Hz. Das Evozieren von EPSPs (20 Hz) während der überschwelligen V_m Oszillation führte in 16 Zellen zu Langzeit-Modifikationen der synaptischen Stärke, die bis zu 63 Minuten nach der Konditionierung gemessen wurden. Diese bestanden bis auf einer Ausnahme (LTP, 1 Zelle) aus LTD (15 Zellen). Abbildung 3-2 stellt Beispiele von EPSPs vor und nach OSZ-Konditionierung (20 Hz) dar.

A Peak



B Trough

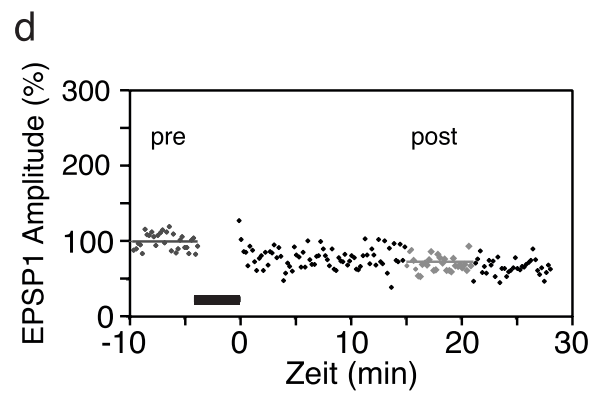
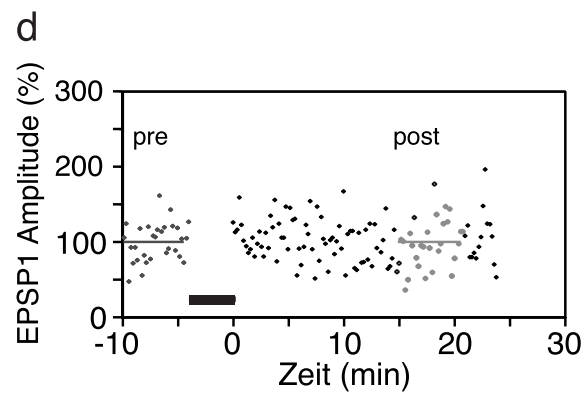
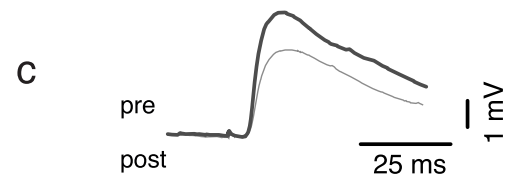
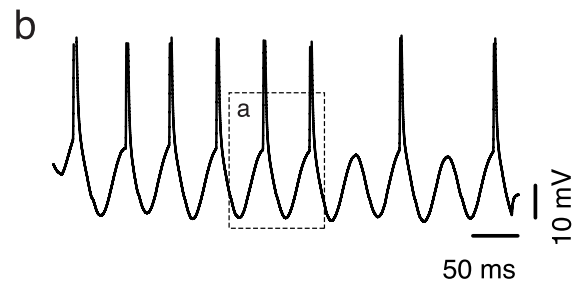
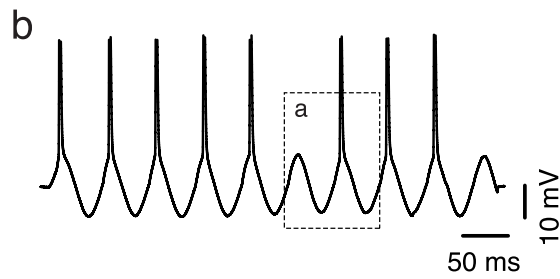
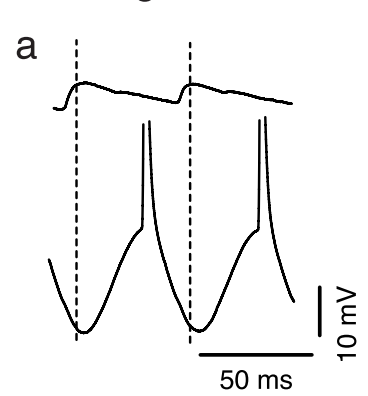


Abbildung 3-2: Beispiele von OSZ-Konditionierungen (20 Hz) und daraus resultierenden synaptischen Modifikationen

Mittleres graues Fenster: Konditionierungskonfiguration.

A *Peak*-Konditionierung.

B *Trough*-Konditionierung.

a Phasenwinkelbeziehung zwischen evozierten EPSPs (20 Hz) und V_m Oszillation (20 Hz) im Falle der *Peak*- (Aa) und der *Trough*-Konditionierung (Ba).

b Postsynaptische Antworten während der Konditionierung. Der gepunktete Rahmen weist auf die Kurvenausschnitte in Aa und Ba hin.

c Test-Stimulationsantworten 5 Minuten vor (pre, dick) bzw. 15-20 Minuten nach (post, dünn) der Konditionierung (jeweils gemittelt aus 30 Antworten). Die *Peak*-Konditionierung induzierte keine Veränderung, die *Trough*-Konditionierung LTD.

d Normalisierte EPSP1 Amplitude im Verlauf des Experiments (Schwarzer Balken: Zeitpunkt der Konditionierung). Die horizontalen Linien entsprechen dem Mittelungsbereich in **c**.

3.1.2 Phasenabhängigkeit (20 Hz Oszillation)

Zeitliche Präzision der OSZ-Konditionierung. Während der OSZ-Konditionierung wird der sinuswellenförmige Strom (10 Oszillationsperioden) mit derselben Latenz injiziert. An der zeitlichen Verschiebung des 10er EPSP-Blocks gegenüber der Oszillation kann eingestellt werden, mit welcher Phase (*Peak* oder *Trough*) das EPSP-Maximum koinzidiert. Da sich jedoch durch die passiven Membraneigenschaften eine Phasenverzögerung zwischen injiziertem Strom und V_m Oszillation ergibt und da die EPSPs zwischen Zellen unterschiedliche Latenzen und Anstiegsflanken aufweisen, wird für jede Zelle der effektive zeitliche Abstand zwischen EPSP-Maximum und darauf folgendem Oszillationsmaximum gemessen. Im Falle der *Peak*-Konditionierung war das EPSP-Maximum im Durchschnitt 2 ± 3 ms vor dem folgenden (bzw. 48 ± 3 ms nach dem vorigen) Oszillationsmaximum (n=16 Zellen, Mittelwert \pm Standardabweichung). Bei der *Trough*-Konditionierung war das EPSP-Maximum 27 ± 3 ms vor dem folgenden (bzw. 23 ± 3 ms nach dem vorigen) Oszillationsmaximum (n=5 Zellen). Demnach lag zwischen *Peak*- und *Trough*-Konditionierung eine durchschnittliche Phasenwinkelverschiebung von 180° .

Phasenabhängigkeit synaptischer Modifikationen. Sortiert man die Ergebnisse der OSZ-Konditionierung abhängig vom Phasenwinkel zwischen EPSPs und Oszillation (16 Zellen *Peak*-Konditionierung, 5 Zellen *Trough*-Konditionierung), lässt sich kein Unterschied zwischen den resultierenden synaptischen Modifikationen feststellen. Nach der *Peak*-Konditionierung wurde LTD (7 Zellen, $67\% \pm 16\%$) oder keine EPSP-Veränderung (9 Zellen, $96\% \pm 8\%$) beobachtet. Auch die *Trough*-Konditionierung induzierte LTD (4 Zellen, $63\% \pm 8\%$) oder keine EPSP-Veränderung (1 Zelle, 85%). Somit erscheint die Polarität synaptischer Modifikationen unabhängig vom Phasenwinkel der Konditionierung: Monopolare Modifikationen (ausschließlich LTD) folgten der *Peak*- und der *Trough*-Konditionierung (Abb. 3-3).

Statistik *Peak*- versus *Trough*-Konditionierung. Die nach *Peak*- versus *Trough*-Konditionierung gemessenen Plastizitätsergebnisse (prozentuale Änderung 15-20 Minuten nach der Konditionierung relativ zu 5 Minuten vor der Konditionierung) werden statistisch verglichen (MW-Test, Signifikanzniveau $p < 0.05$). In Standard Ringer Lösung beträgt der p-Wert zwischen allen Ergebnissen der *Peak*- versus *Trough*-Konditionierung 0.069. Es besteht also kein signifikanter phasenabhängiger Unterschied zwischen den jeweils induzierten synaptischen Modifikationen.

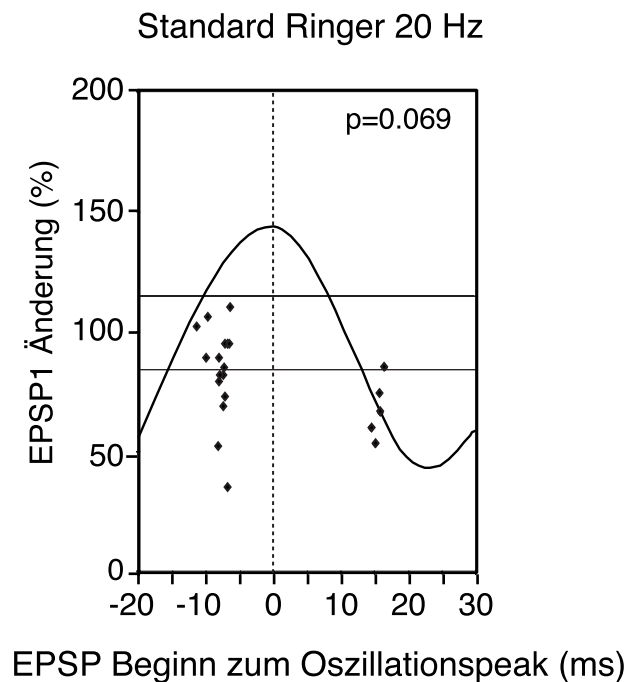


Abbildung 3-3: Synaptische Modifikationen als Funktion des Phasenwinkels zwischen EPSPs und 20 Hz Oszillation in Standard Ringer

Sowohl die *Peak*-Konditionierung als auch die *Trough*-Konditionierung induzierte LTD. Jeder Punkt steht für ein Experiment und entspricht der prozentualen EPSP1 Amplitudenänderung 15-20 Minuten nach der Konditionierung gegenüber 5 Minuten vor der Konditionierung (jeweils gemittelt aus 30 Antworten). Die Position jedes einzelnen Punktes relativ zur Sinuswelle gibt das Phasenwinkelverhältnis zwischen EPSPs und Oszillation während der Konditionierung wieder. Der angegebene p-Wert (MW-Test) ist das Ergebnis vom statistischen Vergleich aller *Peak*- versus *Trough*-Konditionierungsexperimente.

