

Aus der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Dopaminerge Modulation synaptischer Plastizität im *Subikulum*

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Elisabeth Roggenhofer

aus Amberg

Gutachter:

1. *Priv.-Doz. Dr. med. J. Behr*
2. *Prof. Dr. med. U. Heinemann*
3. *Prof. Dr. med. A. Draguhn*

Datum der Promotion: 3. September 2010

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	5
1 Einleitung	7
1.1 Hippokampale Formation	8
1.1.1 Konsolidierung und Abruf deklarativer Gedächtnisinhalte.....	8
1.1.2 Anatomisch-funktionelle Schnittstelle zum Kortex.....	9
1.2 Subikulum.....	10
1.2.1 Anatomisch-physiologische Eigenschaften	10
1.2.2 Intrinsische Eigenschaften	11
1.3 Signalweg zwischen Hippokampus und ventraler, tegmentaler Area	13
1.4 Neuronale Plastizität.....	14
1.5 Synaptische Kurzzeitplastizität	16
1.6 Synaptische Langzeitplastizität	17
1.6.1 NMDA-R-abhängige LTP	18
1.6.2 NMDA-R-unabhängige LTP	19
1.6.3 LTD	20
1.7 Synaptische Plastizität im Subikulum	21
1.8 Dopaminerge Neuromodulation.....	23
1.8.1 Lernprozesse und Gedächtniskonsolidierung	23
1.8.2 Signalkaskaden und Rezeptormodulation.....	24
1.8.3 Modulation von LTP	26
2 Fragestellung	28
3 Material und Methoden	29
3.1 Tierpräparation	29
3.2 Messaufbau	31
3.3 Elektrophysiologische Untersuchungen.....	32
3.3.1 Vorteile der unterschiedlichen Arten der Intrazellulär-Messung	32
3.3.2 Stromklemme vs. Spannungsklemme.....	32
3.3.3 Stimulations- und Aufnahmeelektroden	33
3.3.4 Technik der Intrazellulär-Messung	34
3.3.5 Intrinsische Eigenschaften	36
3.3.6 Synaptische Eigenschaften.....	37
3.3.7 Elektrische Stimulation und Pulsprotokolle	37
3.4 Datenaquisition und –analyse	38
3.5 Pharmaka	40

4	Ergebnisse	42
4.1	Membraneigenschaften von CA1 und SUB Pyramidenzellen.....	42
4.2	Effekt von D1/D5-R Aktivierung auf synaptische Eigenschaften von SUB Pyramidenzellen.....	45
4.3	Entwicklung eines unterschwelligen LTP-Stimulationsprotokolls.....	46
4.4	D1/D5-R-vermittelte Bahnung von LTP in SUB, aber nicht in CA1 Neuronen	48
4.5	Mechanismen der D1/D5-R-gebahnten LTP in REG Neuronen.....	50
4.5.1	SKF 38393-induzierte Bahnung der LTP ist abhängig von D1/D5- und NMDA-R Koaktivierung.....	50
4.5.2	Gebahnte Induktion der LTP beruht auf der Aktivierung der PKA.....	51
4.5.3	Gebahnte Induktion der LTP ist abhängig von postsynaptischem Ca^{2+} ...	51
4.5.4	Postsynaptische Expression der gebahnten LTP.....	52
4.6	Mechanismen der D1/D5-R-gebahnten LTP in BURST Neuronen.....	54
4.6.1	SKF 38393-induzierte Bahnung der LTP ist abhängig von D1/D5- und NMDA-R Koaktivierung.....	54
4.6.2	Gebahnte Induktion der LTP beruht auf der Aktivierung der PKA.....	55
4.6.3	Gebahnte Induktion der LTP ist unabhängig von postsynaptischem Ca^{2+}	56
4.6.4	Präsynaptische Expression der gebahnten LTP.....	57
5	Diskussion	59
5.1	Membraneigenschaften von CA1 und SUB Pyramidenzellen.....	59
5.2	Effekt von D1/D5-R Aktivierung auf synaptische Eigenschaften von SUB Pyramidenzellen.....	60
5.3	D1/D5-R-vermittelte Bahnung von LTP in SUB, aber nicht in CA1 Neuronen	61
5.4	Zelltypspezifische D1/D5-R-vermittelte Bahnung der LTP im SUB.....	63
5.5	Mechanismen der D1/D5-R-gebahnten LTP in REG Neuronen.....	64
5.6	Mechanismen der D1/D5-R-gebahnten LTP in BURST Neuronen.....	65
5.7	D1/D5-R-vermittelte Modulation im SUB und Alzheimer-Krankheit.....	67
5.8	D1/D5-R-vermittelte Modulation im SUB und Abhängigkeitserkrankungen....	68
5.9	D1/D5-R-vermittelte Modulation im SUB und Schizophrenie.....	70
6	Zusammenfassung	72
7	Literaturverzeichnis	74
8	Anhang	94
8.1	Eidesstattliche Erklärung.....	94
8.2	Danksagung.....	95
8.3	Lebenslauf.....	96

Abkürzungsverzeichnis

ACSF	- artifizielle, zerebrospinale Flüssigkeit
AK	- Alzheimer-Krankheit
AMPA	- α -Amino-3-Hydroxy-5-Methyl-4-Isoxazol-Propionsäure
AP	- Aktionspotential
BCM	- Bienenstock, Cooper, Munro
BURST	- Burst-feuernde Pyramidenzelle
CA	- Ammons Horn (lat. ‚ <i>Cornu ammonis</i> ‘)
cAMP	- zyklisches Adenosin-3'-5'-Monophosphat
CaM-KII	- Ca^{2+} /Calmodulin-abhängige Kinase II
COMT	- Catechol-O-Methyltransferase
CREB	- cAMP response element-binding protein
CV	- Variationskoeffizient (eng. ‚ <i>coefficient of variation</i> ‘)
DA	- Dopamin
D1 - 5	- Dopamin-Rezeptor-Subtyp
DG	- Gyrus dentatus (engl. ‚ <i>dentate gyrus</i> ‘)
EC	- entorhinaler Kortex
EPSC	- exzitatorischer, postsynaptischer Strom
EPSP	- exzitatorisches, postsynaptisches Potential
GABA	- γ -Aminobuttersäure
GluR1 - 4	- AMPA-Rezeptor-Untereinheit
HC	- Hippokampus
HFS	- Hochfrequenzstimulation
LTP	- Langzeitpotenzierung
LTD	- Langzeitdepression
MAPK	- Mitogen-aktivierte Proteinkinase
MRT	- Magnetresonanztomogramm
Ncl.	- Nucleus
NMDA	- N-Methyl-D-Aspartat
n	- Anzahl
ns	- nicht signifikant
NR1 - 3	- NMDA-Rezeptor-Untereinheit
P	- Pulse
PaS	- Parasubikulum
PKA	- Proteinkinase A

pp	- Tractus perforans (eng. ' <i>perforant path</i> ')
PPI	- Doppelpulsindex (eng. ' <i>paired pulse index</i> ')
PrS	- Präsubikulum
PTP	- posttetanische Potenzierung
R	- Rezeptor
REG	- regulär-feuernde Pyramidenzelle
RMP	- Ruhemembranpotential
S	- Serin
sc	- Schaffer-Kollateralen
SEM	- Standardfehler (eng. ' <i>standard error of mean</i> ')
SUB	- Subikulum
VTA	- ventrale, tegmentale Area
*	- signifikant

1 Einleitung

Lernen, verstanden als Prozess der Bildung neuer Gedächtnisinhalte, ist ein wesentlicher Bestandteil des Lebens. Gedächtnis – die Fähigkeit Informationen aufzunehmen, längerfristig abzuspeichern und zu erinnern – ist ein Phänomen menschlichen Erlebens und Verhaltens. Unser Gedächtnis erlaubt es uns, Sinneseindrücke – seien sie visuellen, auditiven oder anderen Modalitäten zuzuordnen – längerfristig, teilweise sogar lebenslänglich, abzuspeichern und in neuen Situationen abzurufen.

Die Neurobiologie hat in den vergangenen Jahren eine Fülle von Erkenntnissen zu Lern- und Gedächtnisvorgängen in den Gehirnen von Menschen und im Tiermodell zusammengetragen. Auf unterschiedlichsten Betrachtungsebenen, von molekularen bis hin zu systemischen Ansätzen, wurden dabei Mechanismen des Lernens und der Informationsspeicherung aufgeklärt. Bei einer Vielzahl derartiger Untersuchungen kristallisierte sich in diesem Zusammenhang mehr und mehr die zentrale Rolle des hirneigenen Botenstoffes Dopamin (*DA*) für Lern- und Gedächtnisvorgänge heraus (Bach et al. 1999; Hersi et al. 1995; Ihalainen et al. 1999; Knecht et al. 2004; Lisman & Otmakhova 2001; Tran et al. 2008), welcher die Abspeicherung von Informationen im Langzeitgedächtnis fördert. Störungen des *DA*-Haushaltes im Gehirn, sei es krankheits- oder altersbedingt, führen zu definierten, kognitiven Einbußen (Bach et al. 1999; Gasbarri et al. 1996). Hier scheinen therapeutische Ansätze, die das Ziel einer Normalisierung und Stabilisierung der *DA*-Ausschüttung im Gehirn verfolgen, besonders vielversprechend.

DA-abhängige Lernvorgänge scheinen speziell bei der Aufnahme neuer Informationen essentiell zu sein. Eine Region im Mittelhirn, die ventrale, tegmentale Area (*VTA*), wurde bisher vor allem mit der Regulation von Motivation und der Verarbeitung von Belohnung in Zusammenhang gebracht. Es wurde gezeigt, dass diese Region bei Verarbeitung vorwiegend neuer Information gegenüber bekannter Information aktiv ist (Wittmann et al. 2005). Dieses System ist zudem dafür bekannt, den *DA*-Haushalt zu regulieren. Das Verständnis der Beziehung zwischen Gedächtnisbildung, Neuheit, Motivation und Belohnung könnte somit eine wichtige Grundlage für die Behandlung von Gedächtnisproblemen darstellen.

1.1 Hippokampale Formation

1.1.1 Konsolidierung und Abruf deklarativer Gedächtnisinhalte

Die Fähigkeit zur Bildung neuer, episodischer Gedächtnisinhalte und ihrer Integration in eine zusammenhängende Autobiographie, die für unsere Selbstwahrnehmung von entscheidender Bedeutung ist, hängt von einer paarigen, phylogenetisch sehr alten Struktur in der Tiefe des Schläfenlappens ab, die Hippokampus (*HC*) genannt wird (Eichenbaum 2004; Squire et al. 2004). Der Name geht auf die Ähnlichkeit zwischen dem Querschnitt dieser Struktur und einem Seepferdchen (griechisch ‚*Hippokampus*‘) zurück (*Abb. 2c*). Dieser Teil des medialen Schläfenlappens erhält sensorische Informationen (Lavenex & Amaral 2000) und steuert sowohl deren Speicherung als auch deren Abruf.

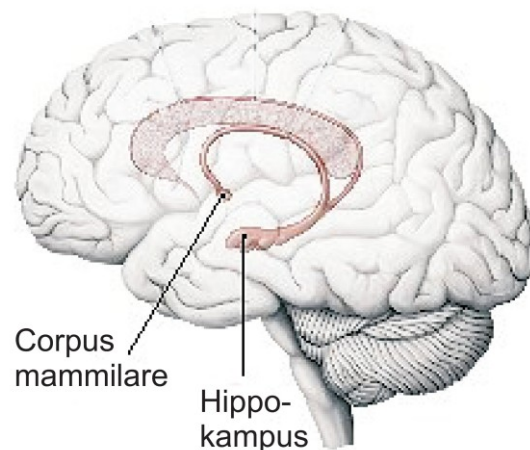


Abbildung 1. Lokalisation des HC im Gehirn. Sagittale Projektion der Hemisphäre (Schünke et al. 2006).

Wichtige Erkenntnisse über die Funktion dieses Bereichs stammen aus Untersuchungen an Patienten, deren mittlere Schläfenlappen beidseits entfernt wurden, um pharmakoresistente Schläfenlappen-Epilepsie zu behandeln (Scoville & Milner 1957; Squire & Zola-Morgan 1991). Solche Patienten zeigten ein besonders auffälliges und spezifisches Defizit in der Gedächtniskonsolidierung, der Fähigkeit, Inhalte des Kurzzeitgedächtnisses ins Langzeitgedächtnis zu überführen: Forderte man sie auf, sich ein Wort oder einen Namen zu merken, konnten sie den Begriff wiederholen, wenn sie danach gefragt wurden. Jede Erinnerung war jedoch verloren, sobald sie auch nur kurz abgelenkt wurden. Inhalte des Langzeitgedächtnisses aus der Zeit vor der Operation blieben relativ intakt. Bei lokalisationsspezifischeren Untersuchungen konnte

man die spezielle Bedeutung des HC für die Gedächtniskonsolidierung belegen. Bei diesen Fällen trat die Gedächtnisbeeinträchtigung im Zusammenhang mit beidseitigen, auf den HC beschränkten Läsionen auf (Nicholls et al. 1995).

Bisher bleibt noch ungeklärt, wie neue Informationen im Langzeitgedächtnis konsolidiert werden. Das Zwei-Stufen-Modell der deklarativen Gedächtnisbildung besagt, dass neue Informationen nur kurzzeitig im HC gespeichert und erst nach Übertragung in kortikale Netzwerke dauerhaft gespeichert werden (McClelland et al. 1995; Squire & Alvarez 1995). Es wird angenommen, dass an dieser Übersetzung eine hippokampal-kortikale Schnittstelle beteiligt ist (Buzsaki 1989; Hasselmo 1999; Squire et al. 2004).

1.1.2 Anatomisch-funktionelle Schnittstelle zum Kortex

Die hippokampale Region teilt sich in die hippokampale und parahippokampale Formation auf. Der charakteristische dreischichtige Aufbau der hippokampalen Formation wird als das definierende Merkmal des sogenannten Allokortex betrachtet, der sich dadurch vom sechsschichtigen Isokortex der Großhirnrinde unterscheiden lässt. Zur hippokampalen Formation gehören drei zytoarchitektonisch unterschiedliche Regionen: der Gyrus dentatus (*DG*), der Hippokampus proper, der in die Felder CA3, CA2 und CA1 (*CA*, von lat: Cornu Ammonis) unterteilt wird, sowie das Subikulum (*SUB*).

Die synaptische Verbindung in dieser Formation findet vorwiegend unidirektional statt (Amaral & Witter 1995; O'Mara 2005), das heißt erregende, glutamaterge Neurone sind in einer Kette hintereinander geschaltet. Den Haupteingang für kortikale Afferenzen bildet der entorhinale Kortex (*EC*). Sternzellen der Schicht II des EC projizieren über den Tractus perforans (*pp in Abb. 2*) auf Körnerzellen der äußeren Molekularschicht des DG. Diese senden ihre Efferenzen über Moosfasern in die Area CA3. Pyramidenzellen der CA3 wiederum gehen über Schaffer-Kollateralen (*sc*) synaptische Verbindungen mit Pyramidalneuronen der CA1 ein. Deren Nervenfasern ziehen über den Alveus und Stratum oriens (*so*) der CA1 und erregen Pyramidenzellen des SUB (Amaral & Witter 1989; Amaral & Witter 1995). Das SUB projiziert wiederum auf Schicht IV des EC. Über Verbindungen der tiefen Schichten des EC mit dessen oberflächlichen Schichten (Amaral 1993; Gloveli et al. 1995) wird die entorhinal-hippokampale Schleife geschlossen.