3.1.3 Phasenabhängigkeit (40 Hz Oszillation)

In weiteren 8 Zellen erfolgte die OSZ-Konditionierung mit einer 40 Hz Oszillation und mit EPSPs, die mit der halben Frequenz (20 Hz) evoziert wurden. Bei der *Peak*-Konditionierung erreichte das EPSP sein Maximum im Durchschnitt 1 ± 1 ms nach dem vorigen (bzw. 24 ± 1 ms vor dem folgenden) Oszillationsmaximum (n=6 Zellen). Bei der *Trough*-Konditionierung war das EPSP-Maximum 12 ms nach dem vorigen (bzw. 13 ms vor dem folgenden) Oszillationsmaximum (n=2 Zellen). Daraus resultiert eine effektive durchschnittliche Phasenwinkelverschiebung um 160° zwischen *Peak*- und *Trough*-Konditionierung (40 Hz).

Die 40 Hz *Peak*-Konditionierung wurde in 6 Zellen getestet. LTP (1 Zelle, 126%), LTD (3 Zellen, $65\% \pm 11\%$) oder keine EPSP-Veränderung (2 Zellen, 97%, 95%) wurden beobachtet. Zwei Experimente wurden mit einer 40 Hz *Trough*-Konditionierung durchgeführt. In einem Fall wurde LTD (79%), in einem anderen keine EPSP-Veränderung (108%) gemessen (Abb. 3-4).

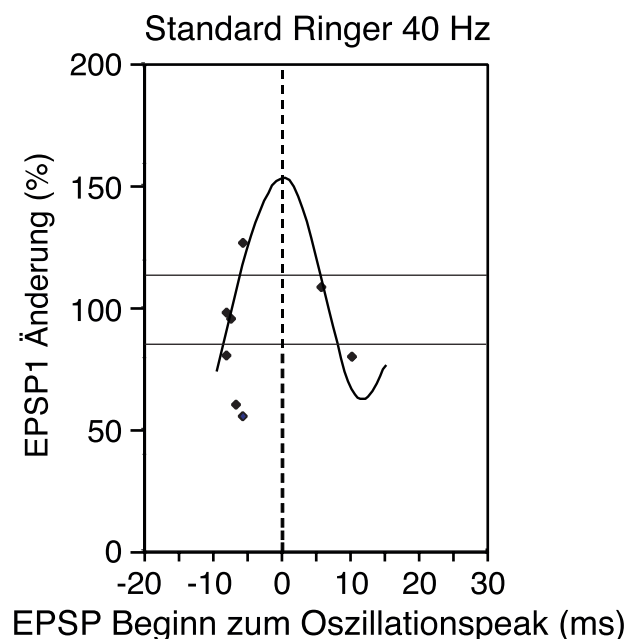


Abbildung 3-4: Synaptische Modifikationen als Funktion des Phasenwinkels zwischen EPSPs und 40 Hz Oszillation in Standard Ringer
Konventionen wie in Abbildung 3-3, Seite 47.

Ein auffälliges Ergebnis war, daß die phasenabhängige Reversibilität von LTP in einer Zelle demonstriert werden konnte. In dieser Zelle wurden nacheinander *Peak*- und *Trough*-Konditionierung appliziert. Das durch die *Peak*-Konditionierung induzierte LTP (127%) konnte durch die nachfolgende *Trough*-Konditionierung rückgängig gemacht werden (99%, Abb. 3-5).

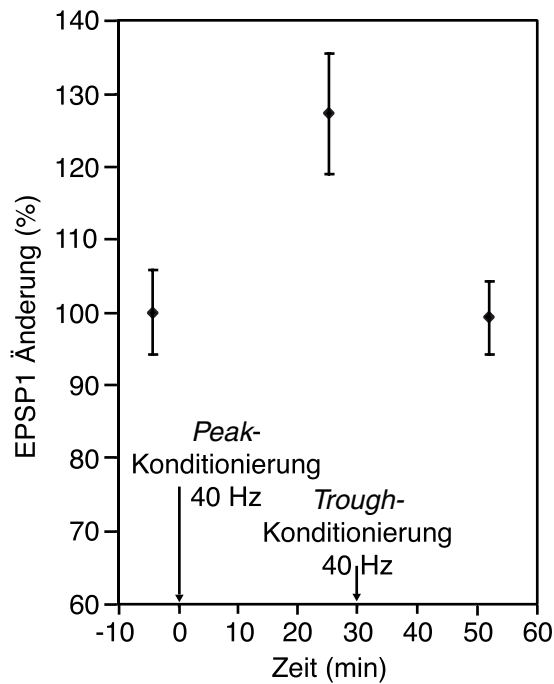


Abbildung 3-5: Phasenabhängige Reversibilität von LTP

In diesem Experiment wurde zuerst eine *Peak*- und 30 Minuten später eine *Trough*-Konditionierung (beides mit 20 Hz EPSPs und 40 Hz Oszillation) appliziert und somit die Reversibilität des zuerst induzierten LTP durch die zweite Konditionierung demonstriert. Jeder Punkt entspricht der prozentualen EPSP1 Amplitudenänderung gegenüber 5 Minuten vor der *Peak*-Konditionierung (jeweils 30 gemittelte Antworten 5 Minuten vor, 20-25 Minuten nach der *Peak*-, 15-20 Minuten nach der *Trough*-Konditionierung \pm Standardfehler).

Lokale Spezifität der synaptischen Modifikationen. Zusätzlich zu den EPSP-Messungen am konditionierten Input wurde die EPSP-Amplitude an einem zweiten Input gemessen. Dieser heterosynaptische Input blieb unkonditioniert. Das Ziel war zu untersuchen, ob sich die synaptischen Modifikationen nur auf die Synapsen beschränken, die während der Konditionierung aktiv waren oder ob sie auch benachbarte inaktive Synapsen betreffen können. In den meisten Fällen wurden keine heterosynaptischen Veränderungen beobachtet. Als Folge der *Peak*-Konditionierung wurde in einer Zelle heterosynaptisches LTP (136%), in einer Zelle heterosynaptisches LTD (61%) und in 4 Zellen keine EPSP-Veränderung ($97\% \pm 7\%$) gemessen. Die *Trough*-Konditionierung hatte keinen signifikanten Effekt auf den unkonditionierten Input (2 Zellen, 108%, 112%, Abb. 3-6).

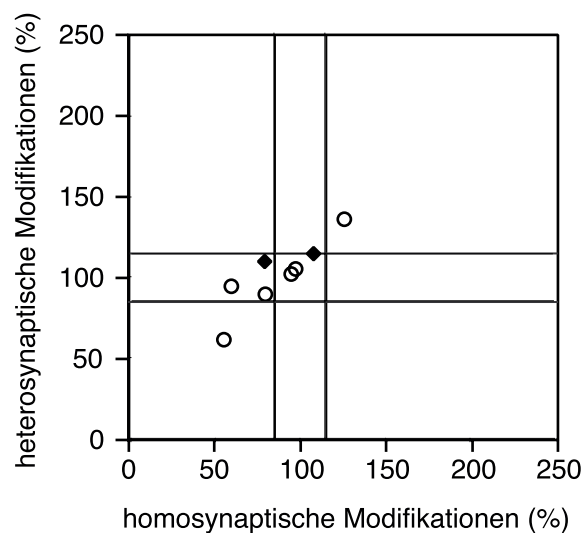


Abbildung 3-6: Hetero- versus homosynaptische Modifikationen (40 Hz OSZ-Konditionierung)

Jedes Symbol steht für ein Experiment und entspricht der prozentualen EPSP1 Amplitudenänderung 15-20 Minuten nach der Konditionierung gegenüber 5 Minuten vor der Konditionierung (jeweils gemittelt aus 30 Antworten) für den konditionierten (X-Achse) und den unkonditionierten Input (Y-Achse). Kreise: *Peak*-Konditionierungsexperimente, Rauten: *Trough*-Konditionierungsexperimente.

3.2 Cholinerge Neuromodulation oszillatorisch induzierter Plastizität

3.2.1 Allgemeine Carbachol Effekte

Der cholinerge Rezeptoragonist Carbachol (CCH, 5 μ M) wurde stets mit dem präsynaptischen cholinergen Rezeptorantagonist Gallamin (GAL, 50 μ M) co-appliziert. Allgemeine CCH Effekte auf die synaptische Übertragung und das Feuerverhalten wurden stichprobenartig in einigen Zellen untersucht. Das Einwaschen von CCH führte zu einer leichten V_m Depolarisation (+3 bis +8 mV, n=16 Zellen) und zur Erhöhung der synaptischen Hintergrundsaktivität (nicht quantifizierte Beobachtung am Oszilloskop). Trotz Hinzufügen von GAL, um einer präsynaptischen Depression entgegenzuwirken, nahm die EPSP Amplitude 5 Minuten nach dem Einwaschen ab ($64\% \pm 19\%$, n=9, Abb. 3-7A). In 7 von 9 Zellen verkürzte sich das Inter-AP-Intervall (Abb. 3-7B). Damit verschwand die für Pyramidenzellen charakteristische akkomodierende AP-Frequenz (1.58 durchschnittliches AP-Verhältnis 5 Minuten nach versus 5 Minuten vor dem Einwaschen, berechnet über allen Antworten auf injizierte depolarisierende Strompulse mit mindestens 5 APs). Der Eingangswiderstand blieb unverändert ($106\% \pm 6\%$, 5 Minuten nach dem Einwaschen, n=9, Abb. 3-7C). Gelegentlich konnte nach dem Evozieren von mehreren APs eine durch CCH induzierte Nachdepolarisation beobachtet werden (+1 bis +2.5 mV, etwa 1s, n=3 von 9 Zellen, Abb. 3-7D).