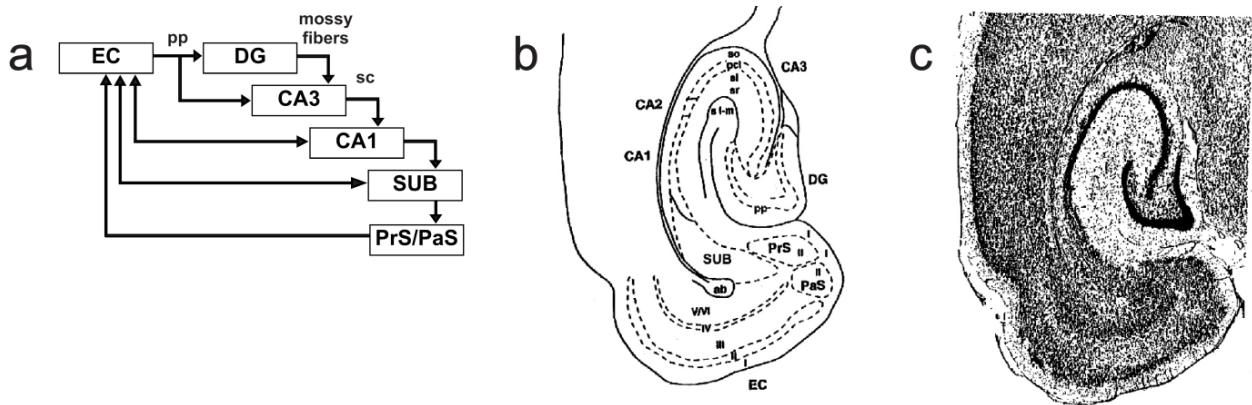


Abbildung 2. a) Schematisches Flussdiagramm der hippocampalen Formation. b) Horizontaler Querschnitt durch die hippocampale Formation der Ratte. Strichzeichnung unter Beschreibung der in c) gezeigten Regionen, Schichten und Nervenfaserbahnen. c) histologische Darstellung einer Nissel-Färbung. Abk.: DG – Gyrus dentatus, CA – Cornu ammonis, SUB – Subikulum, EC – entorhinaler Kortex, PaS – Parasubikulum, PrS – Präsubikulum, pp – Tractus perforans, so – Stratum oriens, plc – Pyramidalzellschicht, sl – Stratum lucidum, sr – Stratum radiatum, sl-m – Stratum lacunosum-moleculare, ab – anguläres Bündel, sc – Schaffer-Kollaterale (b und c: Amaral & Witter 1995).

Die parahippokampale Formation beinhaltet gemäß der gebräuchlichsten Definition den EC, das Präsubikulum (*PrS*) und das Parasubikulum (*PaS*). Diese Regionen unterscheiden sich von der hippocampalen Formation durch ihren sechsschichtigen Aufbau und ihre reziproke Verschaltung zum SUB, wobei der EC eine direkte Projektion nicht nur auf das SUB, sondern auch auf Schicht 3 der CA1 aussendet (Amaral & Witter 1995; Scharfman et al. 2000). Die Efferenzen des HC projizieren einerseits über den Fornix zu subkortikalen Regionen wie den lateralen und basolateralen Kernen der Amygdala (Chrobak et al. 2000), dem Thalamus (Shibata 1996), Hypothalamus, Hirnstamm, Septum (Swanson & Cowan 1977) und Striatum (Sorensen 1985; Thierry et al. 2000) sowie andererseits über parahippokampale Regionen zu kortikalen Strukturen.

1.2 Subikulum

1.2.1 Anatomisch-physiologische Eigenschaften

Während die Area dentata sowie Areae CA3 und CA1 des HC umfangreich auf neurophysiologischer, biochemischer und Verhaltensebene untersucht wurden, blieb das SUB vergleichsweise wenig erforscht. Das SUB zeigt einen dreischichtigen Aufbau, der ein Übergangsfeld vom dreischichtigen, archikortikalen HC zum sechsschichtigen Neokortex darstellt.

Dieser besteht aus: einer oberflächlichen Molekularschicht, in die sich die apikalen Dendriten der subikulären Pyramidalzellen erstrecken und welche in Verlängerung zum Stratum lacunosum-moleculare (*sl-m in Abb. 2b*) und radiatum (*sl*) der angrenzenden CA1 Region liegt; einer breiten Pyramidalzellschicht, welche die Soma der Hauptneurone enthält; und einer polymorphen Schicht, die sich zwischen Alveus und Stratum pyramidale befindet (Amaral & Witter 1995; Lopes da Silva et al. 1990; Lorente de Nó 1934; O'Mara et al. 2001; Witter & Groenewegen 1990).

Die primären Projektionen aus der Area CA1 bilden den Haupteingang des SUB. Unterschiedliche Eingänge scheinen hierbei vorwiegend topografisch über die Struktur verteilt zu sein. So innervieren CA1 Neurone des proximalen Drittels selektiv subikuläre Zellen des distalen Drittels, wogegen im distalen Drittel entspringende CA1 Axone auf Neurone im subikulären proximalen Drittel projizieren (Amaral et al. 1991; Tamamaki & Nojyo 1990; Witter & Groenewegen 1990). Das SUB seinerseits leitet Informationen an den EC und verschiedene kortikale sowie subkortikale Strukturen wie den Nucleus (*Ncl.*) accumbens, die Amygdala, den präfrontalen Kortex und den Hypothalamus weiter bzw. zurück (Hampson et al. 2000; O'Mara et al. 2001; Witter & Groenewegen 1990).

Somit ist das SUB Teil multipler, geschachtelter Schaltkreise (Kloosterman et al. 2003; Kloosterman et al. 2004). Es bildet die Endstation der entorhinal-hippokampalen Schleife und ist von zentraler Bedeutung in der Informationsübertragung zwischen HC und kortikalen bzw. subkortikalen Arealen (Amaral & Witter 1995; Andersen et al. 1971; Naber et al. 2000; O'Mara et al. 2001).

1.2.2 Intrinsische Eigenschaften

Subikuläre Pyramidenzellen unterscheiden sich hinsichtlich ihrer elektrophysiologischen Eigenschaften. Burst-feuernde Zellen (*BURST*) feuern unter depolarisierendem Strompuls mit einer initialen Häufung von mehreren Aktionspotentialen (*AP*) - einem sogenannten „Burst“ - vergleichbar den CA3 Pyramidenzellen. Im Gegensatz entladen regulär-feuernde Zellen (*REG*) unter gleichen Bedingungen mit einzelnen *AP* ähnlich den CA1 Pyramidenzellen (Stewart & Wong 1993). Das Zahlenverhältnis zwischen *BURST* und *REG* Zellen beträgt etwa 2:1 (Gigg et al. 2000; Greene & Totterdell 1997; Taube 1993; van Welie et al. 2006).

Obwohl sich die beiden Pyramidenzelltypen durch ihre elektrophysiologischen Eigenschaften unterscheiden, konnte bislang kein wesentlicher morphologischer Unterschied nachgewiesen werden (Abb. 3) (Knopp et al. 2005; Mason 1993; Menendez et al. 2003; Taube 1993). Die dritte, sowohl elektrophysiologisch als auch morphologisch abgrenzbare Gruppe subikulärer Zellen sind schnell feuernde Interneurone, deren AP-Frequenz bei etwa 200 Hz liegt (Greene & Totterdell 1997; Stewart & Wong 1993) und die wesentlich kleiner als die beiden anderen Neuronenarten sind (Amaral & Witter 1995; Swanson et al. 1987).

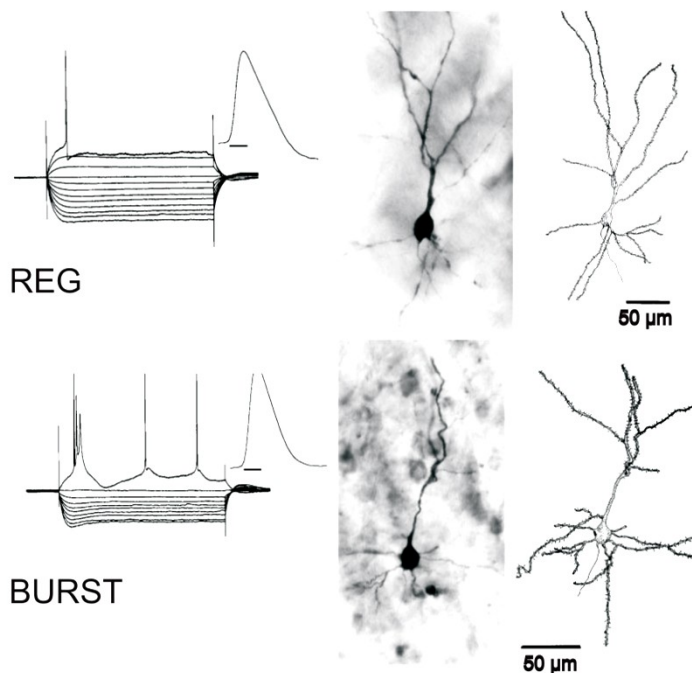


Abbildung 3.

Elektrophysiologie und Morphologie von subikulären BURST und REG Pyramidalneuronen.

Links: exemplarische Spannungsableitungen bei intrazellulären Strominjektionen (250 ms; -0,8 bis +0,6 nA). Links oben: AP gemittelt aus 4 Messungen (Skalierung: 400 μ s). Mitte und rechts: Mikrophotographie und Zeichnung mittels Camera lucida der Zellen, von denen elektrophysiologische Messungen gemacht wurden (Greene & Totterdell 1997).

Über die funktionelle Bedeutung der beiden Zelltypen ist bislang wenig bekannt.

Grundsätzlich wird BURST Zellen eine besondere Rolle in der neuronalen Informationsübertragung zugeschrieben. Eine Theorie besagt, dass Bursts die Wahrscheinlichkeit der Signalweiterleitung steigern. In postsynaptischen Zellen evozieren sie verlässlicher eine Antwort als einzelne AP, die Transmitterfreisetzung wird verstärkt und Ausfälle synaptischer Transmission werden reduziert. Synaptische Plastizität wird in einem stärkeren Ausmaß beeinflusst als durch einzelne AP (Lisman 1997; Pike et al. 1999).

Bursts sollen mehr Informationsgehalt als einzelne Entladungen enthalten, wenn sie als Einzelereignisse analysiert werden (Reinagel et al. 1999), wobei die Information durch Burstdauer und AP-Frequenz innerhalb eines Bursts verschlüsselt wird. Eine andere Theorie bezieht sich auf die Frequenzpräferenz. Nur Bursts mit spezifisch resonanten

Frequenzen können postsynaptische Entladungen verursachen. Unterschwellige Membranoszillationen und Resonanzen unterstützen dabei möglicherweise die selektive Signalweiterleitung zwischen den Neuronen (Izhikevich et al. 2003).

Einige Studien lassen darauf schließen, dass Burst-Entladungen in subikulären Zellen von Na^+ - und Ca^{2+} -Leitfähigkeiten abhängig sind (Jung et al. 2001; Mattia et al. 1997; Wellmer et al. 2002). Burst-Entladungen sind vielfach in physiologische Prozesse involviert wie z.B. synaptische Plastizität (Pike et al. 1999), Aufrechterhaltung hippocampaler Gamma-Rhythmen (Stanford et al. 1998), Rekrutierung neuronaler Netzwerke für synchronisierte Aktivität (Harris & Stewart 2001) und visuelle Informationsverarbeitung (Lesica & Stanley 2004; Livingstone et al. 1996). Zudem scheinen sie von pathophysiologischer Bedeutung bei der Temporallappen-Epilepsie zu sein (Yaari & Beck 2002).

1.3 Signalweg zwischen Hippokampus und ventraler, tegmentaler Area

Der HC und die VTA im Mittelhirn bilden unter Beteiligung dopaminergener Neurone – Neurone, die DA als Transmitter freisetzen – eine funktionelle Schleife, worauf zahlreiche neuere Befunde hindeuten (Review: Lisman & Grace 2005). Aktiviert wird dieser Schaltkreis, sobald den HC neue, noch nicht gespeicherte Informationen erreichen.

Diese Schleife neuronaler Transmission beinhaltet folgende, in *Abbildung 4* dargestellte Stationen: Die Zellen des Ncl. accumbens sind ein Hauptziel erregender, glutamaterger Neurone aus dem SUB sowie der CA1 Region und für die Informationsweiterleitung zwischen HC und VTA essentiell (Floresco et al. 2001; Legault et al. 2000). In diesem Zusammenhang wurde ebenfalls gezeigt, dass Neurone des Ncl. accumbens in Abhängigkeit von Neuigkeitssignalen (Ihalainen et al. 1999) oder subikulärer Stimulation (Wood & Rebec 2004) aktiv sind. Die GABAergen Efferenzen des Ncl. accumbens (GABA: γ -Aminobuttersäure als hemmender Transmitter) wiederum inhibieren die schnell entladenden GABAergen Zellen des ventralen Pallidums, welche ihrerseits die dopaminergen Neurone in der VTA tonisch inhibieren (Chrobak & Napier 1993). Somit werden durch Aktivierung dieses polysynaptischen Signalweges die Efferenzen der VTA disinhibiert, d.h. von ihrer tonischen Hemmung befreit. In der VTA führt dies zur

Aktivierung dieser dopaminergen Neurone, die sowohl zur Area CA1 als auch zum SUB projizieren (Lisman & Grace 2005). Diese Zellen zeigen tonische Aktivität, aber können in kurzer Latenz (50-110 ms) mit Bursts auf verschiedene Typen von Stimuli antworten. Zu diesen Stimuli gehören unvorhersehbare, positive Belohnung sowie neue oder hervorstechende Reize (Mirenowicz & Schultz 1994; Schultz & Dickinson 2000).

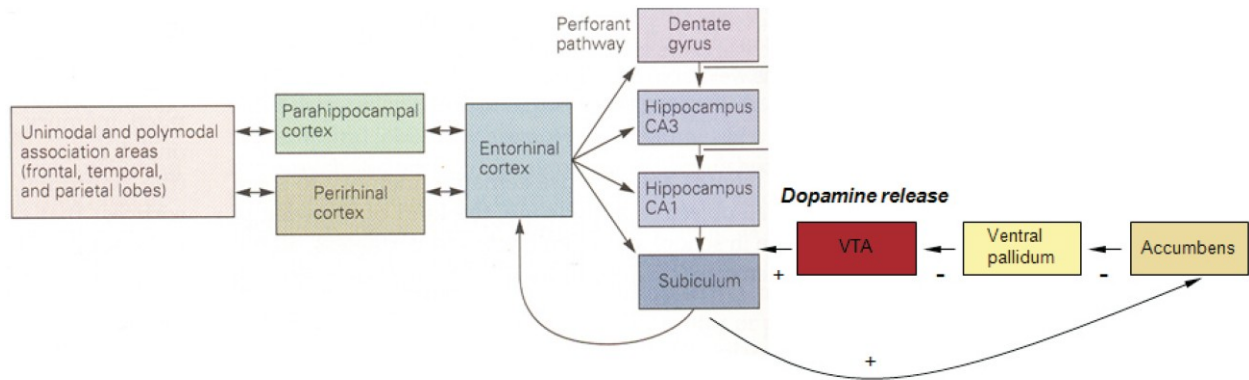


Abbildung 4. HC-VTA – Schleife.

Plus - erregende, glutamaterge Projektionen; *Minus* – hemmende, GABAerge Projektionen.

Die Aktivierung der Schleife führt somit dazu, dass im HC DA freigesetzt wird. Dopaminerge Efferenzen zum HC (Scatton et al. 1980) stammen jedoch nicht nur aus der VTA, sondern auch aus der Substantia nigra und sind am stärksten im SUB, Hilus und Stratum lacunosum-moleculare der Area CA1 ausgeprägt (Gasbarri et al. 1994; Gasbarri et al. 1997; Goldsmith & Joyce 1994). Das SUB besitzt eine relativ hohe Dichte an DA-Rezeptoren (*DA-R*; Bruinink & Bischoff 1993; Fremeau, Jr. et al. 1991; Martres et al. 1985; Meador-Woodruff et al. 1994). Es wird vermutet, dass die DA-Freisetzung via HC-VTA – Schleife den Eingang neuer Informationen ins Langzeitgedächtnis reguliert. Das SUB gilt hierbei als die wesentliche Schnittstelle zwischen HC und mesolimbischen System (Blaha et al. 1997; Floresco et al. 2001; Floresco et al. 2003; Taepavarapruk et al. 2000).

1.4 Neuronale Plastizität

Neuronale Plastizität bildet die Basis für die Entwicklung und Dynamik des Gehirns. Der Begriff beschreibt Veränderungen von Synapsen und Nervenzellen in Abhängigkeit ihrer jeweiligen Aktivierung. Man unterscheidet abhängig vom spezifischen System

zwischen synaptischer, intrinsischer und homöostatischer Plastizität und abhängig von der Dauer zwischen Kurzzeit- und Langzeitplastizität. Aktivitätsabhängige, synaptische Plastizität wird als einer der zellulären Mechanismen verstanden, der den physiologischen Prozessen von Lernen und Gedächtnis zugrunde liegt (Martin et al. 2000).

Der Psychologe Donald Olding Hebb etablierte eine Theorie zur synaptischen Plastizität. In seinem Buch „*The Organization of Behavior*“ formulierte er 1949 die als Hebb'sche Lernregel bekannt gewordene Bedingung (Hebb 1949): *„Wenn ein Axon der Zelle A [...] Zelle B erregt und wiederholt und dauerhaft zur Erzeugung von Aktionspotenzialen in Zelle B beiträgt, so resultiert dies in Wachstumsprozessen oder metabolischen Veränderungen in einer oder in beiden Zellen, die bewirken, dass die Effizienz von Zelle A in Bezug auf die Erzeugung eines Aktionspotenzials in B größer wird.“* oder *„What fires together, wires together“*. Seine Hypothese konnte später durch den Nachweis von Veränderungen in der Stärke der synaptischen Informationsübertragung zwischen Neuronen belegt werden (Bliss & Lømo 1973).

Diese als synaptische Plastizität bezeichneten Änderungen der Neurotransmission können transient oder persistierend sein. Als Kurzzeitplastizität werden Änderungen der synaptischen Übertragung im Zeitraum einiger Millisekunden bis Sekunden bezeichnet. Als Langzeitplastizität werden Minuten (*min*) bis Tage dauernde Veränderungen verstanden. Sie sind assoziiert mit neuronaler Entwicklung sowie der Konsolidierung des Langzeitgedächtnisses (Malenka & Bear 2004; Martin et al. 2000).

Die persistierenden Änderungen können sowohl durch Modifikationen der elektrophysiologischen Eigenschaften als auch der morphologischen Eigenschaften der Synapse verursacht werden. Morphologische Plastizität zeigt sich z.B. in Veränderungen der Dornfortsätze, die auf dendritischen Ausläufern den direkten Kontakt zwischen zwei Nervenzellen gewährleisten. Infolge von Lernprozessen kann es zum Wachstum neuer Dornfortsätze, Vergrößerung präexistierender und deren Spaltung in zwei funktionelle Synapsen kommen (Abraham & Williams 2003; Matsuzaki et al. 2004; Nagerl et al. 2004; Nikonenko et al. 2002; Yuste & Bonhoeffer 2001).

Die intrinsische Plastizität ist eine anhaltende Modifizierung der elektrophysiologischen Membraneigenschaften eines einzelnen Neurons, welche nicht direkt an der synaptischen Übertragung partizipieren. Sie manifestiert sich in Veränderungen des Entladungsverhaltens durch veränderte Expression oder modifizierte, biophysikalische

Eigenschaften von Ionenkanälen. Die Rolle dieser Plastizitätsform ist bisher nicht völlig geklärt. Sie ist beteiligt an synaptischer Vernetzung, an unterschwelliger Signalübertragung ohne Induktion von AP, an der Erzeugung und Rückübertragung von AP sowie an Metaplastizität. Funktionell moduliert intrinsische Plastizität synaptische Plastizität und ist eine Komponente der zellulären Homöostase (Daoudal & Debanne 2003; Frick & Johnston 2005; Zhang & Linden 2003).

Die homöostatische Plastizität bezieht sich auf die Fähigkeit eines Neurons, dessen Erregbarkeit abhängig von der Netzwerkaktivität zu regulieren. Diese kompensatorische Anpassung findet innerhalb von Tagen statt (Turrigiano et al. 1998). Die Rolle der intrinsischen Plastizität als Funktionsweise der homöostatischen Plastizität verdeutlicht folgendes Beispiel: Bleibt eine synaptische oder elektrische Aktivierung an neokortikalen oder hippocampalen Neuronen für die Dauer von Stunden bis einigen Tagen aus, nimmt die intrinsische Erregbarkeit zu und scheint dem akuten Effekt der ausbleibenden Stimulation entgegenzuwirken (Desai et al. 1999; Karmarkar & Buonomano 2006). Abhängig von Zellart und Hirnregion unterscheiden sich die dabei modulierten Ionenkanäle. Involviert sind z.B. spannungsabhängige Na^+ -Ströme (Aptowicz et al. 2004) und unterschwellige K^+ -Ströme: passive „leak“- und Hyperpolarisations-aktivierte H -Ströme (Gibson et al. 2006; van Welie et al. 2004).

1.5 Synaptische Kurzzeitplastizität

Formen der synaptischen Plastizität, die wenige Millisekunden oder Sekunden anhalten, werden als Kurzzeitplastizität bezeichnet. Vorausgehende synaptische Aktivierung bewirkt synaptische Fazilitierung (Verstärkung) oder Depression (Verminderung) der synaptischen Informationsübertragung zwischen Neuronen. Fazilitierung oder posttetanische Potenzierung (*PTP*) beruhen auf einer residualen Anhebung der präsynaptischen Ca^{2+} -Konzentration: Beim ersten synaptischen Puls strömt Ca^{2+} in die Präsynapse und führt zur Transmitterfreisetzung. Ist die Ca^{2+} -Konzentration beim zweiten eintreffenden Puls durch residuales Ca^{2+} noch erhöht, wird beim wiederholten Einstrom von Ca^{2+} nun verstärkt Transmitter ausgeschüttet. Die zweite synaptische Antwort ist somit im Vergleich zur ersten gesteigert (Zucker & Regehr 2002).

Eine Depression des zweiten Pulses dagegen wird gewöhnlich auf erschöpfte präsynaptische Pools zurückgeführt. Feedback-Aktivierung präsynaptisch lokalisierter Rezeptoren wie GABA_B, Kainat- oder metabotrope Glutamatrezeptoren können ebenfalls die Transmitterfreisetzung reduzieren (MacDermott et al. 1999; Manzoni et al. 1995; Nisenbaum et al. 1992; Schmitz et al. 2001). Auf postsynaptischer Seite kann darüber hinaus eine Rezeptordesensibilisierung zu Doppelpulsverminderung führen (Jones & Westbrook 1996).

1.6 Synaptische Langzeitplastizität

Als Langzeitplastizität wird sowohl Langzeitpotenzierung (*LTP*) als auch Langzeitdepression (*LTD*) definiert. Die Erstbeschreibung von Langzeitplastizität erfolgte durch Bliss und Lømo. Sie konnten zeigen, dass hochfrequente Stimulation von Eingängen in den HC eine LTP bewirkte, eine Zunahme der Amplituden exzitatorischer postsynaptischer Potentiale (*EPSP*). Hierbei wurde der Tractus perforans stimuliert und EPSP der Körnerzellen des DG aufgezeichnet (Bliss & Lømo 1973).



Abbildung 5.

Tim Bliss, Per Andersen und Terje Lømo.
Entdecker der LTP (Lisman et al. 2003).

Dieses Phänomen wurde zum allgemein anerkannten, zellulären Modell für Lernen und Gedächtnis (Bliss & Collingridge 1993; Malenka & Nicoll 1999). Dieses Modell konnte in den letzten Jahren durch direkten Beweis bestätigt werden: Lernvorgänge im Gehirn erzeugten bei Ratten LTP (Rioult-Pedotti et al. 2000; Whitlock et al. 2006) und die Unterbindung der Aufrechterhaltung der LTP führte zur Löschung bereits angelegter, räumlicher Gedächtnisinhalte (Pastalkova et al. 2006).

1.6.1 NMDA-R-abhängige LTP

LTP wurde bislang am intensivsten an Pyramidenzellen der CA1 und CA3 Region des HC untersucht. Die Induktion von LTP beruht in der CA1 Region vorwiegend auf der Aktivierung von postsynaptischen N-Methyl-D-Aspartat-(*NMDA*)-Rezeptoren (*R*), einer Untergruppe von ionotropen Glutamat-R, und den hierdurch ausgelösten Einstrom von Ca^{2+} -Ionen in das postsynaptische Neuron. Unter Ruhemembranpotential (*RMP*) - Werten werden *NMDA-R* durch extrazelluläre Mg^{2+} -Ionen blockiert und die zweite Subgruppe ionotroper Glutamat-R, α -Amino-3-Hydroxy-5-Methyl-4-Isloxazol-Propionsäure-(*AMPA*)-R, vermittelt nach glutamaterger Aktivierung einen Kationenstrom (Na^+ und K^+), der zu einer Depolarisation führt. Bei tetanischer Reizung kommt es zu einer derart starken Depolarisation, dass die blockierenden Mg^{2+} -Ionen spannungsabhängig von ihrer Bindungsstelle am *NMDA-R* Kanal dissoziieren und so den Einstrom von Na^+ und insbesondere Ca^{2+} ermöglichen (*Abb. 6*). Die darauf zunehmende intrazelluläre Ca^{2+} -Konzentration induziert eine LTP (Lynch et al. 1983; Malenka et al. 1988; Malenka et al. 1992) über die Aktivierung der Ca^{2+} /Calmodulin-abhängige Kinase II (*CaM-KII*) und verschiedener „second-messenger“-Kaskaden (Lisman et al. 2002; Malenka & Nicoll 1999; Yasuda et al. 2003).

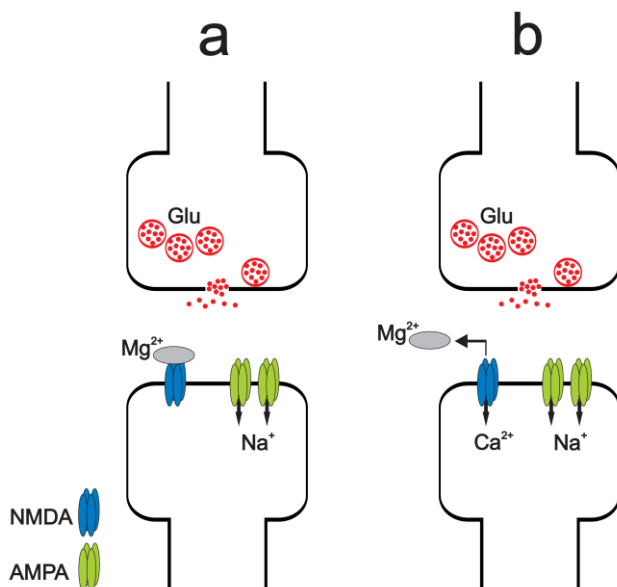


Abbildung 6. *LTP Induktion.* Hochfrequente Stimulation führt zu einer vermehrten Transmitterfreisetzung von Glutamat (a). Über Aktivierung von AMPA-R wird die postsynaptische Zelle depolarisiert, so dass der spannungsabhängige Mg^{2+} -Block der *NMDA-R* aufgehoben wird und Na^+ - und Ca^{2+} -Ionen über *NMDA-R* einströmen (b).

Für die Expression der LTP werden sowohl prä- als auch postsynaptische Mechanismen diskutiert. Eine verstärkte synaptische Transmission kann durch präsynaptische Zunahme der Glutamatfreisetzung (Stevens 1993) oder durch

postsynaptische Zunahme der Empfindlichkeit gegenüber Glutamat (Nicoll & Malenka 1995) erklärt werden. Als wesentliche postsynaptische Mechanismen der LTP Expression sind die aktivitätsabhängige Phosphorylierung (Benke et al. 1998; Lee et al. 2003; Malenka & Nicoll 1999; Soderling & Derkach 2000) sowie die Dichteerhöhung der AMPA-R in der postsynaptischen Membran durch Exozytose-Mechanismen beteiligt (Bredt & Nicoll 2003; Malinow & Malenka 2002; Song & Huganir 2002) .

Wenn LTP postsynaptisch induziert wird, wäre eine retrograde Kommunikation Voraussetzung für eine präsynaptische Zunahme der Transmitterfreisetzung. Einige Ergebnisse deuten auf retrograde Botenstoffe hin, die ausgehend von der postsynaptischen Zelle mit dem präsynaptischen Terminal kommunizieren. Befürworter retrograder Botenstoffe schlugen Stickstoffmonoxid als potentiellen Botenstoff vor (Arancio et al. 1996; Schuman & Madison 1991; Son et al. 1996), wobei diese Annahme von vielen Gruppen angefochten wurde (Cummings et al. 1994; Diamond et al. 1998; Lüscher et al. 1998; Selig et al. 1996; Serulle et al. 2007). Als weitere „second messenger“ wurden Neurotrophine wie BDNF vorgeschlagen (Poo 2001). Dagegen spricht, dass BDNF bei LTP präsynaptisch statt postsynaptisch freigesetzt wird (Zakharenko et al. 2003).