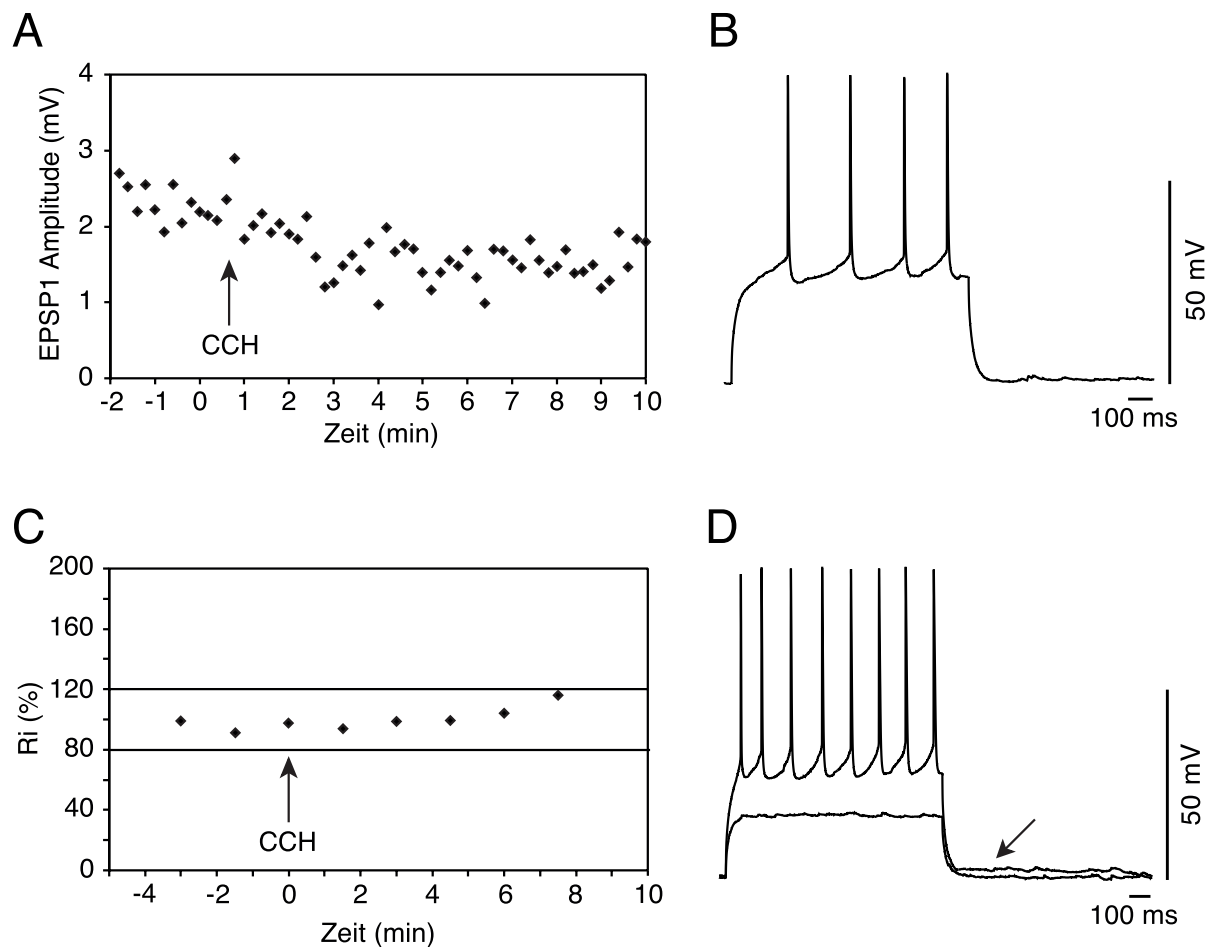


Abbildung 3-7: CCH Effekte

A CCH (5 μM) verringert die EPSP Amplitude. Jeder Punkt entspricht einer Messung in einer repräsentativen Zelle. Der Pfeil markiert den Zeitpunkt der CCH Applikation.

B Die für Pyramidenzellen typische akkomodierende AP-Frequenz (siehe Abbildung 2-4A) wird nach dem Einwaschen von CCH zur beschleunigenden AP-Frequenz (kürzer werdende Inter-AP-Intervalle).

C CCH verändert den Membranwiderstand (R_i) nicht. Jeder Punkt entspricht dem Mittelwert aus 4 konsekutiven Messungen in einer Zelle (ermittelt durch hyperpolarisierende Strompulse $I = -40 \text{ pA}$, $R = U/I$ Ohmsches Gesetz, prozentual zum durchschnittlichen Widerstand über die dargestellte Zeitspanne).

D Beispiel einer durch CCH induzierten Nachdepolarisation. Nach dem Feuern mehrerer APs kehrt die Zelle nicht wie nach unterschwelligen Antworten zum Ruhemembranpotential zurück (-78 mV, untere Kurve), sondern bleibt mehrere 100 ms lang leicht depolarisiert (-75 mV, obere Kurve, Pfeil).

3.2.2 Phasenabhängigkeit

Der Effekt cholinergischer Modulation auf oszillatorisch induzierte synaptische Plastizität wurde in 28 Zellen untersucht (15 Zellen *Peak*-Konditionierung, 13 Zellen *Trough*-Konditionierung). Die Aktivierung cholinergischer Rezeptoren durch CCH führte zu einer phasenabhängigen Trennung synaptischer Modifikationen. Als Folge der **Peak-Konditionierung** wurde **LTP** (5 Zellen 20 Hz, $127\% \pm 14\%$, 1 Zelle 40 Hz, 136%) oder **keine EPSP-Veränderung** (5 Zellen 20 Hz, $92\% \pm 6\%$, 4 Zellen 40 Hz, $105\% \pm 11\%$) beobachtet. Die **Trough-Konditionierung** hingegen induzierte **LTD** (6 Zellen 20 Hz, $63\% \pm 11\%$, 4 Zellen 40 Hz, $66\% \pm 11\%$) oder **keine EPSP-Veränderung** (2 Zellen 20 Hz, 95%, 99%, 1 Zelle 40 Hz, 100%). Die während cholinergischer Neuromodulation erzielten synaptischen Modifikationen waren in Abhängigkeit des Konditionierungsphasenwinkels signifikant unterschiedlich (*Peak*- versus *Trough*-Konditionierung 20 Hz, $p=0.005$, Abb. 3-8; *Peak*- versus *Trough*-Konditionierung 40 Hz, $p=0.016$, MW-Test, Abb. 3-9).

Abbildung 3-8: Beispiele von OSZ-Konditionierungen und daraus resultierenden synaptischen Modifikationen (CCH 20 Hz)

Mittleres graues Fenster: Konditionierungskonfiguration.

A *Peak*-Konditionierung.

B *Trough*-Konditionierung.

a Phasenwinkelbeziehung zwischen evozierten EPSPs (20 Hz) und V_m Oszillation (20 Hz) im Falle der *Peak*- (Aa) und der *Trough*-Konditionierung (Ba).

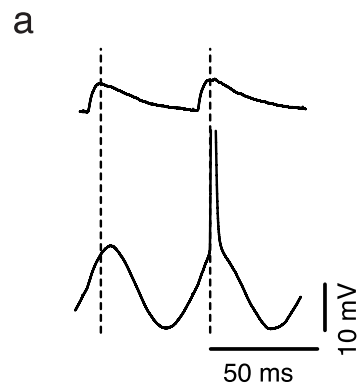
b Postsynaptische Antworten während der Konditionierung. Der gepunktete Rahmen weist auf die Kurvenausschnitte in Aa und Ba hin.

c Test-Stimulationsantworten 5 Minuten vor (pre, dick) bzw. 15-20 Minuten nach (post, dünn) der Konditionierung (jeweils gemittelt aus 30 Antworten). Die *Peak*-Konditionierung induzierte LTP, die *Trough*-Konditionierung LTD.

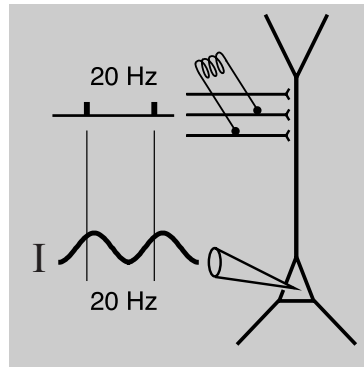
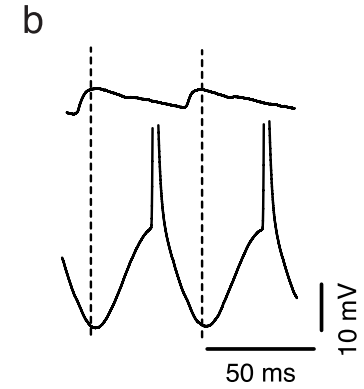
d Normalisierte EPSP1 Amplitude im Verlauf des Experiments (schwarzer Balken: Zeitpunkt der Konditionierung). Die horizontalen Linien entsprechen dem Mittelungsbereich in **c**.

e Ergebnisse nach OSZ-Konditionierung in CCH (20 Hz). Konventionen wie in Abbildung 3-3, Seite 47.