1.6.2 NMDA-R-unabhängige LTP

Neben der NMDA-R-abhängigen LTP konnte an verschiedenen Synapsen des ZNS eine NMDA-R-unabhängige Form nachgewiesen werden: für hippokampale Moosfasersynapsen (Zalutsky & Nicoll 1990), zerebelläre Parallelfasern (Salin et al. 1996), kortikoamygdaläre Terminalen (Humeau et al. 2003) sowie kortikothalamische Synapsen (Castro-Alamancos & Calcagnotto 1999). Die präsynaptisch induzierte und exprimierte Moosfaser-LTP beruht auf Stimulation der Ca^{2+} /Calmodulin-sensitiven Adenylzyklase I, der konsekutiven Zunahme von zyklischem Adenosin-3',5'-Monophosphat (*cAMP*; Weisskopf et al. 1994) und Aktivierung der *cAMP*-abhängigen Proteinkinase A (*PKA*). Der Signaltransduktionsweg nach *PKA*-Aktivierung ist noch nicht vollständig geklärt.

Die PKA könnte den Kationenkanal I_h modulieren, wodurch die Zelle depolarisiert und durch verstärkten Ca^{2+} -Einstrom die Transmitterausschüttung gesteigert wird (Huang & Hsu 2003; Mellor et al. 2002), aber siehe (Chevaleyre & Castillo 2002). Ebenso spielen präsynaptische Kainat-R bei der Moosfaser-LTP eine Rolle, wobei sie nicht wesentlich für deren Induktion sind (Bortolotto et al. 1999; Bortolotto et al. 2003; Contractor et al. 2001; Schmitz et al. 2003). Als notwendiger Bestandteil der Signalkaskade erwiesen sich präsynaptische, vesikelassoziierte Proteine wie Rab3A und RIM1 α , was durch Studien an Knock-out Tieren gezeigt wurde (Castillo et al. 1997; Castillo et al. 2002; Nicoll & Schmitz 2005).

1.6.3 LTD

LTD ist der entgegengesetzte Prozess der LTP und wird an nahezu allen exzitatorischen Synapsen des zentralen Nervensystems beobachtet. Dabei kommt es zu einer Abnahme der synaptischen Übertragung, die über Stunden bis Tage andauert. Experimentell wird diese Form der synaptischen Plastizität meist durch anhaltende, niederfrequente Stimulation mit 0,5 - 5 Hz wie im HC induziert (Dudek & Bear 1992; Dudek & Bear 1993). Man unterscheidet verschiedene Formen der Mechanismen von LTD. Hippokampale und kortikale LTD kann von Aktivierung der NMDA-R (Cummings et al. 1996; Dudek & Bear 1992; Kamal et al. 1999; Lee et al. 1998; Mulkey & Malenka 1992) und einem konsekutiven Anstieg der postsynaptischen Ca^{2+} -Konzentration (Cummings et al. 1996; Mulkey & Malenka 1992; Yang et al. 1999), Aktivierung der metabotropen Glutamat-R (Bolshakov & Siegelbaum 1994; Huber et al. 2001; Oliet et al. 1997) oder präsynaptischer Aktivierung der Endocannabinoid-R (Bender et al. 2006; Chevaleyre & Castillo 2003; Chevaleyre & Castillo 2004; Sjostrom et al. 2003) abhängig sein. Umgekehrt zur LTP ist LTD assoziiert mit Dephosphorylierung einer AMPA-R-Kanal - Untereinheit (Lee et al. 1998), was die Wahrscheinlichkeit eines offenen Zustands des AMPA-R-Kanals vermindert (Banke et al. 2000). Postsynaptische AMPA-R werden in die postsynaptische Zelle durch Dynamin- und Clathrin-vermittelte Endozytose-Mechanismen nach Aktivierung postsynaptischer Phosphatasen aufgenommen (Beattie et al. 2000; Carroll et al. 1999; Ehlers 2000). Die postsynaptische Sensitivität gegenüber präsynaptischer Glutamatfreisetzung sinkt.

Das Modell von Bienenstock, Cooper und Munro (BCM-Modell) beschreibt eine spezifische Koabhängigkeit von LTP und LTD: Liegt das Ausmaß einer postsynaptischen Aktivierung unter einem Schwellenwert θ , wird LTD induziert. Liegt es über θ und kommt es zu einem ausreichend starken Ca^{2+} -Einstrom, wird LTP induziert (Bienenstock et al. 1982).

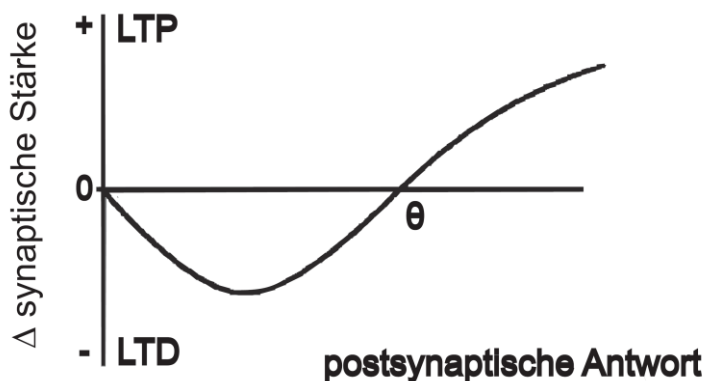


Abbildung 7.

BCM-Modell zu aktivitätsabhängigem Schwellenwert θ , der Induktion von LTP und LTD reguliert (adaptiert nach Bear 2003).

Es wird angenommen, dass die Unterscheidung, ob LTD oder LTP induziert wird, auf einer veränderten Zusammensetzung der NMDA-R – Untereinheiten beruht (Hrabetova et al. 2000; Liu et al. 2004; Tang et al. 1999), die wiederum aktivitätsabhängig reguliert wird (Quinlan et al. 1999; Williams et al. 2003). Wurde bereits LTP induziert, ist der Schwellenwert angehoben und die Wahrscheinlichkeit steigt, dass ein Ca^{2+} -Einstrom LTD auslöst (Bear 2003).

1.7 Synaptische Plastizität im Subikulum

Während LTP und ihre Mechanismen im DG, in den Areae CA3 und CA1 eingehend untersucht wurden, sind die zellulären Grundlagen synaptischer Plastizität im SUB bislang nur wenig verstanden. Da das SUB eine wichtige Rolle bei Gedächtnisvorgängen (Deadwyler & Hampson 2004; Gabrieli et al. 1997; Zeineh et al. 2003) und räumlicher Orientierung (Anderson & O'Mara 2004; Lever et al. 2009) spielt, ist das Verständnis synaptischer Plastizität in dieser Region essentiell.

Die Unterscheidung subikulärer Pyramidenzellen anhand ihrer intrinsischen Eigenschaften in REG und BURST Zellen konnte zwei grundsätzlich unterschiedliche Formen von LTP aufdecken (Wozny et al. 2008b). Die Induktion beider LTP Typen hing von

NMDA-R ab, wie bereits vorausgehende *in vitro*-Studien zeigen konnten (Boeijinga & Boddeke 1996; Roberts & Greene 2003). In REG Zellen war die Induktion von LTP abhängig von der Aktivierung postsynaptischer NMDA-R und postsynaptischem Ca^{2+} , jedoch unabhängig von cAMP- und PKA-Stimulation. Dagegen beruhte sie in BURST Zellen auf Stimulation präsynaptisch lokalisierter NMDA-R. Die präsynaptische LTP in BURST Zellen war Ca^{2+} -abhängig und benötigte die Aktivierung der cAMP-PKA – Kaskade (Abb. 8; Wozny et al. 2008a).

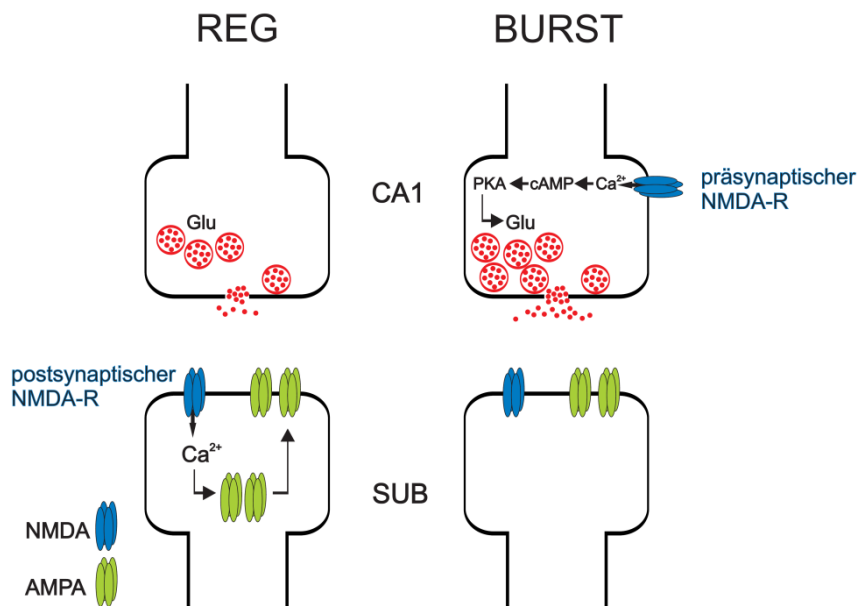


Abbildung 8.

Zelltypspezifische Mechanismen der *Induktion und Expression* von LTP in subikulären REG und BURST Zellen.

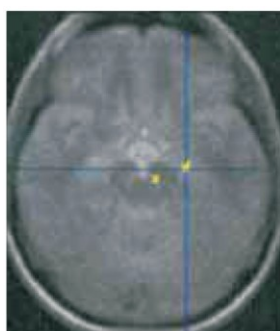
Auf eine präsynaptische Komponente der Expression von LTP in BURST Neuronen deuteten bereits mehrere Untersuchungen hin (Commins et al. 1998; Kokaia 2000; Wozny et al. 2008a; Wozny et al. 2008b). Dieses Ergebnis ist physiologisch relevant, da der Unterschied zwischen prä- und postsynaptischer Expression synaptischer Plastizität auch mit unterschiedlichen Folgen für die Informationsübertragung einhergeht. Ein postsynaptischer Mechanismus bewirkt eine gleichmäßig zunehmende synaptische Effektivität (Selig et al. 1999). Im Gegensatz dazu verteilen präsynaptische Veränderungen die verfügbare synaptische Effektivität um und stellen einen Mechanismus dar, den interneuronalen Signalgehalt zu ändern (Markram & Tsodyks 1996).

Die postsynaptische LTP in subikulären REG Zellen ist dementsprechend mit der NMDA-R-abhängigen Form der LTP in der CA1 Region vergleichbar. Die präsynaptische Form der LTP in subikulären BURST Zellen weist hingegen Merkmale der präsynaptischen LTP von z.B. hippocampalen Moosfasersynapsen auf.

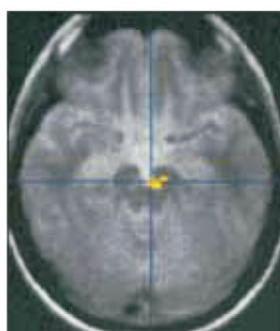
1.8 Dopaminerge Neuromodulation

1.8.1 Lernprozesse und Gedächtniskonsolidierung

Die Speicherung neuer Information scheint entscheidend von einer zeitgleichen dopaminergen Innervation bestimmter hippocampaler Areale abzuhängen (Ihalainen et al. 1999; Lisman & Otmakhova 2001). Der Zusammenhang zwischen dopaminerner Neuromodulation im Bereich des HC einerseits und der Speicherung neuer sensorischer Information andererseits konnte sowohl am Tier als auch am Menschen gezeigt werden (Lisman & Grace 2005): So wurde an Ratten unter Blockade von DA-R oder bei Läsionen dopaminerger Signalwege eine Abnahme hippocampaler Gedächtnisleistungen festgestellt (Gasbarri et al. 1996). Dagegen kam es zur Zunahme von Gedächtnisleistungen unter Aktivierung von DA-R oder wenn die Tiere neuer, äußerer Umgebung ausgesetzt wurden (Bach et al. 1999; Hersi et al. 1995; Tran et al. 2008). Beim Menschen führte ebenso Gabe von Levo-DOPA, einer Vorstufe von DA, zu deutlich verbesserter Lernleistung (Knecht et al. 2004) und Gabe von Pergolid, einem D1- und D2-R Agonisten, zu verbesserter Leistung im räumlich-visuellen Arbeitsgedächtnis (Müller et al. 1998). Der DA-Stoffwechsel unterliegt genetischen Polymorphismen, da dieser von der Aktivität des Enzyms Catechol-O-Methyltransferase (COMT) abhängig ist. Probanden, bei denen die Aktivität von COMT pharmakologisch gehemmt wurde (Apud et al. 2007) zeigen bessere Leistungen des episodischen Gedächtnisses ebenso wie Träger des Met/Met-Genotyps, der mit geringer Enzymaktivität der COMT und erhöhten DA-Konzentrationen verbunden ist, als Träger des Val-Allels, verbunden mit höherer COMT-Aktivität und reduzierter DA-Konzentration (de Frias et al. 2004). Im funktionellen Magnetresonanztomogramm (fMRT) zeigt sowohl die VTA als auch der HC beim Lernen neuer Informationen eine deutliche, simultane Aktivierung (Schott et al. 2004; Wittmann et al. 2005).



anteriorer
Hippokampus



Mesenzephalon

Abbildung 9.

Simultan gesteigerte Aktivität von hippocampalen und mesenzephalen, dopaminergen Arealen während expliziter Gedächtnisprozesse und assoziativer Neuigkeitsdetektion im fMRT (Schott et al. 2004).

1.8.2 Signalkaskaden und Rezeptormodulation

Als funktionell anatomisches Korrelat, welches die Koinzidenz zwischen DA-Ausschüttung im HC und der erleichterten Gedächtniskonsolidierung erklärt, gilt die HC-VTA-Schleife (siehe ‚*Einleitung 1.3*‘). Unklar ist bislang, welche der hippocampalen Areale entscheidend für diesen Prozess sind und welche zellulären und molekularen Mechanismen ihm zugrunde liegen.

DA-R lassen sich in fünf Subtypen unterteilen, welche pharmakologisch in die D₁-R-Familie (D1/D5-R) und die D₂-R-Familie (D2/D3/D4-R) unterteilt werden können (Sunahara et al. 1991; Vallone et al. 2000).

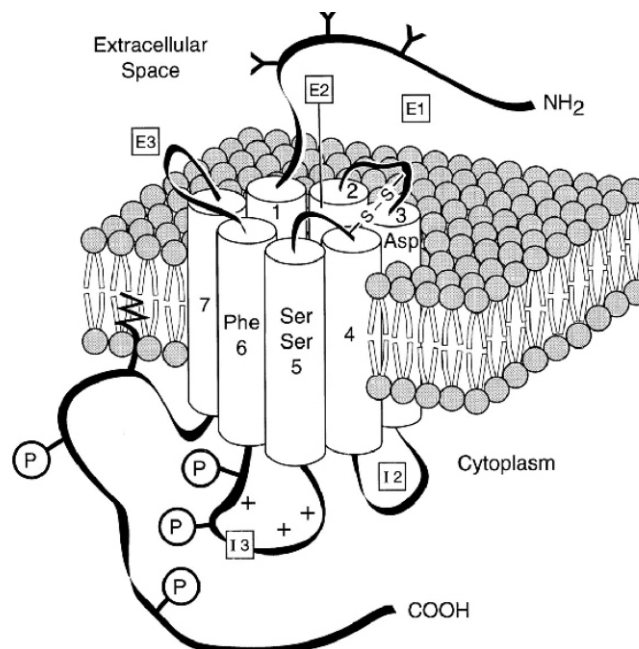


Abbildung 10. Schematische Struktur der D₁-R-Familie. Die D₂-R-Familie ist durch kürzere COOH-Terminale und eine größere dritte, intrazelluläre Schleife charakterisiert. Potentielle Phosphorylierungsorte sind an der dritten intrazellulären Schleife (I3) und dem COOH-Endpunkt, Glykosylierungsorte am NH₂-Ende. G-Protein-R-Kopplung findet am Carboxy-Terminus und I3 statt, um die second-messenger - Signalkaskade zu aktivieren. E1-E3 – extrazelluläre Schleifen, 1-7 – transmembranäre Domänen, I2-I3 – intrazelluläre Schleifen (Missale et al. 1998).

Aktivierung der D₁-Familie bzw. D₂-Familie führt entsprechend ihrer unterschiedlichen G-Protein-Kopplung zu einer erhöhten bzw. verminderten Aktivität der Adenylylzyklase, welche ihrerseits einen Anstieg bzw. Abfall der cAMP-Konzentration bedingt (Missale et al. 1998). Eine wesentliche Funktion des cAMP ist die Aktivierung der PKA.

Die PKA wiederum

- phosphoryliert die NR1-Untereinheit des NMDA-R (Snyder et al. 1998) und erhöht so den NMDA-R-vermittelten Einwärtsstrom (Chen et al. 2004; Flores-Hernandez et al. 2002; Gonzalez-Islas & Hablitz 2003; Hernandez-Lopez et al. 1997; Seamans et al. 2001).
- phosphoryliert die GluR1-Untereinheit am S (*Serin*) - 845-Rest des AMPA-R und steigert so die AMPA-Kanal – Offenwahrscheinlichkeit (Song & Huganir 2002; Wolf et al. 2003) und den AMPA-R-vermittelten Einwärtsstrom (Price et al. 1999; Snyder et al. 2000; Yan et al. 1999).
- disinhibiert die CaM-KII (Blitzer et al. 1998), die ebenso durch den zunehmenden Ca^{2+} -Einstrom aktiviert wird. CaM-KII verstärkt die AMPA-Kanal – Leitfähigkeit (Derkach et al. 1999) über eine Phosphorylierung der GluR1-Untereinheit am S-831-Rest (Barria et al. 1997) und ist im phosphorylierten Zustand hinreichend für die Expression von LTP (Lisman et al. 2002).
- deaktiviert indirekt Phosphatasen, die sonst NMDA- und AMPA-R dephosphorylieren und so den kationischen Einwärtsstrom vermindern (Jay 2003; Snyder et al. 1998).
- fördert in Verbindung mit CaM-KII den Einbau von postsynaptischen AMPA-R (Esteban et al. 2003; Gao et al. 2006; Smith et al. 2005).

Diese Mechanismen greifen modulierend in die synaptische Transmission und Plastizität ein (siehe *Abb. 11*). Die langandauernde Komponente der LTP benötigt neue Proteinsynthese und Gentranskription (Abraham & Williams 2003; Lynch 2004; Pittenger & Kandel 2003). Signalgebende Moleküle sind PKA, CaM-KII, Mitogen-aktivierte Proteinkinase (*MAPK*), welche ihrerseits den Schlüsseltranskriptionsfaktor CREB (*cAMP response element-binding protein*) und andere Gene aktivieren (Abraham & Williams 2003; Lynch 2004; Pittenger & Kandel 2003; Silva et al. 1998). Die Phosphorylierung von CREB ermöglicht die Transkription neuer Gene, was entscheidend für die Aufrechterhaltung der langanhaltenden, synaptischen Plastizität und die Formation des Langzeitgedächtnisses ist (Silva et al. 1998).

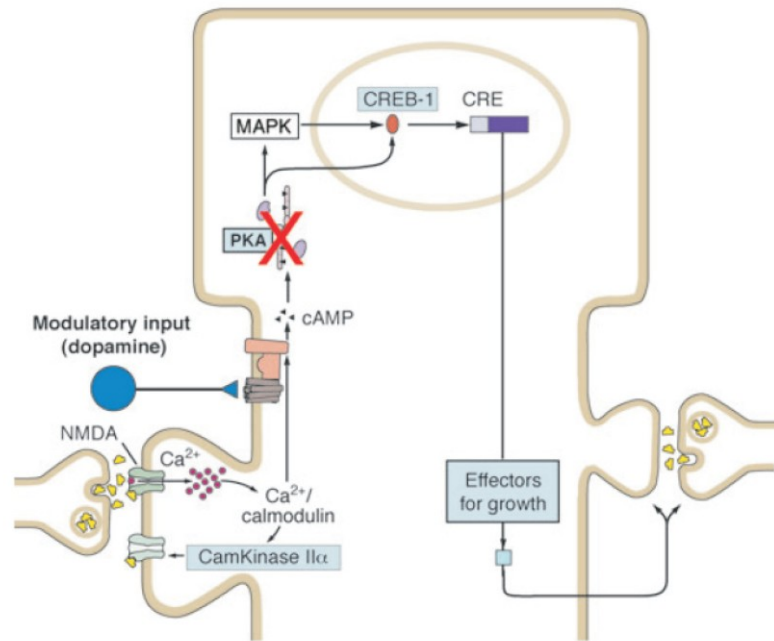


Abbildung 11. Schematische Darstellung der *Signalkaskade, die zur Proteinsynthese führt*. DA und Ca²⁺ steigern die cAMP-Konzentration, was die PKA und MAPK aktiviert. Diese Kinasen aktivieren CREB im Nukleus und initiieren den Transkriptionsprozess, der zur Synthese neuer Proteine führt (Muzzio et al. 2009).

1.8.3 Modulation von LTP

Die Veränderung synaptischer Übertragung durch Neuromodulatoren wie DA wird als heterosynaptische Fazilitierung oder Depression bezeichnet. Wie lang die neuromodulatorische Wirkung anhält und welche zellulären Mechanismen dafür verantwortlich sind, hängt vom Erregungszustand des modulierten Neurons, der vorangehenden Aktivierung und der jeweiligen Region ab (Dudel et al. 2001).

Synaptische Plastizität und ihre Modulation durch DA wurde im HC am intensivsten an Schaffer-kollateral-Synapsen der Area CA1 untersucht (Jay 2003). Eine Stimulation von D1/D5-R verstärkte die Induktion sowie die Persistenz der LTP. Dies konnte sowohl *in vitro* (Otmakhova & Lisman 1996; Swanson-Park et al. 1999) als auch *in vivo* (Lemon & Manahan-Vaughan 2006; Li et al. 2003; Swanson-Park et al. 1999) nachgewiesen werden. Unterschwellige Stimulationsprotokolle, die selbst keine LTP induzieren, verursachten diese jedoch unter Stimulation eines D1/D5-R Agonisten über die cAMP-PKA-Kaskade (Li et al. 2003).

Bemerkenswert ist, dass die Tiere eine vergleichbar reduzierte Schwelle zur LTP Induktion auch nach einigen min ausbildeten, wenn sie einer neuen räumlichen Umgebung ausgesetzt worden waren. Diese erleichterte LTP Induktion konnte durch einen D1/D5-R Antagonisten verhindert werden.

Außer in der CA1 wurde im DG eine dopaminerge Modulation synaptischer Plastizität beobachtet. Hier konnte eine Verstärkung der LTP sowie eine Hemmung der Depotenzierung einer zuvor ausgelösten LTP gezeigt werden (Abe et al. 2009; Kulla & Manahan-Vaughan 2000; Kusuki et al. 1997). Ebenso konnte im Striatum (Calabresi et al. 2000; Centonze et al. 2003) und präfrontalen Kortex (Gurden et al. 2000) LTP durch D1/D5-R Stimulation über die cAMP-PKA – Kaskade verstärkt bzw. durch D1/D5-R Antagonismus blockiert sowie bei D1/D5-R Knock-out Mäuse nicht reproduziert werden.

Diese Ergebnisse verdeutlichen den engen Zusammenhang zwischen Detektion neuer sensorischer Information, der zeitgleichen Ausschüttung von DA im SUB sowie der erleichterten Induktion synaptischer Plastizität in diesen Regionen. Wenngleich das SUB eine Schlüsselrolle in der Interaktion zwischen HC und mesolimbischen dopaminergen System einnimmt (Blaha et al. 1997; Brudzynski & Gibson 1997; Legault & Wise 2001; Lisman & Grace 2005), liegen bislang keine Arbeiten zur dopaminergen Modulation synaptischer Plastizität im SUB vor.

2 Fragestellung

Folgende Hypothesen und Fragestellungen werden in der vorliegenden Arbeit überprüft:

DA moduliert die Schwelle zur Induktion synaptischer Plastizität an subikulären Pyramidalneuronen.

- Dopaminerge Modulation von LTP hat einen anderen Effekt an CA1-SUB – Synapsen als an vorgeschalteten CA3-CA1 – Synapsen.
- Dopaminerge Stimulation moduliert LTP zelltypspezifisch an CA1-SUB – Synapsen.
- Unterschiedliche Mechanismen liegen der zelltypspezifischen, dopaminergen Modulation von LTP zugrunde.
 - Welche Rezeptoren (NMDA-R) und Signalkaskaden (PKA) sind bei der Induktion von LTP involviert?
 - Lässt sich ein prä- oder postsynaptischer Wirkmechanismus identifizieren?

Vorbedingungen:

- CA1 und beide, subikuläre Pyramidenzelltypen unterscheiden sich in ihren intrinsischen Membraneigenschaften.
- Dopaminerge Stimulation verändert die intrinsischen Membraneigenschaften und die basale synaptische Transmission subikulärer Pyramidenzellen.

3 Material und Methoden

3.1 Tierpräparation

Es wurden adulte Wistar-Ratten (4-6 Wochen, beiden Geschlechts) aus der Eigenzucht des Instituts für Neurophysiologie, Charité – Universitätsmedizin Berlin verwendet. Für die Präparation wurden Tiere im Alter von 28 bis 42 Tage gewählt, da die Entwicklung des Gehirns zu diesem Zeitpunkt abgeschlossen ist und somit eine Untersuchung an bereits ausgebildeten synaptischen Verbindungen ermöglicht. Alle Versuchstiere wurden unter standardisierten Bedingungen mit Wasser und Trockenfutter *ad libitum* gehalten. Der Tagesrhythmus von 12:12 Stunden war nicht invertiert. Es wurde gemäß nationaler und internationaler Richtlinien angestrebt, den Stress der Tiere vor der Präparation so gering wie möglich zu halten und nur die unbedingt erforderliche Menge an Tieren zu töten.

Nach vorangegangener, tiefer Äther-Narkose mit Verlust der Schmerzreaktion wurden die Versuchstiere durch eine Guillotine dekapitiert, der Hirnblock freipräpariert, abgesetzt, entnommen und in oxygenierte, 0-4° C kalte, artifizielle zerebrospinale Flüssigkeit (ACSF) transferiert, welche folgende Zusammensetzung hatte (in mM):

NaCl	129	87
Na₂PO₄	1,25	1,25
NaHCO₃	26	26
KCl	3	2,5
CaCl₂	1,6	0,5
MgSO₄	1,8	-
MgCl₂	-	7
Glukose	10	25
Saccharose	-	75

Tabelle 1. physiologische *artifizielle zerebrospinale Flüssigkeit (ACSF)*, links und Saccharose-basierte ACSF für Patch-Clamp Aufnahmen, rechts. Alle Chemikalien bezogen von SIGMA-Aldrich, St. Louis (MO), USA.

Für Patch-Clamp Aufnahmen wurde die Präparation in eiskalter, Saccharose-basierter ACSF durchgeführt. Die Oxygenierung erfolgte durch Begasung mit Karbogen, einem Gasgemisch aus 95 % O₂ und 5 % CO₂. Mittels eines Vibratoms (Campden Instruments Ltd., Loughborough, UK) wurden aus dem isolierten Gewebe 400 µM dicke, horizontale Hirnschnitte gewonnen. Diese Schnittstärke stellt bei adulten Tieren durch Diffusion eine Sauerstoff- und Nährstoffversorgung auch in der Mitte des Schnittes sicher (Richards CD 1981). Die Gewebeschnitte enthielten den HC, den subikulären Komplex, die entorhinale und perirhinale Region sowie Teile des temporalen Kortex (*Abb. 12*).

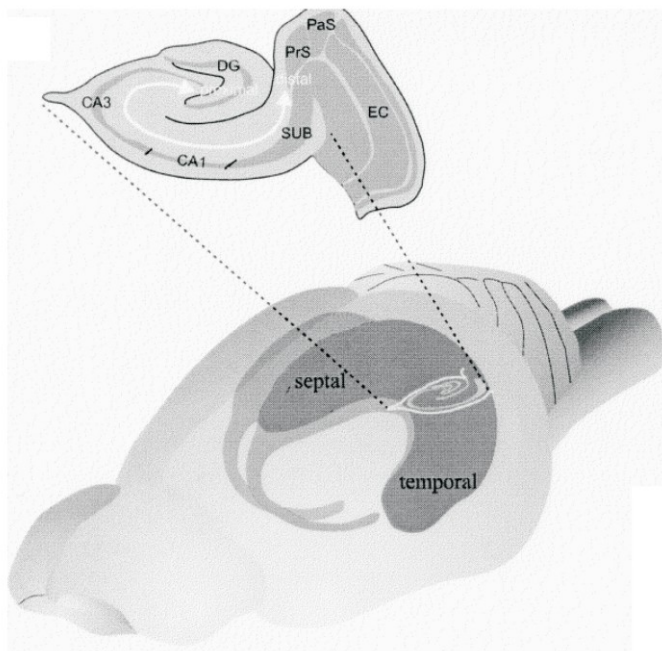


Abbildung 12.

3-dimensionale Ansicht des Rattenhirns von frontolateral mit horizontalem, c-förmigen HC im Ausschnitt. Abkürzungen: CA – Cornu ammonis, DG – Gyrus dentatus, EC – entorhinaler Kortex, PaS – Parasubikulum, PrS – Präsubikulum, SUB – Subikulum (Witter et al. 2000).