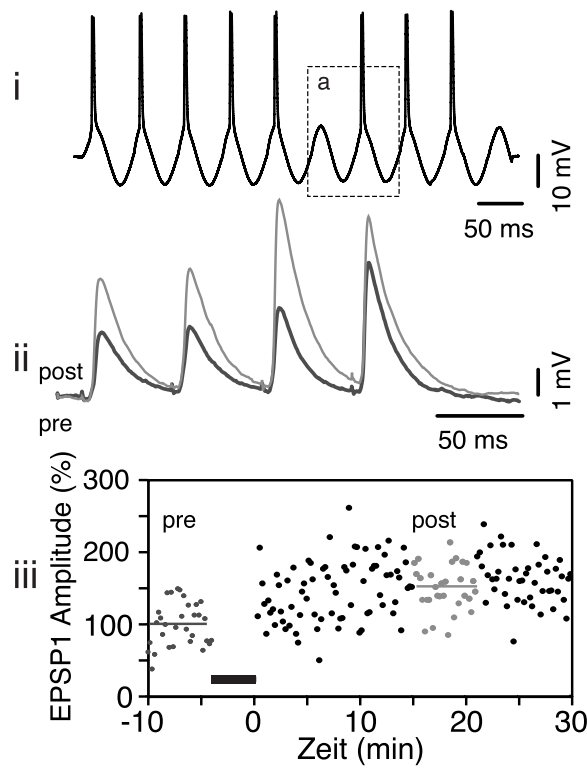
A Peak CCH 20 Hz



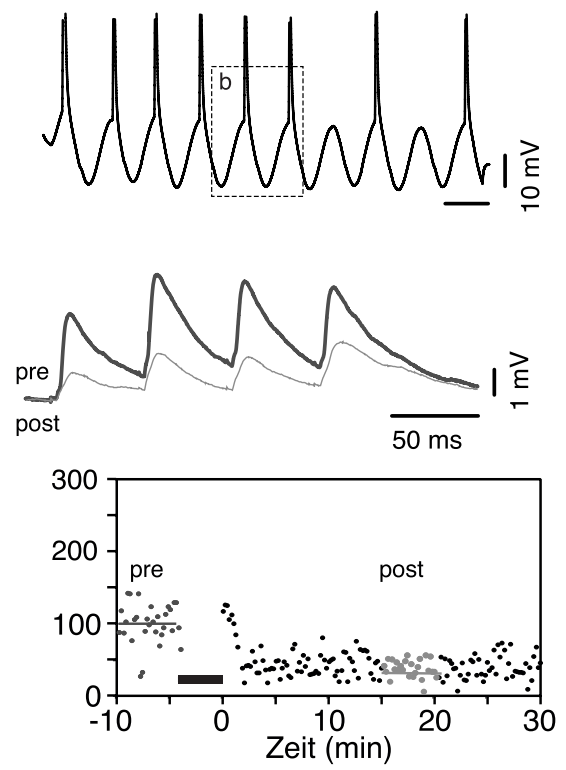
B Trough CCH 20 Hz



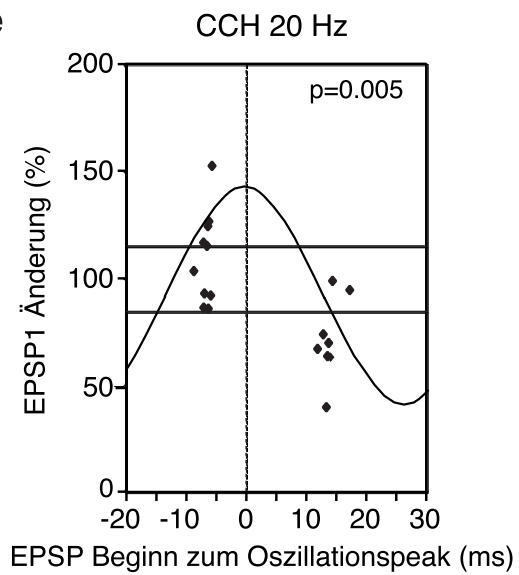
c



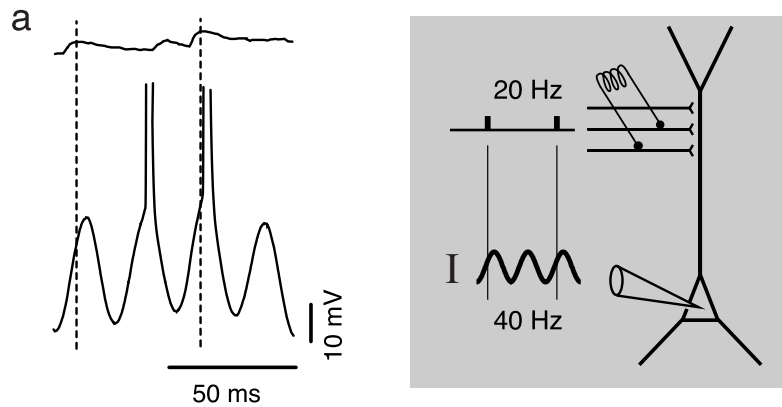
d



e



A Peak CCH 40 Hz



B Trough CCH 40 Hz

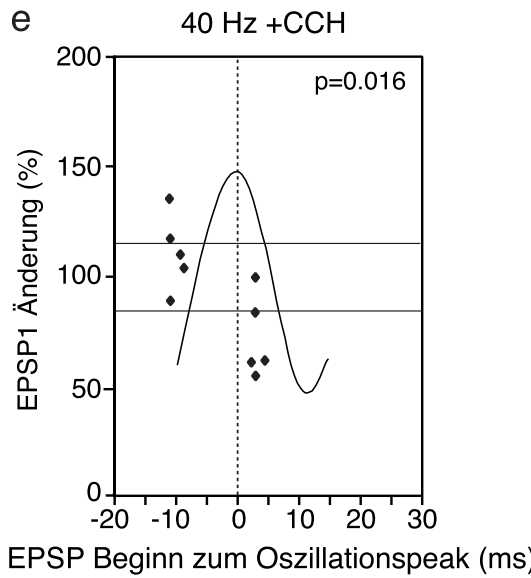
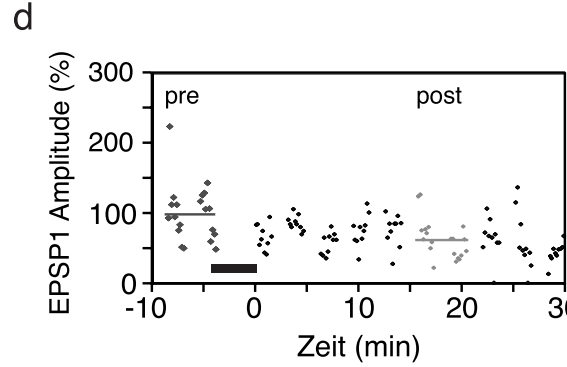
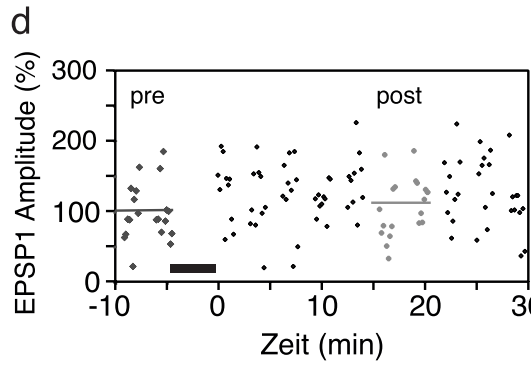
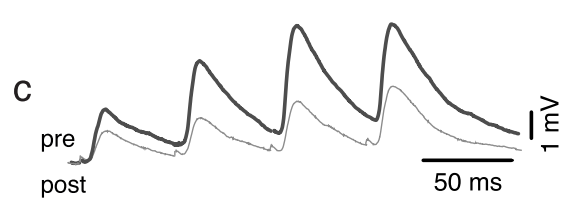
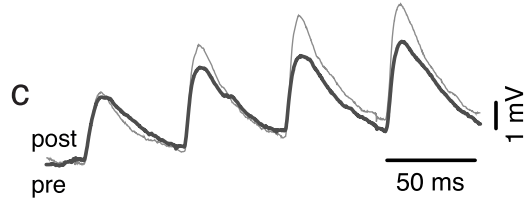
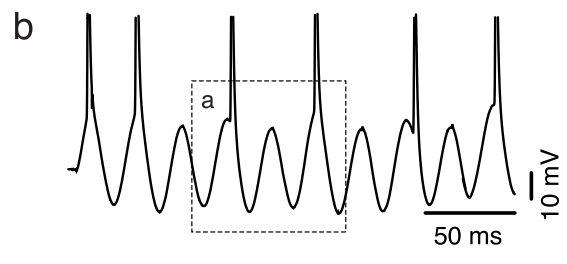
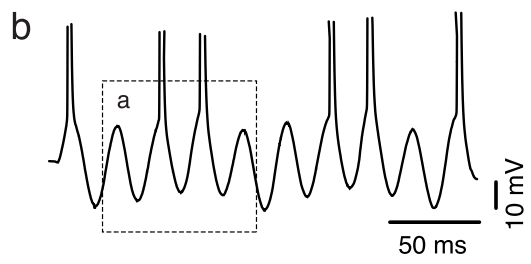
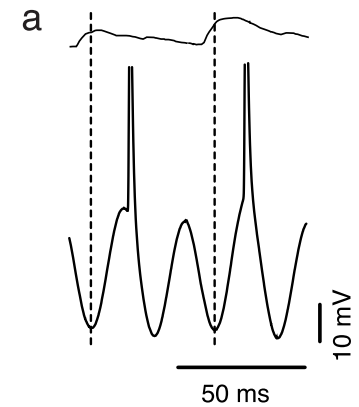


Abbildung 3-9: Beispiele von OSZ-Konditionierungen und daraus resultierenden synaptischen Modifikationen (CCH 40 Hz)

Mittleres graues Fenster: Konditionierungskonfiguration.

A *Peak*-Konditionierung.

B *Trough*-Konditionierung.

a Phasenwinkelbeziehung zwischen evozierten EPSPs (20 Hz) und V_m Oszillation (40 Hz) im Falle der *Peak*- (Aa) und der *Trough*-Konditionierung (Ba).

b Postsynaptische Antworten während der Konditionierung. Der gepunktete Rahmen weist auf die Kurvenausschnitte in Aa und Ba hin.

c Test-Stimulationsantworten 5 Minuten vor (pre, dick) bzw. 15-20 Minuten nach (post, dünn) der Konditionierung (jeweils gemittelt aus 20 Antworten). Die *Peak*-Konditionierung induzierte keine signifikante Änderung, die *Trough*-Konditionierung LTD.

d Normalisierte EPSP1 Amplitude im Verlauf des Experiments (schwarzer Balken: Zeitpunkt der Konditionierung). Die horizontalen Linien entsprechen dem Mittelungsbereich in **c**.

e Ergebnisse nach OSZ-Konditionierung in CCH (40 Hz). Konventionen wie in Abbildung 3-3, Seite 47.

In Experimenten mit 40 Hz OSZ-Konditionierung in CCH wurden auch heterosynaptische Modifikationen untersucht. Als Folge der *Peak*-Konditionierung wurde in 1 Zelle heterosynaptisches LTD (61%) und in 2 Zellen keine signifikante EPSP-Veränderung (120%, 111%) beobachtet. Die *Trough*-Konditionierung induzierte in 3 Zellen heterosynaptisches LTD ($74\% \pm 8\%$) und in 1 Zelle keine EPSP-Veränderung (91%, Abb. 3-10).

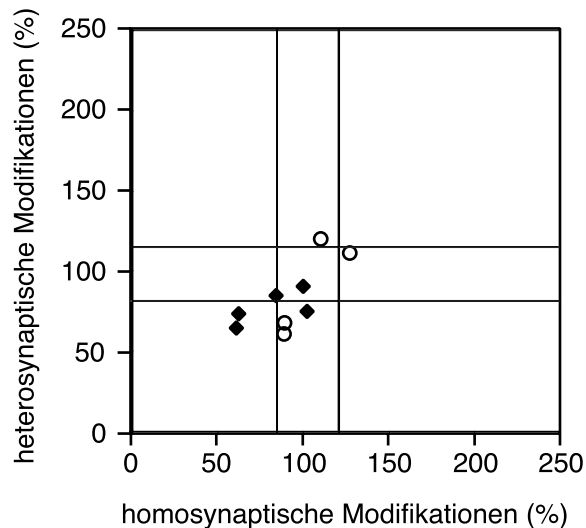


Abbildung 3-10: Hetero- versus homosynaptische Modifikationen (40 Hz OSZ-Konditionierung in CCH)

Kreise: *Peak*-Konditionierungs-Experimente, Rauten: *Trough*-Konditionierungs-Experimente. Konventionen wie in Abbildung 3-6, Seite 50.

Ausschluß von systematischen Fehlern. Eine mögliche Annahme wäre, daß für die Polarität synaptischer Modifikationen nicht der Phasenwinkel, sondern andere Unterschiede während der Konditionierung verantwortlich seien. Um systematische Fehler auszuschließen, wurden die Verteilungen verschiedener Konditionierungsparameter ergebnisbezogen verglichen (MW-Test). LTP- versus LTD-Fälle in Anwesenheit von CCH unterschieden sich voneinander weder durch die Anzahl evozierter APs ($p=0.305$), noch durch die Ausgangs-EPSP-Amplitude ($p=0.072$), noch durch das Haltepotential während der Konditionierung ($p=0.733$).

Die Verteilungen synaptischer Modifikationen nach OSZ-Konditionierung (20 Hz und 40 Hz in CCH) sind in Abbildung 3-11 als Funktion dieser unterschiedlichen Parameter dargestellt.