Nach Separation wurden die Schnitte für Aufnahmen mit scharfer Mikroelektrode einzeln in eine Interface-Kammer vom Haas-Typ (Eigenbau des Instituts für Neurophysiologie) überführt, welche mit Karbogen-begaster, vorgewärmter ($34 \pm 0,5^\circ$ C) ACSF perfundiert wurde (siehe *Abb. 13*). Hierbei werden die Hirnschnitte an der Grenze zwischen gasförmiger und flüssiger Phase des Nährmediums platziert. Nach Sättigung der ACSF-Lösung mit Karbogen stellte sich mit der bereits enthaltenen Bikarbonatpufferung (bei 34° C) ein pH-Wert von 7,4 ein. Die Schnitte für Patch-Clamp Experimente wurden 30 min unter ‚submerged‘ (eingetauchten) Bedingungen, bei 34° C aufbewahrt, danach in physiologische ACSF bei Raumtemperatur überführt. Für die Aufnahmen wurden die Schnitte in einer Immersionskammer fixiert und mit begaster ACSF-Badlösung mit 4-6 ml/min superfundiert.

3.2 Messaufbau

Die Durchführung der Experimente mit scharfer Mikroelektrode erfolgte unter Interfacebedingungen. *Abbildung 13* zeigt den zweigeteilten, zylindrischen Interface-Messaufbau, bestehend aus einer Perfusions- und einer Heizkammer. In der mit KODAK Filterlinsenpapier mehrlagig belegten Perfusionskammer aus Plexiglas werden die Schnitte aufbewahrt. Die umspülende Badlösung wird über Polyethylenschläuche mittels Peristaltikpumpe aus einem Vorratsgefäß zugeführt. Die Perfusionsgeschwindigkeit beträgt ca. 1,5-2 ml/min. Die Heizkammer ist mit *Aqua bidest.* gefüllt, erwärmt die zugeführte Lösung und leitet Karbogen über seitliche Belüftungsschlitze an die Oberfläche der Hirnschnitte. Zur Äquilibration werden die Hirnschnitte mindestens eine Stunde vor Beginn der Messungen inkubiert. Währenddessen werden beide inneren Kammern mit Filterpapier abgedeckt, um die Gasphase über der oberen Schnittseite gesättigt zu halten und ein potentielles Austrocknen der Schnittoberfläche zu verhindern. Unter diesen Bedingungen bleibt das Gewebe ca. 8-10 h vital. Der gesamte Aufbau ist von einem Faraday-Käfig umgeben, um Artefakte zu reduzieren, die vorwiegend durch die umgebende 50-Hz-Wechselspannung der Stromversorgung entstehen.

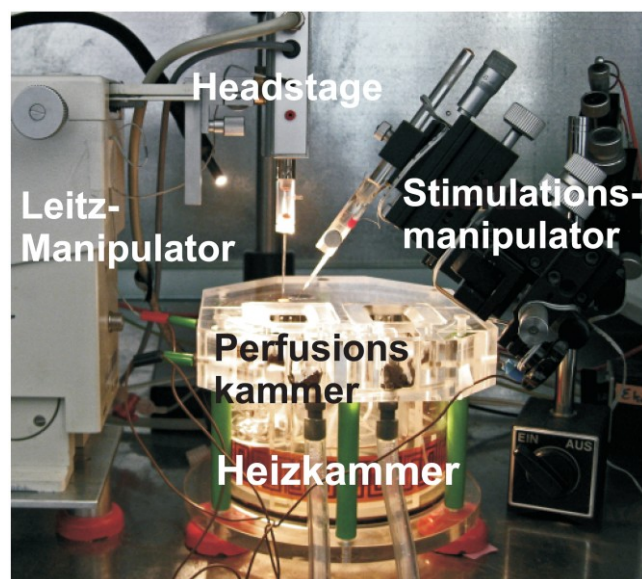


Abbildung 13.

Experimenteller Versuchsaufbau – Interface-Messkammer mit Perfusions- und Heizkammer.

3.3 Elektrophysiologische Untersuchungen

3.3.1 Vorteile der unterschiedlichen Arten der Intrazellulär-Messung

In dieser Arbeit wurden zwei Messkonfigurationen zur Registrierung des Membranpotentials oder Stroms über eine Zellmembran verwendet: Ableitungen mit scharfer Mikroelektrode im Bridge - Modus und Voltage-Clamp Messungen im Whole-Cell - Modus.

Die Messungen mit scharfer Mikroelektrode haben den Vorteil, dass durch den relativ kleinen Öffnungsdurchmesser mit hohem Widerstand der Ionenaustausch zwischen Intrazellulärflüssigkeit der Zelle und der Elektrolyte innerhalb der Pipette gering gehalten wird. So bleibt der Effekt auf die ionische Zusammensetzung der Intrazellulärflüssigkeit minimal und postsynaptische Transduktionskaskaden werden nicht ausgewaschen. Dies ist ein wesentlicher Vorzug dieser Messtechnik im Vergleich zur Patch-Clamp - Technik in der Whole-Cell - Konfiguration, bei der die Intrazellulärflüssigkeit der Zelle sich mit der Lösung innerhalb der Aufnahmeelektrode mischt und es somit zum 'wash-out', d.h. zur sukzessiven Minderung intrazellulärer Komponenten (wie sekundärer Botenstoffe) kommen kann.

Der Vorteil der Patch-Clamp - Technik besteht dagegen darin, dass über die Patch-Pipette Pharmaka spezifisch in die untersuchte Zelle appliziert und somit postsynaptische Kaskaden sowie Kanäle beeinflusst werden können.

3.3.2 Stromklemme vs. Spannungsklemme

Die Untersuchung der intrinsischen und synaptischen Eigenschaften von CA1 und subikulären Neuronen erfolgte im Modus der Stromklemme mit scharfer Mikroelektrode, die Untersuchung der synaptischen Eigenschaften im Modus der Spannungsklemme unter Patch-Clamp Bedingungen.

In der Spannungsklemme wird das Membranpotential durch Strominjektion via eines rückkopplungsmodulierten Regelkreises auf vorgegebenem, spezifischem Niveau fixiert und der dafür notwendige Kompensationsstrom gemessen.

In der Konfiguration der Stromklemme wird hingegen die Spannung gemessen und es können RMP, AP und evozierte postsynaptische Potentiale aufgenommen werden. Für Messungen in der Stromklemme wurde der spezielle Bridge - Modus verwendet, der durch einen elektrischen Schaltkreis den hohen Eingangswiderstand der scharfen Mikroelektrode kompensieren kann.

3.3.3 Stimulations- und Aufnahmeelektroden

Bei Messungen mit scharfer Mikroelektrode wurden zur Auslösung synaptisch evozierter Potentiale die Afferenzen der Pyramidenzellen mittels einer bipolaren Mikrostimulationselektrode orthodrom gereizt. Zur Herstellung dieser Reizelektrode wurden doppelumige Thetaglas-Kapillaren (Hilgenberg GmbH, Malsfeld, Deutschland) verwendet, die mittels eines automatischen Pipettenziehgerätes (DMZ Universal Microelectrode Puller, Zeitz, Augsburg, Deutschland) hergestellt und auf einen Spitzendurchmesser von über 100 μm zurückgebrochen wurden. Silberdrähte wurden an einem Ende mit Platin-Iridium-Drähten (25 μm Durchmesser) verlötet und mit dieser Seite voran in je einen Schenkel der Thetakapillare geschoben, bis ca. 1-2 mm des Drahtes aus der Kapillarspitze ragte. Unter einem Mikroskop wurden diese beiden Enden mittels erhitzten Schellacks so gegeneinander isoliert, dass die Drähte parallel ausgerichtet waren und ihr Abstand ca. 50-100 μm betrug.

Bei Patch-Clamp Messungen wurden unter submerged Bedingungen pseudounipolare Mikrostimulationselektroden (Science Products GmbH, Hofheim, Deutschland) verwendet, die weitleumigen Patch-Clamp - Messelektroden entsprachen.

Kurzschlussströme wurden durch die Pseudounipolarität der Elektroden verhindert.

Zur Signalerfassung wurden filamenthaltige Glaskapillaren (Science Products GmbH, Hofheim, Deutschland) aus Borosilikatglas von 1,2 mm Außendurchmesser verwendet, die mit Hilfe des Elektrodenziehgerätes in einem Schritt so hergestellt wurden, dass der Spitzendurchmesser für scharfe Mikroelektroden weniger als 0,5 μm und ihr Widerstand zwischen 50 und 90 M Ω betrug. Die fertigen Pipetten wurden blasenfrei mit 2,5 M K⁺-Acetat gefüllt und ein chlorierter Silberdraht eingebracht, der die Elektrolytlösung elektrisch mit Verstärker und Signalverarbeitungskreislauf verband.

Patch-Clamp Elektroden mit einem Widerstand von 4-6 M Ω wurden mit folgender Lösung gefüllt (in mM): K-Glukonat 135; KCl 20; HEPES 10; Phosphokreatin 7; Mg-ATP 2; Na-GTP 0,3; EGTA 0,2 (SIGMA-Aldrich, St. Louis, USA) und mit KOH auf einen pH von 7,2 angepasst.

Um postsynaptische Potentiale/Ströme in CA1 Pyramidenzellen zu evozieren, wurde die Reizelektrode extrazellulär im Stratum radiatum der CA1 Region positioniert. Um synaptisch evozierte Potentiale/Ströme in SUB Pyramidenzellen zu untersuchen, wurde die Reizelektrode im Alveus plaziert.

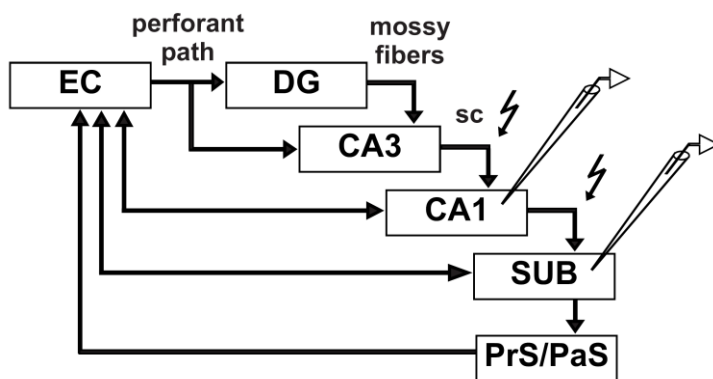


Abbildung 14. Schematisches Diagramm der hippocampalen Formation mit Platzierung der stimulierenden und aufnehmenden Elektroden in Area CA1 und im SUB. Pfeile - exzitatorische Verbindungen, Blitze - Stimulationsorte im Stratum radiatum der CA1 und im Alveus zwischen CA1 und SUB.

3.3.4 Technik der Intrazellulär-Messung

Bei Messungen mit scharfer Mikroelektrode wurde mittels eines Leitz-Manipulators (siehe Abb. 13) die aufnehmende Elektrode unter mikroskopisch-visueller Kontrolle platziert. Unter ständiger (2 Hz) Applikation eines hyperpolarisierenden Strompulses (-0,1 nA) wurde zunächst der Elektrodenwiderstand auf der Gewebeoberfläche mit Hilfe des Bridge-Schaltkreises kompensiert. Die Elektrode wurde langsam, sukzessiv in das Gewebe eingeführt und währenddessen mittels kurzer, oszillierender Strompulse („buzz“) versucht, eine Zelle zu penetrieren. Der Kontakt zur Zelle war durch eine schnelle Hyperpolarisation auf Werte auszumachen, die leicht positiver als das RMP waren. Darauf wurde die Zelle hyperpolarisiert und langsam RMP-Werten angepasst.

Bei Patch-Clamp Messungen erfolgte die Auswahl der Neuronen und die Positionierung der Pipetten (Stimulations- und Mess-Patchpipette) unter visueller Kontrolle mittels eines 63x Wasserimmersionsobjektivs sowie Kamera und Monitor.

Das Prinzip der Patch-Clamp - Technik beruht auf einem elektrischen Rückkopplungsmechanismus: Das Potential der untersuchten Zelle wird konstant gehalten und der dazu notwendige Kompensationsstrom gemessen. Die gleichzeitige Strommessung und Potentialkontrolle wird durch eine Strom-Spannungswandlung bewerkstelligt, dessen wichtigste Komponenten der Operationsverstärker und der Referenzwiderstand sind. Bei Abweichungen zwischen Membranpotential und Kommandospannung, die von der Steuereinheit vorgegeben wird, entsteht am Verstärkerausgang eine Spannung, die proportional zu dieser Differenz und extrem verstärkt ist. Aufgrund des Spannungsunterschiedes fließt solange ein Strom über den Referenzwiderstand, bis die Differenz am Verstärkereingang aufgehoben ist. Mittels Referenzwiderstandes ist eine Reaktion auf Spannungswechsel im Mikrosekundenbereich möglich, was unerlässlich für hohe zeitliche Auflösung bei der Strommessung ist. Störgrößen wie die Membrankapazität oder die Pipettenkapazität werden über Rückkopplungskreise kompensiert.

Nach dem Einführen der Pipette in die Badlösung wird über einen Test-Spannungspuls und die resultierende Stromantwort der Widerstand kontinuierlich überwacht. Der Kontakt zwischen Pipettenspitze und Zellmembran löst einen Anstieg des Widerstandes aus, was durch eine Reduktion der Stromantwort erkennbar wird. Das Ansetzen von Unterdruck in der Pipette führt nun zur Entwicklung eines G Ω -Seal, einer elektrisch dichten Verbindung zwischen Membran und Pipettenspitze: Diese Konfiguration wird auch als „Cell-Attached“ - Modus bezeichnet. Durch den G Ω -Seal werden Leckströme zwischen Membranoberfläche und Pipettenspitze auf ein Minimum reduziert. Von der Cell-Attached - Konfiguration gelangt man zu 3 Folgekonfigurationen: Whole-Cell, Inside-Out und Outside-Out. In der Whole-Cell - Konfiguration werden keine Einzelkanalströme, sondern die Gesamtstromantwort einer Zelle als Summe aller aktiven Kanäle gemessen.

3.3.5 Intrinsische Eigenschaften

Nach Stabilisierung des RMP wurden die Zellen auf ihre intrinsischen Eigenschaften untersucht. Zur Charakterisierung des intrinsischen Entladungsverhaltens wurden stufenweise hyper- und depolarisierende Strominjektionen (-0,5 nA bis +1,0 nA; 200 ms) appliziert. Dabei wurden RMP, Eingangswiderstand, Entladungsverhalten sowie die Akkommodation der Entladungsfrequenz der Zelle bestimmt.

Für die Messungen wurden nur Zellen akzeptiert, deren RMP negativer als -60 mV und deren Eingangswiderstand > 25 M Ω war. Änderungen des Eingangswiderstandes wurden kontinuierlich überwacht und über den Bridge-Rückkopplungskreis adaptiert.

Messungen von AP wurden bei einem zur AP-Induktion gerade überschwelligen Strompuls vorgenommen. Die relative AP-Schwelle wurde als die Spannungsdifferenz zwischen RMP und dem Beginn des schnell ansteigenden Schenkels des AP angegeben, die AP-Amplitude als Spannungsdifferenz zwischen RMP und AP-Maximum. Die AP-Dauer wurde auf halber AP-Amplitude gemessen.