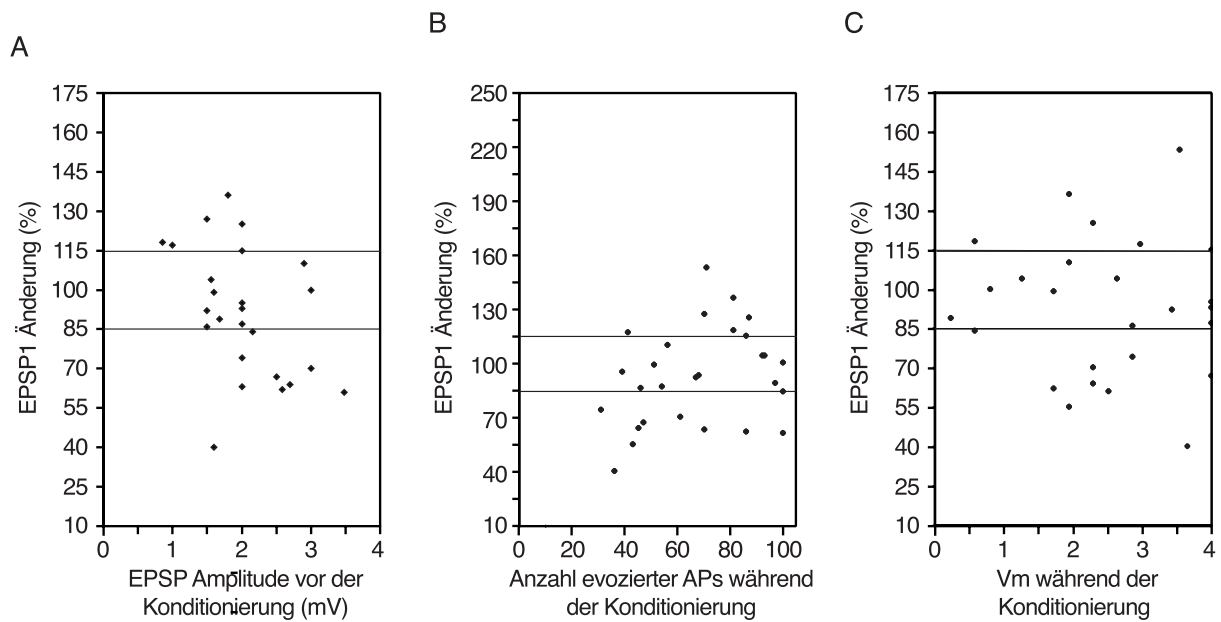


Abbildung 3-11: Synaptische Modifikationen als Funktion verschiedener Konditionierungsparameter

Synaptische Modifikationen nach OSZ-Konditionierung in CCH (20 Hz und 40 Hz) als Funktion **A** der EPSP-Amplitude, **B** der AP-Anzahl und **C** des Haltepotentials (V_m).

3.3 Noradrenerge Neuromodulation oszillatorisch induzierter Plastizität

3.3.1 Allgemeine Isoproterenol Effekte

Der *beta*-adrenerger Rezeptoragonist Isoproterenol (ISO, 10 μ M) hatte keinen signifikanten Effekt auf das V_m noch auf die synaptische Hintergrundsaktivität ($n=7$ Zellen). Die EPSP Amplitude nahm 5 bis 10 Minuten nach Einwaschen von ISO im Durchschnitt leicht zu ($116\% \pm 15\%$, $n=7$, Abb. 3-12A). Zusätzlich führte ISO zu einer AP-Verbreiterung. Dadurch nahm die durch Strominjektion evozierte AP-Anzahl leicht ab (0.85: durchschnittliches AP-Verhältnis 5 Minuten nach gegenüber 5 Minuten vor dem Einwaschen, berechnet über allen Antworten auf injizierte depolarisierende Strompulse mit mindestens 7 APs, $n=6$). In einer Zelle verkürzte sich das Inter-AP-Intervall (Abb. 3-12B). Der Eingangswiderstand ($97\% \pm 2\%$,

5 Minuten nach dem Einwaschen, n=7) wurde durch die ISO-Applikation nicht beeinflusst (Abb. 3-12C).

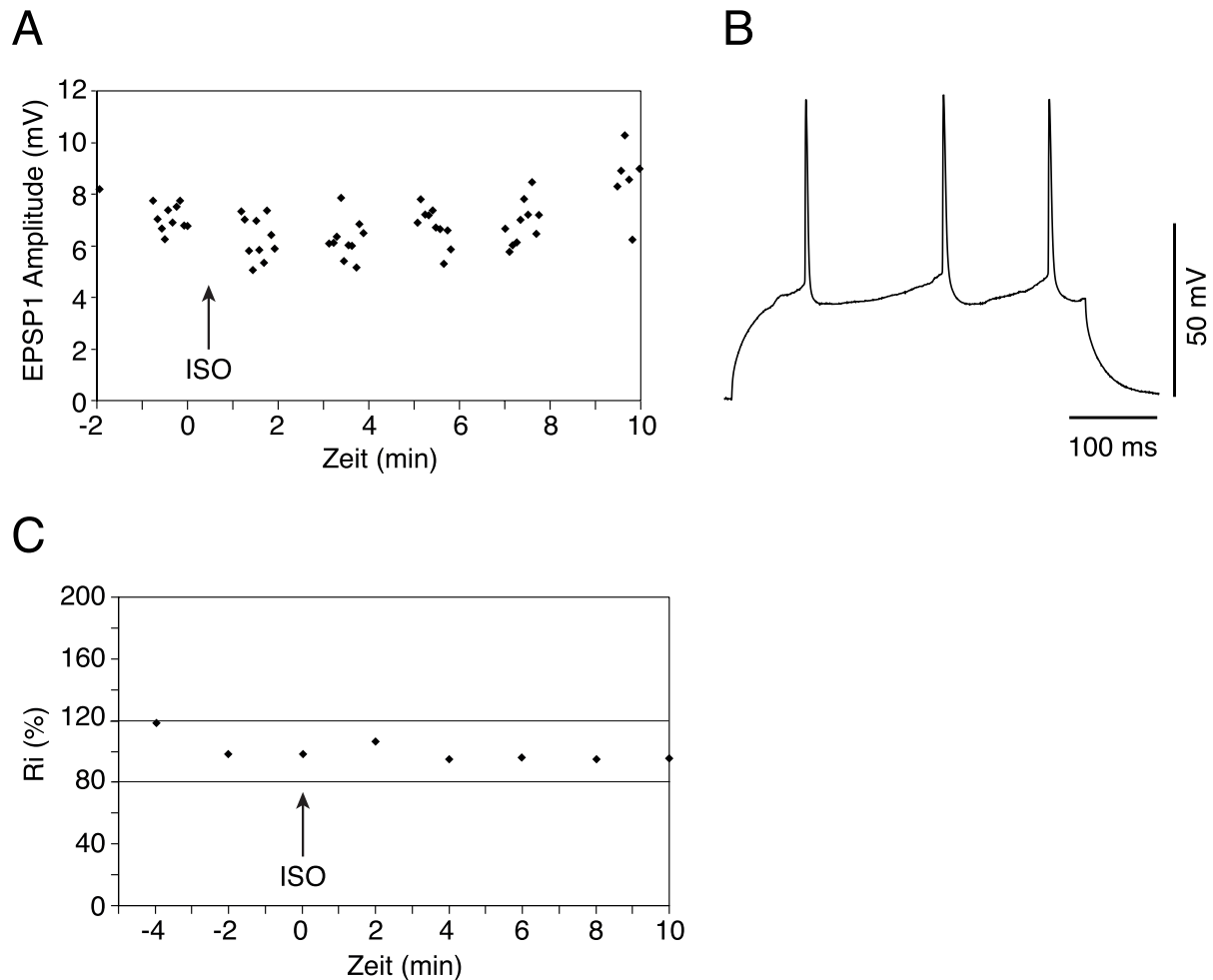


Abbildung 3-12: ISO Effekte

A ISO (10 μ M) erhöht leicht die EPSP Amplitude. Jeder Punkt entspricht einer Messung in einer repräsentativen Zelle. Der Pfeil markiert den Zeitpunkt der ISO Applikation.

B Eine Beschleunigung der AP-Frequenz (kürzer werdendes Inter-AP-Intervall) wurde in einer Zelle beobachtet.

C ISO hatte keinen Effekt auf den Eingangswiderstand (R_i). Jeder Punkt entspricht dem Mittelwert aus 4 konsekutiven Messungen in einer Zelle (ermittelt durch hyperpolarisierende Strompulse $I=-40$ pA, $R=U/I$ nach dem Ohmschen Gesetz) prozentual zum durchschnittlichen Widerstand über die dargestellte Zeitspanne.

3.3.2 Plastizität

Der Effekt noradrenerger Modulation auf oszillatorisch induzierte synaptische Plastizität wurde in 6 Zellen untersucht (nach *Peak*-Konditionierung). Während der Aktivierung *beta*-adrenerger Rezeptoren durch ISO führte die *Peak*-Konditionierung in allen Zellen zu homosynaptischem LTD (6 Zellen, $61\% \pm 22\%$, Abb. 3-13) und heterosynaptischem LTD (6 Zellen, $55\% \pm 11\%$, Abb. 3-14).

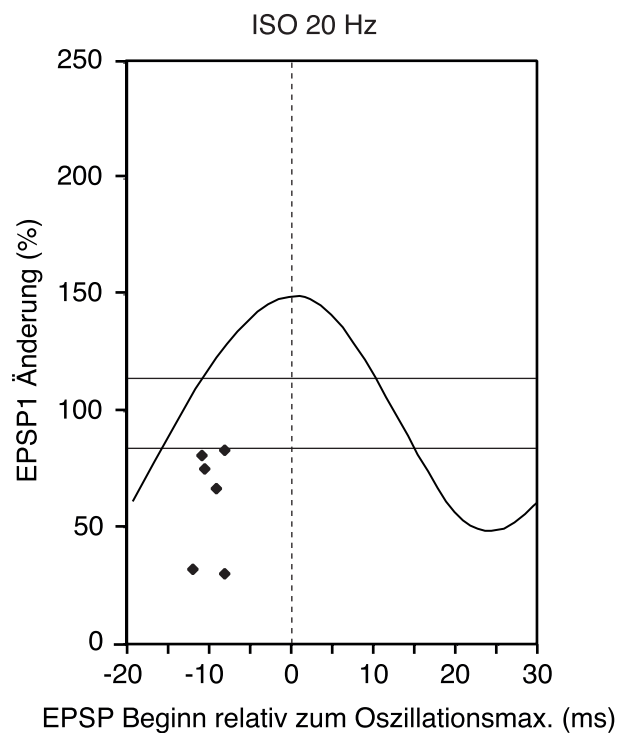


Abbildung 3-13: Synaptische Modifikationen nach Peak-Konditionierung in ISO

Die Aktivierung *beta*-adrenerger Rezeptoren durch ISO führte nach *Peak*-Konditionierung nur zu LTD. Konventionen wie in Abbildung 3-3, Seite 47.

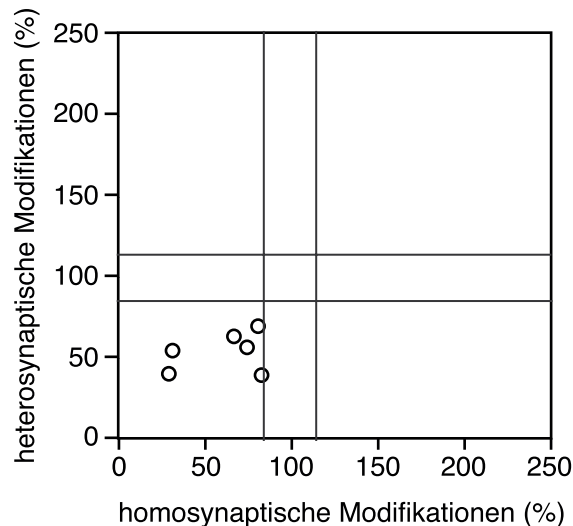


Abbildung 3-14: Hetero- versus homosynaptische Modifikationen während noradrenerger Modulation (*Peak*-Konditionierung +ISO)

Kreise: *Peak*-Konditionierungsexperimente. Konventionen wie in Abbildung 3-6, Seite 50.

3.4 Mechanismen

3.4.1 Rolle von NMDA-Rezeptoren

Die Beteiligung von NMDA-Rezeptoren an oszillatorisch induzierten synaptischen Modifikationen wurde untersucht, indem der NMDA-Rezeptorantagonist APV (50 μ M) während des Experiments appliziert wurde (4 Zellen *Peak*-Konditionierung und 6 Zellen *Trough*-Konditionierung in Standard Ringer, 6 Zellen *Peak*-Konditionierung in CCH). Die Ergebnisse werden in Abb. 3-15 verdeutlicht. Während der NMDA-Rezeptorblockade konnte kein LTP induziert werden. Sowohl die *Peak*-Konditionierung als auch die *Trough*-Konditionierung führten zu LTD (*Peak*: 2 Zellen, 77% und 52%, *Trough*: 3 Zellen, 64% \pm 9%, *Peak* +CCH: 3 Zellen, 75% \pm 8%) oder zu keiner synaptischen Änderung (*Peak*: 2 Zellen, 88% und 86%, *Trough*: 3 Zellen, 112% \pm 1%, *Peak* +CCH: 3 Zellen, 99% \pm 9%). Heterosynaptische Modifikationen kamen vereinzelt als heterosynaptisches LTD vor (*Peak*: 2 Zellen, 84% und 67%, *Trough*: 2 Zellen, 59% und 47%) oder wurden nicht beobachtet (*Peak*: 2 Zellen, 89% und 107%, *Trough*: 3 Zellen, 110% \pm 28%, Abb. 3-16).

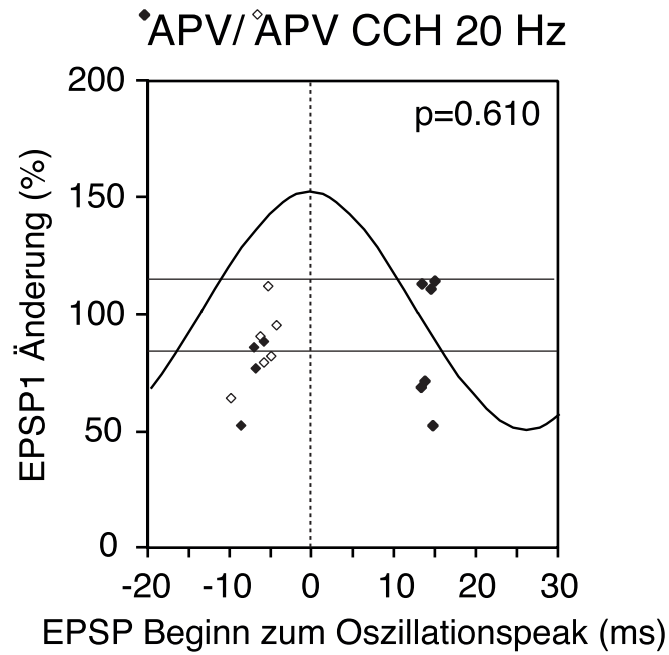


Abbildung 3-15: LTP ist NMDA-Rezeptor-abhängig, LTD ist es nicht.

Synaptische Modifikationen als Funktion des Phasenwinkels zwischen EPSPs und Oszillation in APV in Standard Ringer (schwarze Symbole) und APV in CCH (weiße Symbole). Konventionen wie in Abbildung 3-3, Seite 47.

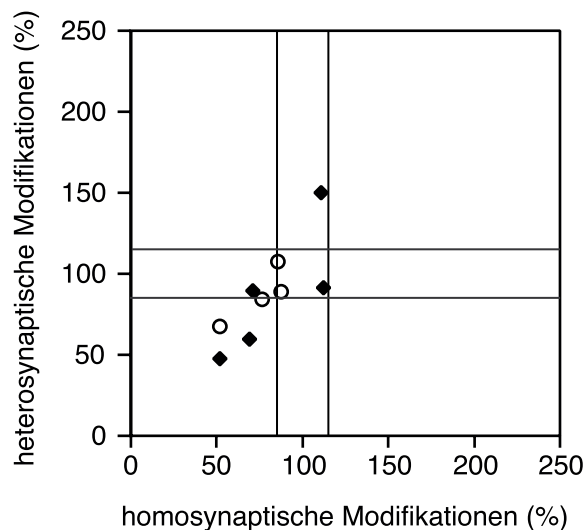


Abbildung 3-16: Hetero- versus homosynaptische Modifikationen während NMDA-Rezeptor-Blockade

Experimente mit APV in Standard Ringer. Kreise: Peak-Konditionierungs-Experimente, Rauten: Trough-Konditionierungs-Experimente. Konventionen wie in Abbildung 3-6, Seite 50.

3.4.2 Einfluß von cholinergen Rezeptoren

Um den Effekt cholinergischer Rezeptoren auf oszillatorisch induzierte synaptische Plastizität zu isolieren, wurde der muskarinische Rezeptorantagonist Scopolamin (SCO, 10 μM) mit dem nikotinischen Rezeptorantagonist Hexamethonium (HEX, 100 μM) co-appliziert. Unter diesen Bedingungen wurde in 1 Zelle keine synaptische Änderung nach *Peak*-Konditionierung beobachtet (107%). Doch in allen anderen Zellen wurde unabhängig vom Phasenwinkel der Konditionierung LTD induziert (*Peak*: 8 Zellen $62\% \pm 13\%$, *Trough*: 5 Zellen, $58\% \pm 7\%$, $p=0.594$, MW-Test, Abb. 3-17).

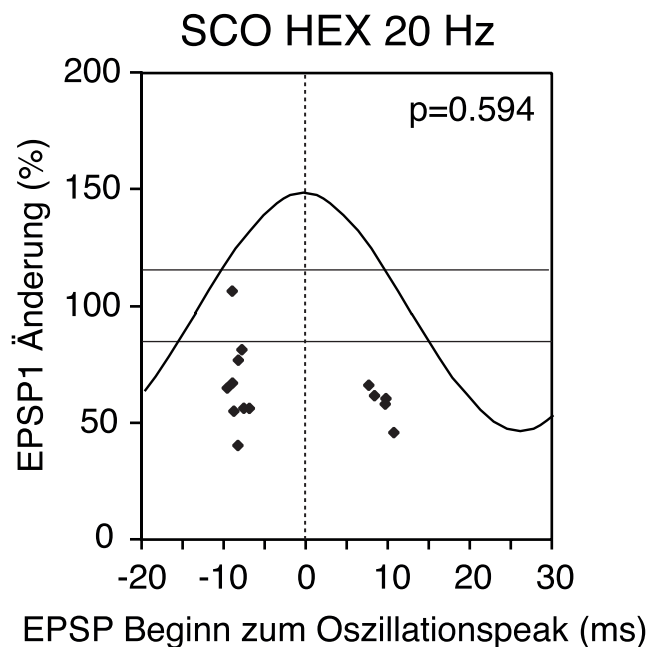


Abbildung 3-17: Synaptische Modifikationen als Funktion des Phasenwinkels zwischen EPSPs und Oszillation in SCO+HEX

Die Blockade cholinergischer Rezeptoren durch SCO und HEX führte zu phasenunabhängigem LTD (nach *Peak*- und *Trough*-Konditionierung). Konventionen wie in Abbildung 3-3, Seite 47.

Weiterführende Experimente dienten der Identifizierung der involvierten cholinergen Rezeptoren (muskarinische versus nikotinische Rezeptoren). Hierzu wurde der muskarinischer Rezeptorantagonist Scopolamin (SCO, 10 μ M) während der cholinergen Aktivierung (CCH, 5 μ M, GAL, 50 μ M) appliziert. In 1 Zelle wurde LTP (132%), in 5 Zellen LTD (63% \pm 13%), in 2 Zellen keine synaptische Änderung (108%, 114%, Abb. 3-18) induziert. Heterosynaptische Modifikationen traten begleitend als LTD auf (4 Zellen, 73% \pm 21%) oder blieben aus (4 Zellen, 101% \pm 12%, Abb. 3-19).

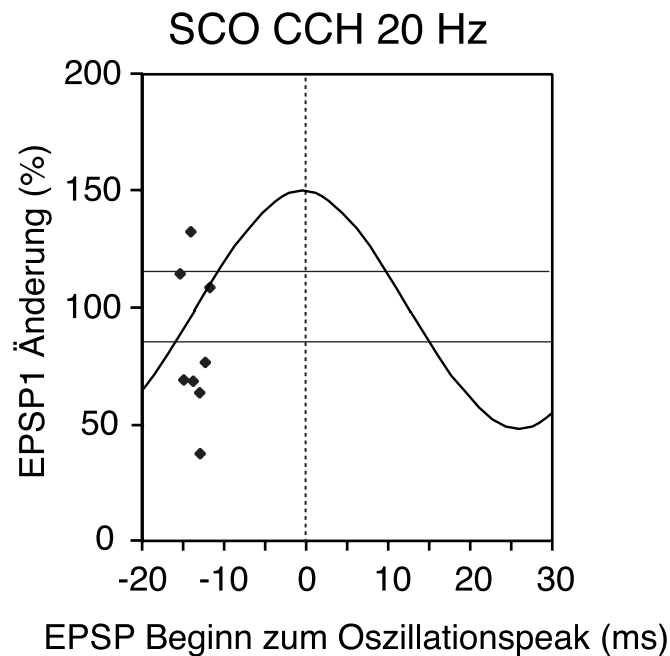


Abbildung 3-18: Synaptische Modifikationen während muskarinischer Rezeptor-Blockade

Die Blockade muskarinischer Rezeptoren durch SCO in CCH führte hauptsächlich zu LTD nach *Peak*-Konditionierung, jedoch wurde ein LTP-Fall beobachtet. Konventionen wie in Abbildung 3-3, Seite 47.