Eingangswiderstand, „Sag Ratio“ und „Rebound Ratio“ wurden bei hyperpolarisierender Strominjektion von -0,3 nA untersucht. Die Sag Ratio wurde als Quotient aus Plateau- und maximaler Spannungsänderung bei hyperpolarisierender Strominjektion berechnet. Die Rebound Ratio gibt den Quotient aus Plateau- und maximaler Spannungsänderung nach Abbruch der hyperpolarisierenden Strominjektion an (Abb. 15).

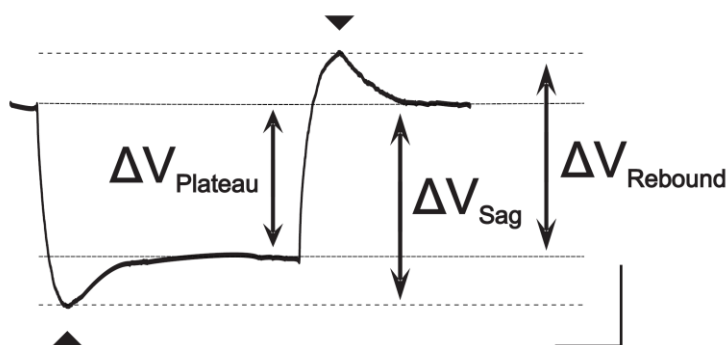


Abbildung 15. Darstellung von Sag Ratio ($\blacktriangle = \Delta V_{\text{Plateau}} / \Delta V_{\text{Sag}}$) und Rebound Ratio ($\blacktriangledown = \Delta V_{\text{Plateau}} / \Delta V_{\text{Rebound}}$) anhand Spannungsantwort einer subikulären BURST Pyramidenzellen auf hyperpolarisierenden Strompuls (-0,5 nA). Skalierung: 10 mV, 50 ms.

3.3.6 Synaptische Eigenschaften

Stimuliert wurde mit Doppelpulsen (0,1 ms Dauer; 50-60 ms Interstimulusintervall), die Stimulationsfrequenz betrug 0,033 Hz mit Ausnahme der Hochfrequenzstimulationsperiode. Durch Stimulation der afferenten Nervenfasern konnten evozierte, exzitatorische postsynaptische Potentiale bzw. Ströme (*EPSP bzw. EPSC*) registriert werden. Die Stimulationsintensität lag zwischen 1,5 und 4 V, so dass die EPSP/EPSC-Amplitude unter Kontrollbedingungen zwischen 30 und 40 % der maximalen Amplitude betrug. Da Bursts von AP Transmitterfreisetzung und synaptische Plastizität verstärken können (Lisman 1997; Pike et al. 1999), wurden nur Messungen aufgenommen, bei denen es zu keiner Entladung gekommen war. Nach Aufnahme von stabilen Kontrollwerten (*Baseline*) über einen Zeitraum von mindestens 10 min erfolgte das hochfrequente Stimulationsprotokoll und eine weitere 30-minütige Aufnahme, um synaptische Plastizität beurteilen zu können.

3.3.7 Elektrische Stimulation und Pulsprotokolle

Die Induktion einer LTP erfolgte mit einem Stimulationsprotokoll bestehend aus 4 hochfrequenten Reizungen von 100 Pulsen zu 100 Hz im Abstand von 10 s (4x100 P / 100 Hz). Als unterschwelliges Stimulationsprotokoll wurde ein schwach hochfrequentes Stimulationsprotokoll (*HFS*) mit 25 Pulsen zu 50 Hz (1x25 P / 50 Hz) verwendet (siehe ‚*Ergebnisse 4.3*‘). Unter Whole-Cell Patch-Clamp und submerged Bedingungen wurde das Protokoll angepasst und die Pulszahl gesteigert (1x100 P / 50 Hz), während der HFS in den Modus der Stromklemme gewechselt.

3.4 Datenaquisition und -analyse

Die elektrophysiologischen Messungen mit scharfer Mikroelektrode wurden mittels eines SEC 10 LX-Verstärkers (NPI Instruments, Tamm, Deutschland) 10fach verstärkt, durch einen analogen Bessel-Tiefpassfilter bei 3 kHz gefiltert und 100fach nachverstärkt. Die Daten wurden mit einer Aquisitionsrate von 10 kHz aufgenommen. Das analoge Signal wurde mittels eines 16-bit Wandlers (ITC-16 von InstruTech Corporation, N.Y., USA) erfasst und digital auf einen PC unter Verwendung der Computersoftware Win-Tida 4.11 (HEKA Elektronik GmbH, Lambrecht, Deutschland) gespeichert. Im Fall von Patch-Clamp Ableitungen wurden die Signale mittels eines Digidata 1440 Wandlers aufgenommen und mittels PClamp 10 Software (Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA) verarbeitet. Während der Experimente wurden alle Signale simultan auf einem Oszilloskop gesichtet. Ein Teil der Patch-Clamp Experimente wurde von Kollegen aus der Arbeitsgruppe Behr des Instituts für Neurophysiologie, Charite Campus Mitte durchgeführt.

Alle EPSP/EPSC Amplituden sind als prozentuale Veränderung gegenüber der Baseline ausgedrückt. Zwei konsekutive EPSP/EPSC Amplituden sind jeweils graphisch zu einem Datenpunkt zusammengefasst. Veränderungen der synaptischen Stärke sind als Mittelwert der EPSP/EPSC-Amplituden im Zeitraum von 20 bis 30 min nach HFS dargestellt. Das Ausmaß der PTP ist aus den drei Datenpunkten nach HFS gemittelt. Die PTP stellt die Steigerung von EPSP an der präsynaptischen Membran aufgrund repetitiver Reizung dar und dauert zwischen 30 s und einigen Minuten an (Zucker & Regehr 2002).

Um zu untersuchen, ob Veränderungen der synaptischen Transmission auf prä- oder postsynaptischen Modifikationen beruhen, wurden Veränderungen des **Doppelpulsindex (PPI)** und des **Variationskoeffizienten (CV)** analysiert. Der PPI beschreibt die Fähigkeit von Synapsen, die Transmitterfreisetzung beim zweiten von zwei zeitlich separierten, afferenten Reizen zu erhöhen, und hängt von der residualen Ca^{2+} -Konzentration des präsynaptischen Terminals ab (Zucker & Regehr 2002). Der PPI ist definiert als Quotient aus der Amplitude des zweiten und der Amplitude des ersten EPSP des Doppelpulses (EPSP2/EPSP1). Ändert sich der PPI, deutet dies auf einen präsynaptischen Mechanismus hin (Debanne et al. 1996; Regehr & Tank 1991).

Der CV hängt von zwei präsynaptischen Einflussgrößen ab: der Anzahl der Freisetzungstellen (n) und der Freisetzungswahrscheinlichkeit (p) von Transmittermolekülen und lässt sich ausdrücken als $CV = [(1 - p) / np]^{-1/2}$ (Faber & Korn 1991; Manabe et al. 1993; Voronin 1993). Im Rahmen elektrophysiologischer Untersuchungen zur synaptischen Plastizität wird meist der Term CV^{-2} verwendet (Bekkers & Stevens 1990; Malinow & Tsien 1990; Manabe et al. 1993). Er wurde berechnet als

$$CV^{-2} = (\text{Mittelwert des EPSP} / \text{Standardabweichung des EPSP})^2$$

in einem 10-minütigen Zeitraum 20 min vor und nach HFS.

Numerische Daten sind als arithmetisches Mittel \pm Standardfehler (*SEM*) angegeben. Fehlerbalken in den Graphiken stellen den Standardfehler dar.

Die statistische Auswertung erfolgte mittels Excel (Office 2007, Microsoft Corporation, Redmond, USA) und SPSS (SPSS Inc, USA). Zur statistischen Analyse wurde je nach Experiment der Student's t-Test für gepaarte oder ungepaarte Experimente oder die einfaktorielle Varianzanalyse (ANOVA) zum Vergleich des Mittelwertes zwischen Gruppen angewandt. Bei gepaarten Versuchen kamen im Verlauf eines Experimentes verschiedene Pharmaka bzw. HFS zum Einsatz. Es wurden die Werte von einer Zelle jeweils vor und nach Substanzgabe bzw. Stimulation verglichen. Als ungepaartes Experiment wurde die Gegenüberstellung von Zellkohorten angesehen.

Es wurden jeweils die Werte von 10 min Baseline und Werte zwischen 20. und 30. min nach HFS verglichen. Für die erhobenen Daten wurde eine Normalverteilung angenommen. Abhängig vom p-Wert wurden drei Signifikanzlevel definiert:

- * für $p < 0,05$ „signifikant“,
- ** für $p < 0,01$ „hoch signifikant“,
- *** für $p < 0,001$ „höchst signifikant“.

Aus Gründen der Übersichtlichkeit wird auf die Dokumentation der Zahlenwerte nichtsignifikanter (*ns*) p-Werte verzichtet. Die Bilder und Grafiken wurden mit der Software CorelDraw (Graphics Suite X3, Corel Corporation, Ottawa, Kanada) erstellt.

3.5 Pharmaka

Die verwendeten Pharmaka wurden als Stammlösung aliquotiert bei -18° in Einzeldosen aufbewahrt - mit Ausnahme von Bicucullin, das bei $+4^{\circ}$ C gelagert wurde. Unmittelbar vor Versuchsbeginn wurden die gewählten Substanzen aufgetaut, auf die gewünschte Konzentration mit ACSF verdünnt und über die Badlösung appliziert.

Alle Ableitungen wurden in Anwesenheit der GABA_A-R Antagonisten Bicucullin oder SR-95531 durchgeführt, um GABA_A-Antworten zu hemmen. Somit wurde ausgeschlossen, dass die LTP auf einer Abnahme der GABA_A-vermittelten Inhibition beruht. Zur Verminderung polysynaptischer Antworten wurden die ACSF-Konzentrationen von Magnesiumsulfat und Kalziumchlorid während der Experimente jeweils auf 4 mM erhöht (Berry & Pentreath 1976; Miles & Wong 1987; Nicholls & Purves 1970). Für alle Messungen wurde nach dem Einwaschen der jeweiligen Substanzen ein neuer Hirnschnitt benutzt.

Bei Experimenten unter Verwendung von H-89 (10 μ M) wurden die Schnitte mindestens eine Stunde mit dem nur langsam membrangängigen Pharmakon präinkubiert. Die intrazelluläre Applikation des Ca²⁺-Puffers BAPTA veränderte nicht das Entladungsverhalten der subikulären Zellen. Hinweisend auf effektive BAPTA Applikation wurde eine Hemmung der langsamen Nachhyperpolarisation nach Burst-Entladung in BURST Zellen beobachtet. Obwohl einige Autoren BAPTA-vermittelte Abnahmen der postsynaptische Antworten beschreiben (Lapointe et al. 2004), konnten stabile Baseline Antworten in den meisten Aufnahmen mit BAPTA festgestellt werden. Zellen, die eine Abnahme der Antworten von $> 15\%$ zeigten, wurden nicht eingeschlossen.

Nachfolgend sind die verwendeten Pharmaka, deren Hauptrezeptorfunktionen und Endkonzentrationen zusammengefasst:

Pharmaka	Funktion	Konzentration	CAS-Bezeichnung	Quelle
SKF 38393 (+/-)-1-Phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-(1H)-3-benzazepine-7,8-diol hydrobromid	D1-/D5-R Agonist	100 µM in DMSO	81633774	Tocris, Bristol, UK
SCH 23390 (R)-(+)-7-Chloro-8-hydroxy-3-methyl-1-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1H-3-benzazepine hydrochloride	D1-/D5-R Antagonist	10 µM in H ₂ O	125941879	Tocris, Bristol, UK
D-AP5 D-(-)-2-Amino-5-phosphonopentanoic acid	NMDA-R Antagonist	100 µM in H ₂ O	79055688	Tocris, Bristol, UK
Bicucullin [R-(R*, S*)]-5-(6,8-Dihydro-8-oxofuro[3,4-e]-1,3-benzodioxol-6-yl)-5,6,7,8-tetrahydro-6,6-dimethyl-1,3-dioxolo[4,5-g]isoquinolinium iodide	GABA _A -R Antagonist	5 µM in H ₂ O	055950077	SIGMA-Aldrich, St. Louis (MO), USA
SR-95531 / GABAzin 6-Imino-3-(4-methoxyphenyl)-1(6H)-pyridazinebutanoic acid hydrobromide	GABA _A -R Antagonist	1 µM in DMSO	104104509	Tocris, Bristol, UK
H-89 N-[2-(p-Bromocinnamylamino)ethyl]-5-isoquinolinesulfonamide dihydrochloride	Proteinkinase A Inhibitor	10 µM in DMSO	130964395	SIGMA-Aldrich, St. Louis (MO), USA
BAPTA 1,2-Bis(2-aminophenoxy)ethane-N,N,N',N'-tetraacetic acid	Nicht membran-permeabler Ca ²⁺ Puffer	30 mM in H ₂ O	85233198	SIGMA-Aldrich, St. Louis (MO), USA
BAPTA-AM BAPTA Acetoxymethyl ester	Membran-permeabler Ca ²⁺ Puffer	50 mM in H ₂ O	126150978	SIGMA-Aldrich, St. Louis (MO), USA

Tabelle 2. *Verwendete Pharmaka.*

4 Ergebnisse

4.1 Membraneigenschaften von CA1 und SUB Pyramidenzellen

Zu Beginn jeder Messung wurden CA1 und subikuläre Neurone entsprechend ihrer Membraneigenschaften mittels intrazellulärer Strominjektionen charakterisiert (200 ms; -0,5 bis +0,5 nA). Hauptunterscheidungsmerkmal war das Entladungsverhalten. Bei depolarisierenden Stromstufen zeigten CA1 Pyramidenzellen ähnlich wie subikuläre REG Neurone multiple, rhythmische Einzelentladungen in stark adaptierender Frequenz, jeweils gefolgt von einer schnellen Nachhyperpolarisation. Im Gegensatz dazu antworteten subikuläre BURST Zellen mit einem Burst von 2-4 AP (209,2 ± 7,78 Hz), die AP gefolgt von einer schnellen Nachdepolarisation, der Burst gefolgt von einer langsamen Nachhyperpolarisation und multiplen, rhythmischen Einzelentladungen konstanter Frequenz (Abb. 16a, b und 17).