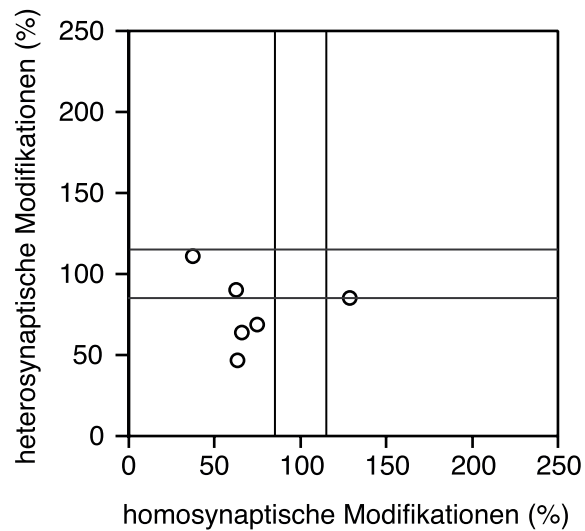


Abbildung 3-19: Hetero- versus homosynaptische Modifikationen während muskarinischer Rezeptor-Blockade

Experimente mit SCO in CCH. Kreise: *Peak*-Konditionierungsexperimente. Konventionen wie in Abbildung 3-6, Seite 50.

3.4.3 Kontroll-Oszillationen (ohne EPSPs)

In fünf Kontrollexperimenten wurde der Einfluß überschwelliger V_m Oszillationen untersucht, ohne daß EPSPs durch afferente Stimulation evoziert wurden (Abb. 2-6). Die rein postsynaptisch oszillatorische V_m Modulation löste keine synaptischen Modifikationen aus ($103\% \pm 4\%$, Abb. 3-20).

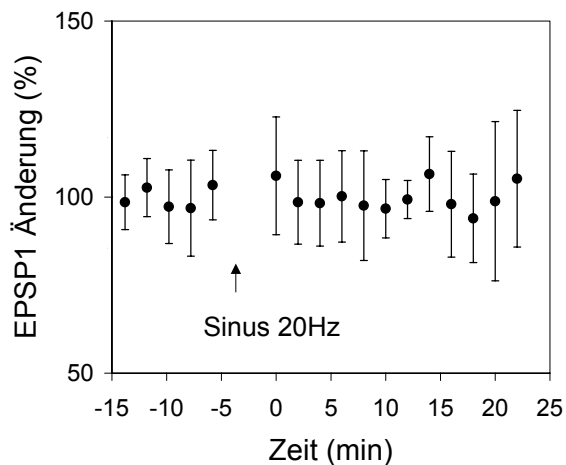


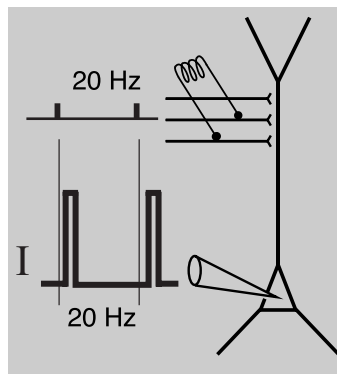
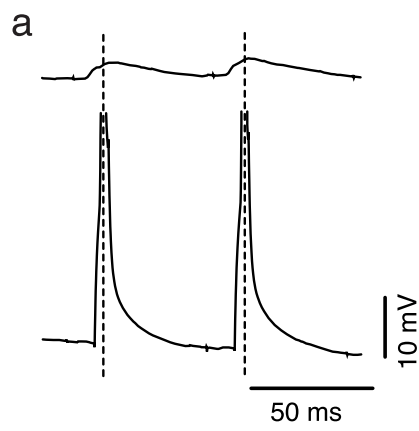
Abbildung 3-20: Kontroll-Oszillationen

Die reine postsynaptische oszillatorische V_m Modulation (20 Hz) ohne präsynaptische Aktivierung (ohne EPSPs) induzierte keine synaptische Modifikation. Jedes Symbol entspricht dem Mittelwert aus zehn konsekutiven Messungen der EPSP1 Amplitude in 5 Zellen (prozentual zum Mittelwert 5 Minuten vor der Konditionierung \pm Standardabweichung).

3.4.4 AP-Konditionierung (ohne Oszillation)

In Experimenten mit AP-Konditionierung wurde der Frage nachgegangen, inwiefern die oszillatorische V_m Modulation für die beobachteten Plastizitätsergebnisse entscheidend ist. Im Gegensatz zur OSZ-Konditionierung wurden bei der AP-Konditionierung die APs (20 Hz) nicht durch die Oszillation, sondern durch kurze depolarisierende Strompulse ausgelöst (Abb. 2-6). Auch hier wurden EPSPs (20 Hz) in einem spezifischen Phasenwinkelverhältnis zu den APs evoziert. Sie waren entweder koinzident mit den APs (1 ± 2 ms vor dem folgenden AP, 10 Zellen in Standard Ringer, 9 Zellen in CCH, siehe Beispiel in Abb. 3-21) oder phasenversetzt (21 ± 3 ms nach dem vorigen AP, 6 Zellen in Standard Ringer, 5 Zellen in CCH, 158° Phasenwinkelverschiebung).

A koinzident



B phasenversetzt

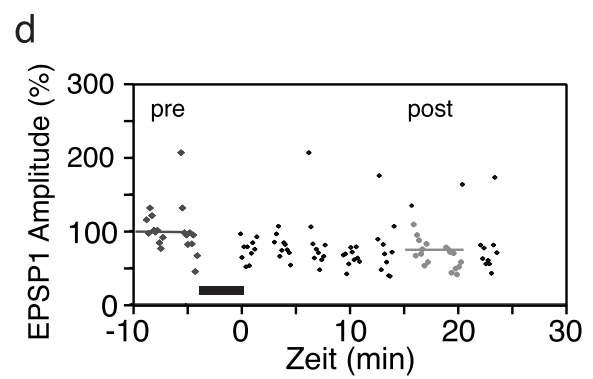
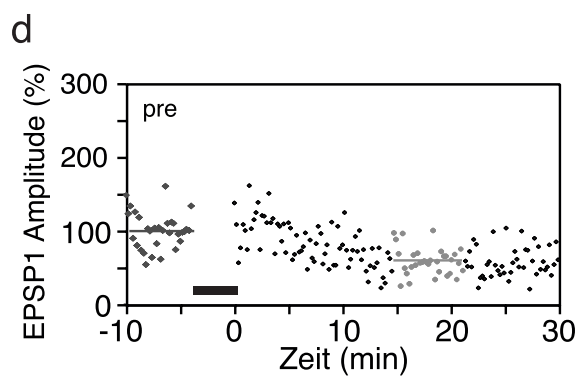
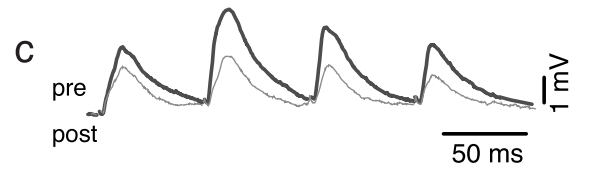
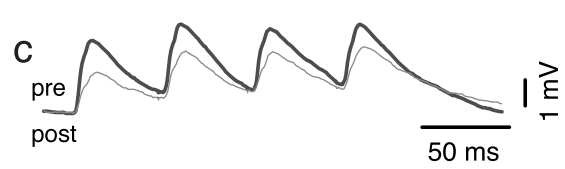
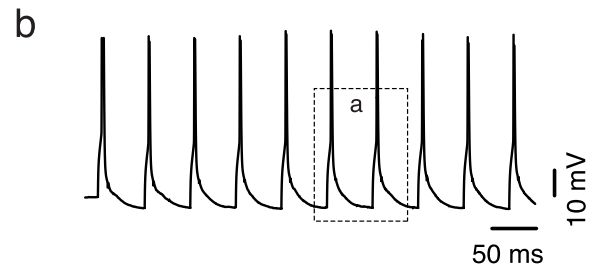
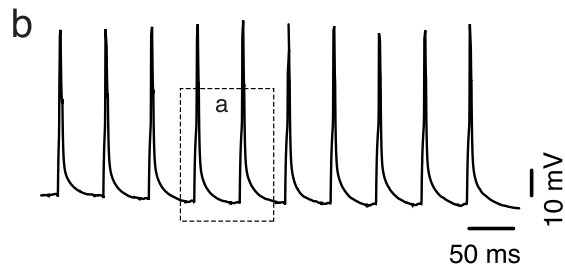
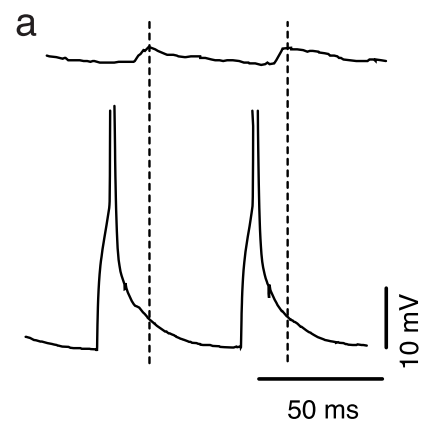


Abbildung 3-21: Beispiele nach AP-Konditionierung

Mittleres graues Fenster: Konditionierungskonfiguration.

A koinzidente AP-Konditionierung.

B phasenversetzte AP-Konditionierung.

a Phasenwinkelbeziehung zwischen evozierten EPSPs (20 Hz) und APs (20 Hz) im Falle der koinzidenten (Aa) und der phasenversetzten AP-Konditionierung (Ba).

b Postsynaptische Antworten während der Konditionierung. Der gepunktete Rahmen weist auf die Kurvenausschnitte in Aa und Ba hin.

c Test-Stimulationsantworten 5 Minuten vor (pre, dick) bzw. 15-20 Minuten nach (post, dünn) der Konditionierung (jeweils gemittelt aus 20 oder 30 Antworten). Koinzidente und phasenversetzte AP-Konditionierungen induzierten beide LTD.

d Normalisierte EPSP1 Amplitude im Verlauf des Experiments (schwarzer Balken: Zeitpunkt der Konditionierung). Die horizontalen Linien entsprechen dem Mittelungsbereich in c.

In Standard Ringer induzierte die koinzidente AP-Konditionierung LTD (4 Zellen, $54\% \pm 12\%$) oder keine synaptische Änderung (6 Zellen, $102\% \pm 6\%$). Auch die phasenversetzte AP-Konditionierung löste LTD (3 Zellen, $62\% \pm 15\%$) oder keine synaptische Änderung (3 Zellen, $104\% \pm 10\%$) aus (Abb. 3-22). Im unconditionierten Input zeigte sich heterosynaptisches LTD (koinzident 2 Zellen, 57% und 74%, phasenversetzt 3 Zellen, $55\% \pm 15\%$) oder keine Änderung (koinzident 4 Zellen, $99\% \pm 11\%$, phasenversetzt 2 Zellen, 94% und 99%, Abb. 3-23).

Auch nach Zusatz von CCH induzierte die AP-Konditionierung kein LTP. Als Folge koinzidenter Konditionierung wurde nur LTD (9 Zellen, $61\% \pm 14\%$), als Folge phasenversetzter Konditionierung LTD (2 Zellen, 50% und 82%) oder keine Änderung (3 Zellen, $102\% \pm 9\%$) beobachtet. Somit waren die Ergebnisse nach AP-Konditionierung in Standard Ringer und in CCH unabhängig vom Phasenwinkel zwischen EPSPs und APs (Standard Ringer $p=0.871$, CCH $p=0.053$, MW-Test, Abb. 3-22).

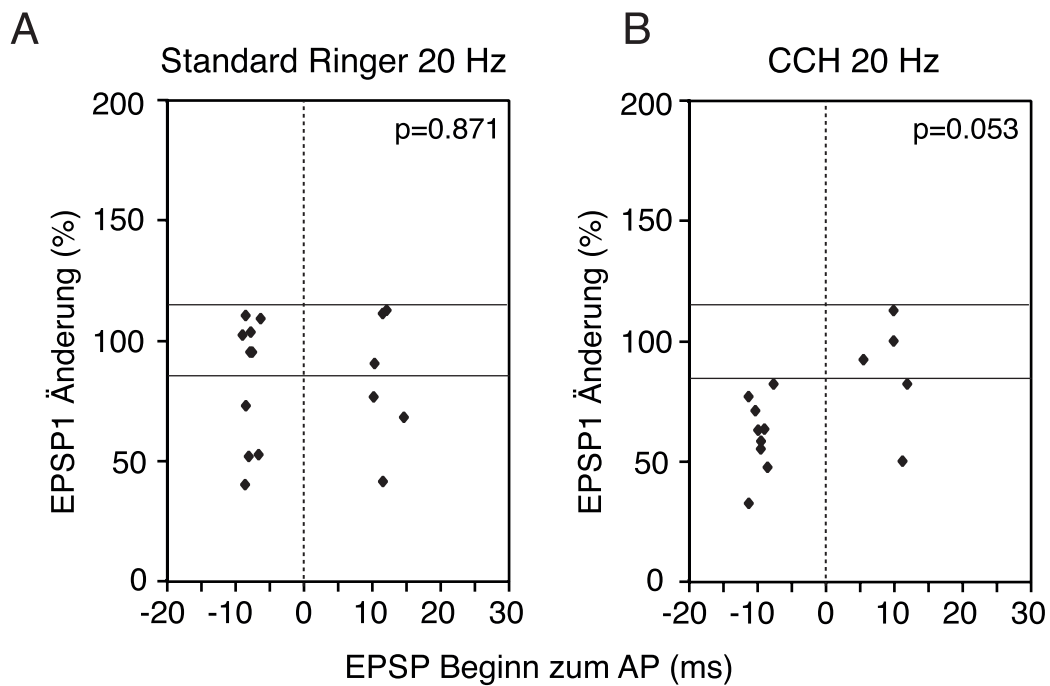


Abbildung 3-22: Synaptische Modifikationen als Funktion des Phasenwinkels zwischen EPSPs und APs

A In Standard Ringer induzierte die AP-Konditionierung unabhängig vom Phasenwinkel ausschließlich LTD.

B In CCH wurde ebenfalls unabhängig vom Phasenwinkel LTD induziert. Jeder Punkt steht für ein Experiment und entspricht der prozentualen EPSP1 Amplitudenänderung 15-20 Minuten nach der Konditionierung gegenüber 5 Minuten vor der Konditionierung (jeweils gemittelt aus 20 oder 30 Antworten). Die Position jedes einzelnen Punktes gibt das Phasenwinkelverhältnis zwischen EPSPs und APs während der Konditionierung wieder. Der in **B** angegebene p-Wert (MW-Test) ist das Ergebnis des statistischen Vergleichs aller koinzidenten versus phasenversetzten Konditionierungs-Experimente.

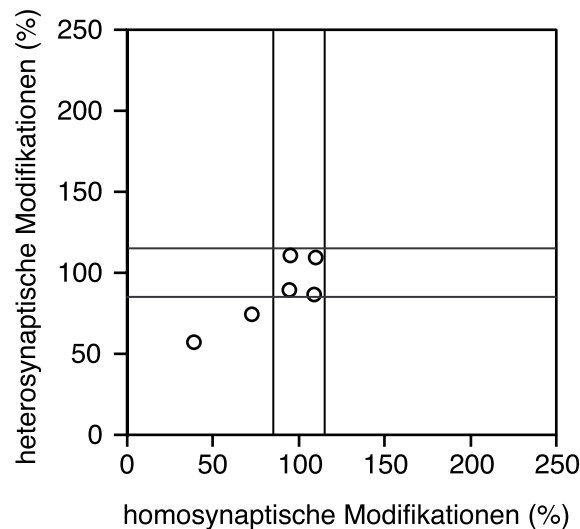


Abbildung 3-23: Hetero- versus homosynaptische Modifikationen nach AP-Konditionierung

AP-Konditionierungs-Experimente in Standard Ringer Kreise: koinzidente Konditionierungs-Experimente. Konventionen wie in Abbildung 3-6, Seite 50.

3.4.5 Globale synaptische Regulierung

Synaptische Modifikationen wurden nur aufgrund Amplitudenänderungen des ersten EPSPs (EPSP1) der Test-Stimulation in LTP bzw. LTD eingeteilt. Doch die Polaritätsänderungen von EPSP2, EPSP3 und EPSP4 ähnelten in 125 von 129 Zellen denen von EPSP1 (Tabelle 1). Diese globale Regulierung der synaptischen Stärke an allen 4 EPSPs ist aus den Abbildungen 3-2, 3-8, 3-9 und 3-21 ersichtlich, da hier die EPSP-Veränderungen in einem LTP-Beispiel (*Peak*-Konditionierung) und in fünf LTD-Beispielen (*Trough*- und AP-Konditionierung) abgebildet sind. Dagegen wurden in 4 Zellen die 4 EPSPs unterschiedlich reguliert. Diese Differentialregulierung stellt eine Umverteilung der synaptischen Effizienz dar [*redistribution of synaptic efficacy* (Markram, Tsodyks, 1996)]. Dies verändert die Dynamik der synaptischen Übertragung, indem bestimmte Frequenzen und Aktivitätsmodi (phasisch versus tonisch) bevorzugt übertragen werden können (Abb. 3-24).

Konditionierung	Freq.	Pharmakologie	Plastizität	EPSP1		EPSP2		EPSP3		EPSP4		n
				Mittelwert	St. Abw.	Mittelwert	St. Abw.	Mittelwert	St. Abw.	Mittelwert	St. Abw.	
Peak	20 Hz	Standard Ringer	LTD	67	16	78	15	75	17	71	15	n=7
Peak	40 Hz	Standard Ringer	LTP	126		110		171		166		n=1
Peak	40 Hz	Standard Ringer	LTD	65	11	57	21	66	14	63	15	n=3
Peak	20 Hz	CCH	LTP	127	14	130	22	131	27	121	23	n=5
Peak	40 Hz	CCH	LTP	136		109		118		118		n=1
Peak	20 Hz	ISO	LTD	61	22	62	17	63	15	60	16	n=6
Peak	20 Hz	SCO + HEX	LTD	62	13	55	12	61	15	72	19	n=8
Peak	20 Hz	SCO + CCH	LTP	132		78		84		85		n=1
Peak	20 Hz	SCO + CCH	LTD	63	13	68	6	69	17	65	13	n=5
Peak	20 Hz	APV	LTD	77, 52		85, 67		92, 67		81, 69		n=2
Peak	20 Hz	APV +CCH	LTD	75	8	76	8	78	14	81	6	n=3
Trough	20 Hz	Standard Ringer	LTD	63	8	63	2	68	10	63	5	n=4
Trough	40 Hz	Standard Ringer	LTD	79		74		79		83		n=1
Trough	20 Hz	CCH	LTD	63	11	71	22	73	29	83	37	n=6
Trough	40 Hz	CCH	LTD	66	11	59	10	62	9	66	3	n=4
Trough	20 Hz	SCO + HEX	LTD	58	7	59	18	56	19	62	22	n=5
Trough	20 Hz	APV	LTD	64	9	67	7	73	17	66	16	n=3
koinzident-AP	20 Hz	Standard Ringer	LTD	54	12	58	19	60	16	64	20	n=4
koinzident-AP	20 Hz	CCH	LTD	61	14	68	18	70	31	69	31	n=9
phasenversetzt-AP	20 Hz	Standard Ringer	LTD	62	15	59	15	55	11	55	8	n=3
phasenversetzt-AP	20 Hz	CCH	LTD	50, 82		50, 57		54, 63		62, 81		n=2

Tabelle 1: Modifikationen der 4 Test-Stimulations-EPSPs nach unterschiedlichen Konditionierungen

Prozentuale Änderung von EPSP1, EPSP2, EPSP3 und EPSP4 15-20 Minuten nach relativ zu 5 Minuten vor der Konditionierung. Die Bedingungen der jeweiligen Konditionierung können aus den 3 ersten Spalten entnommen werden. Die Plastizitätsergebnisse (vierte Spalte) sind aufgrund signifikanter EPSP1-Änderungen (Mittelwert und Standardabweichung) über n Zellen (letzte Spalte) klassifiziert worden. Bei einer Anzahl von Zellen geringer als 3 sind Einzelwerte aufgeführt.

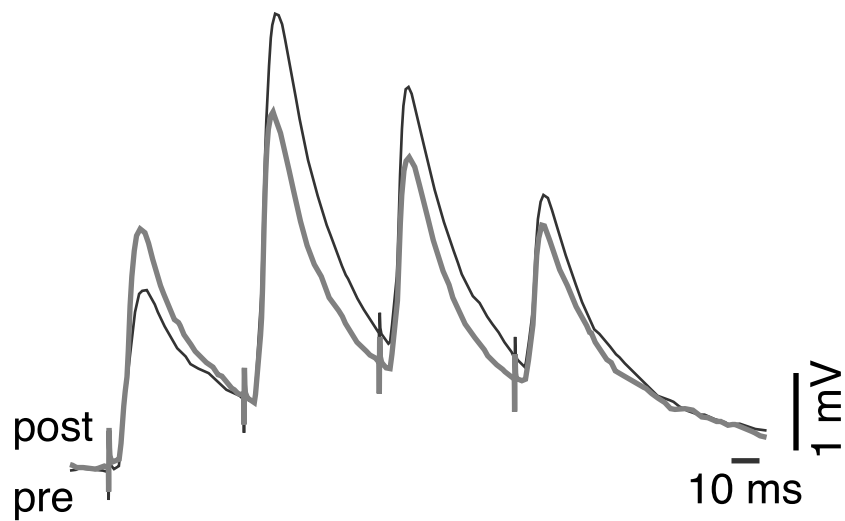


Abbildung 3-24: Veränderung der synaptischen Dynamik

Beispiel einer unterschiedlichen Regulierung von EPSP1, EPSP2, EPSP3 und EPSP4 nach *Peak*-Konditionierung (in SCO und CCH). Test-Stimulationsantworten 5 Minuten vor (dick) bzw. 15 Minuten nach (dünn) der Konditionierung (jeweils gemittelt aus 20 Antworten). EPSP1 wurde größer, EPSP2 und EPSP3 wurden kleiner, EPSP4 blieb unverändert. Dadurch wurden die 4 EPSPs auf eine ähnliche Amplitude eingeebnet. Daher kann eine effektivere synaptische Übertragung tonischer Aktivität nach der Konditionierung, versus phasischer Aktivität davor, erwartet werden.