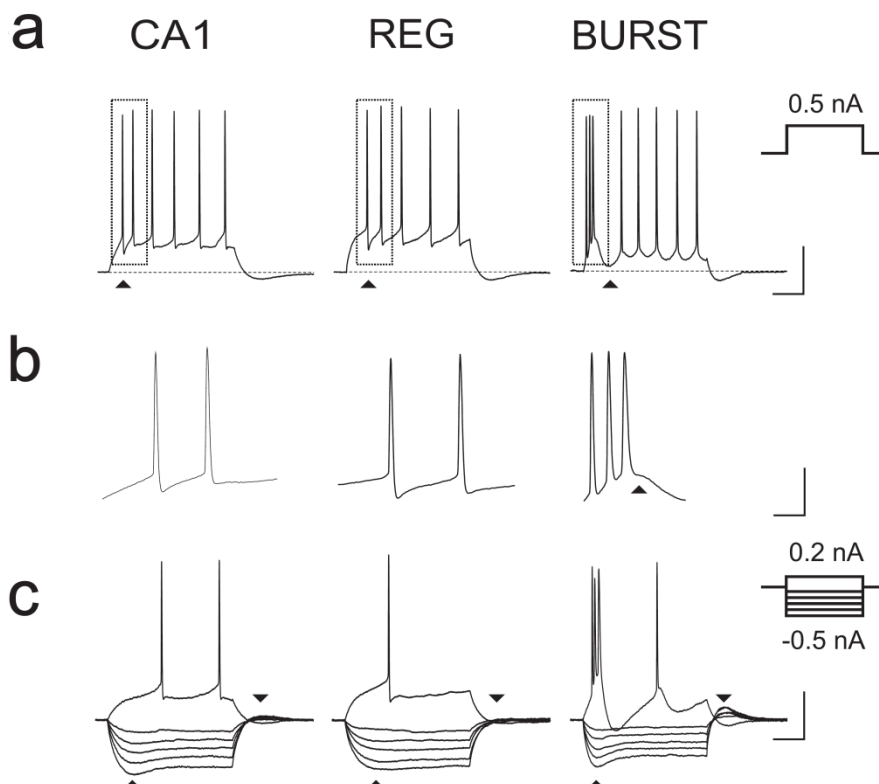


Abbildung 16. Exemplarische Spannungsantwort von CA1, subikulären REG und BURST Neuronen auf intrazellulär injizierte Strompulse (rechts: Stimulationsstromprotokoll. Pulsdauer: 200 ms; Stromamplitude: -0,5 bis -0,1 nA; in 0,1-nA Schritten; +0,2 und +0,5 nA). **a)** BURST Zellen reagieren auf depolarisierenden Strompuls mit Alles-oder-nichts Burst-Entladung gefolgt von einer starken, langsamen Nachhyperpolarisation (▲) und einer Serie von Einzelentladungen, wobei REG Zellen Einzelentladungen

in stark adaptierender Frequenz gefolgt von einer schnellen Nachhyperpolarisation (\blacktriangle) zeigen. Skalierung: 25 mV, 50 ms. **b)** Ausschnitt aus a). BURST Zellen entladen gefolgt von schneller Nachdepolarisation (\blacktriangle). Skalierung: 25 mV, 10 ms. **c)** BURST Neurone zeigen ausgeprägte Sag- (\blacktriangle) und Rebound-Potentiale (\blacktriangledown) bei hyperpolarisierenden Strompulsen im Gegensatz zu REG Zellen. Skalierung: 25 mV, 50 ms.

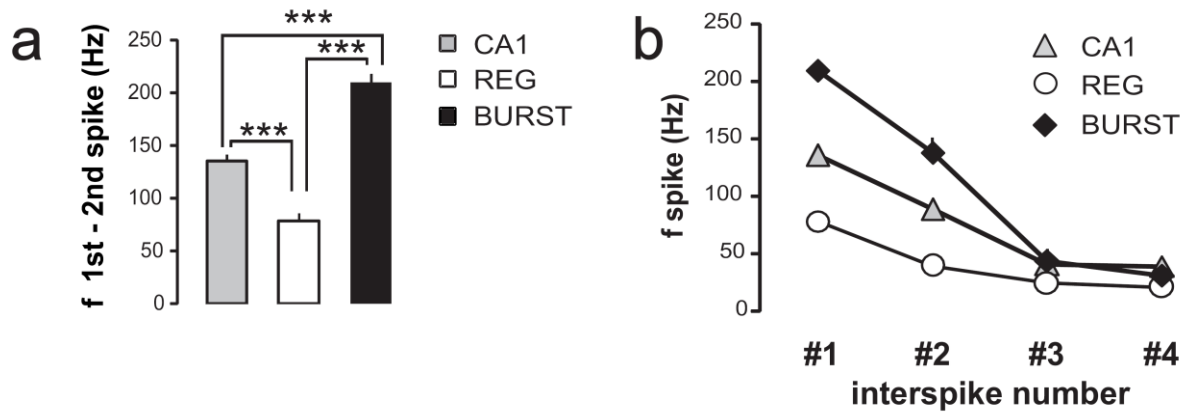


Abbildung 17. **a)** Vergleich der Entladungsfrequenz bei depolarisierenden Strompulsen (200 ms; +0,5 nA). Die unterschiedlichen Entladungsfrequenzen wurden über 2 initiale konsekutive AP berechnet. BURST Zellen zeigen die höchste Entladungsfrequenz. Signifikanz-Level in dieser und folgenden Abbildungen: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$. **b)** Frequenzakkomodation bei depolarisierenden Strompulsen (200 ms; +0,5 nA). Die unterschiedlichen Entladungsfrequenzen wurden als Frequenz-Mittelwert von 2 konsekutiven AP berechnet. BURST Zellen zeigen eine konstante Entladungsfrequenz nach einer initial hochfrequenten Burst-Phase (#1 und 2), wobei REG Zellen Frequenzakkomodation aufweisen. $n_{CA1} = 11$, $n_{REG} = 34$, $n_{BURST} = 38$.

Von einer Unterscheidung zwischen schwach und stark Burst-feuernden Zellen abhängig von der Entladungsschwelle wurde hier abgesehen, wie in anderen Studien vorgeschlagen (Knopp et al. 2005; Menendez et al. 2003; Staff et al. 2000). Wenn das RMP während der Charakterisierung weniger als -70 mV betrug, wurden die Neurone leicht hyperpolarisiert, da BURST Zellen im depolarisierten Zustand ein reguläres Entladungsmuster zeigen können (Cooper et al. 2006; Stewart & Wong 1993). Eine Untergruppe von Zellen mit Entladung hochfrequenter AP ohne Akkomodation (> 200 Hz) wurde als potentielle Interneurone klassifiziert und deshalb von der Untersuchung ausgeschlossen. Insgesamt wurden 12 CA1 Neurone und 201 subikuläre Neurone gemessen, von denen 57 % als BURST, 41% als REG und 2% als Interneurone klassifiziert wurden (Abb. 18).

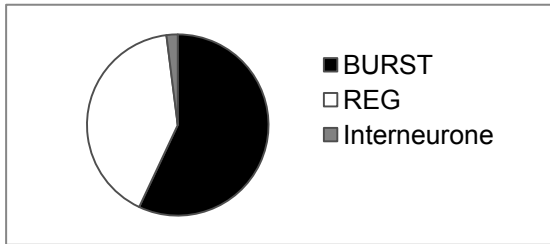


Abbildung 18.

Zahlenverhältnis von subikulären Zelltypen: Interneurone, REG und BURST Pyramidalneurone.

Tabelle 3 fasst die Membraneigenschaften von CA1 und subikulären Neuronen zusammen, die mit scharfer Mikroelektrode gemessen wurden. Wie in früheren Arbeiten beschrieben sind subikuläre REG und BURST Pyramidenzellen in den meisten Membraneigenschaften wie RMP und AP-Dauer vergleichbar (Menendez et al. 2003; Staff et al. 2000). Subikuläre BURST Zellen zeigten ein geringfügig positiveres RMP als CA1 Neurone.

	CA1	SUB REG	SUB BURST
rmp (mV)	-71.7 ± 2.1 ^a	-68.8 ± 0.8	-66.7 ± 0.7
R input (MΩ)	67.4 ± 3.1 ^a	68.0 ± 4.3	48.0 ± 3.0 ^c
AP threshold, rel (mV)	12.7 ± 1.1	17.8 ± 1.0 ^b	11.3 ± 0.7 ^c
AP height (mV)	73.6 ± 1.9	75.5 ± 1.4	69.5 ± 0.9 ^c
AP half-height width (ms)	0.99 ± 0.02	1.08 ± 0.05	0.99 ± 0.04
sag ratio	0.89 ± 0.01 ^a	0.93 ± 0.02 ^b	0.80 ± 0.01 ^c
rebound ratio	0.93 ± 0.01 ^a	0.93 ± 0.01	0.80 ± 0.02 ^c
number	11	34	38

Tabelle 3. Passive & aktive Membraneigenschaften von CA1, subikulären REG und BURST Neuronen.

^a p < 0.05, CA1 versus subikuläre BURST Zellen.

^b p < 0.05, CA1 versus subikuläre REG Zellen.

^c p < 0.05, subikuläre REG versus BURST Zellen.

Zudem hatten BURST Zellen eine niedrigere (relative) Entladungsschwelle als REG Zellen. In Analogie zu vorherigen Publikationen (Greene & Totterdell 1997; Menendez et al. 2003) waren sowohl bei subikulären REG Zellen als auch bei CA1 Neuronen Sag- und Rebound-Potentiale bei hyperpolarisierenden Strompulsen wenig ausgeprägt oder nicht vorhanden, wobei BURST Zellen betonte Sag- und Rebound-Potentiale aufwiesen (*Abb. 16c*).

Zusammenfassend korrelieren CA1 und subikuläre REG Neurone stark in ihren elektrophysiologischen Membraneigenschaften. Davon abgrenzen lassen sich subikuläre BURST Zellen, einerseits aufgrund des Entladungsverhaltens, andererseits durch langsame statt schneller Nachhyperpolarisation, Nachentladungen konstanter Frequenz ohne Akkomodation, niedrigere Entladungsschwelle und AP-Höhe sowie ausgeprägter Sag- und Rebound-Potentiale.

4.2 Effekt von D1/D5-R Aktivierung auf synaptische Eigenschaften von SUB Pyramidenzellen

Als Voraussetzung für Untersuchungen zur aktivitätsabhängigen, synaptischen Plastizität wurde zunächst der Einfluss einer D1/D5-R Aktivierung auf die synaptische Transmission untersucht.

Die erste Serie von Experimenten wurde mit scharfen Mikroelektroden durchgeführt. Afferente Fasern aus der CA1 Region wurden kontinuierlich orthodrom gereizt. Eine 15-minütige Bad-Applikation des spezifischen D1/D5-R Agonisten SKF 38393 führte zu keiner signifikanten Veränderung der EPSP-Amplituden in subikulären REG und BURST Pyramidenzellen (*Abb. 19*). Demzufolge wurde das Zeitfenster der dopaminergen Stimulation auf 30 min verlängert. SKF 38393 induzierte keine aktivitätsunabhängige LTP, weder während noch in den 20 min nach der Applikationsphase (*Abb. 20*). Signifikante Veränderungen des Eingangswiderstands wurden nicht beobachtet. Jedoch zeigte die Aktivierung von D1/D5-R einen geringen, depolarisierenden Effekt auf das RMP von $3,56 \pm 0,36$ mV in REG ($p < 0,01$; $n = 7$) und $1,25 \pm 0,52$ mV in BURST Zellen ($p < 0,05$; $n = 6$). Die Depolarisation war innerhalb 5 min nach dem Auswaschen reversibel (*Abb. 20c*).

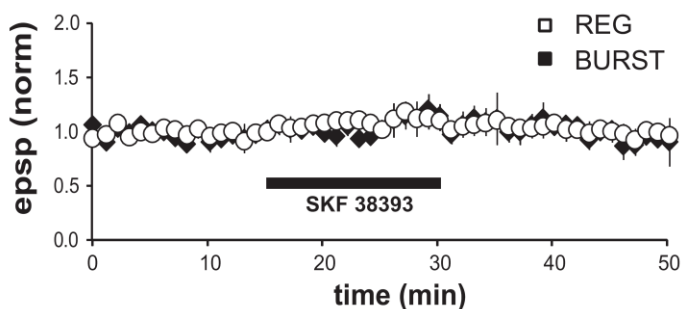


Abbildung 19. Applikation des D1/D5-R Agonisten SKF 38393 (100 μ M) über 15 min induziert keine Veränderung der EPSP in subikulären REG und BURST Pyramidenzellen. n REG = 8, BURST = 6.

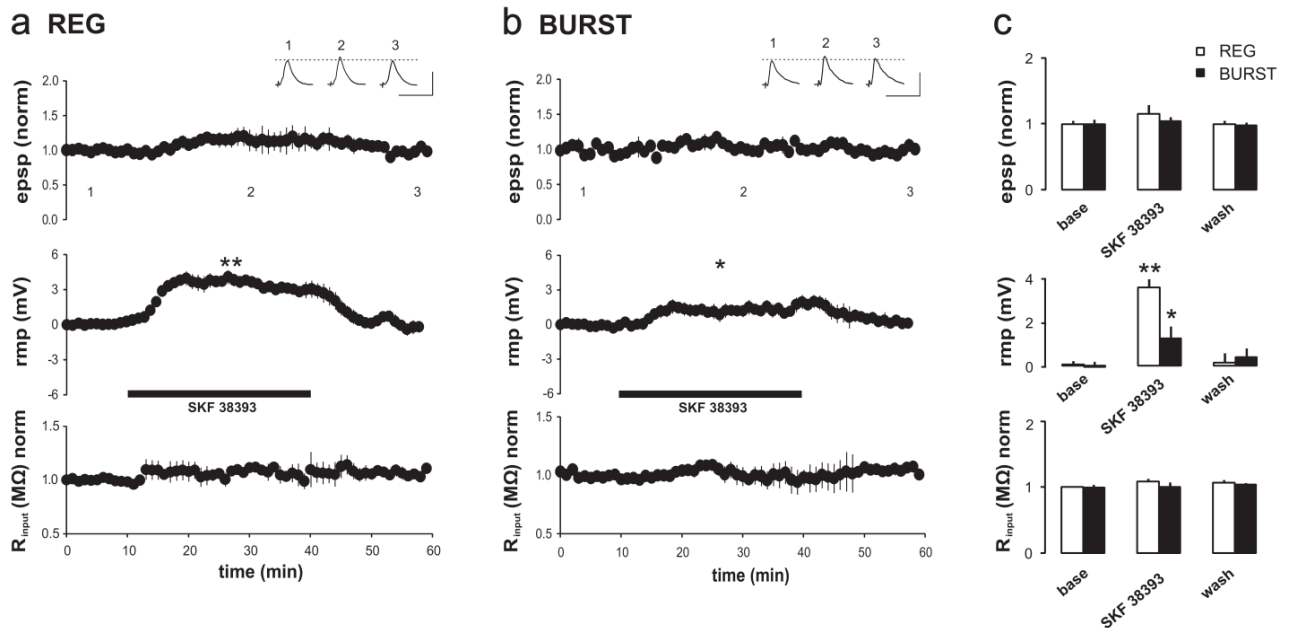


Abbildung 20. Gemittelter Zeitverlauf der normalisierten EPSP-Amplitude, des Ruhemembranpotentials (*rmp*) und des Eingangswiderstands für REG (a) und BURST Zellen (b). Membranpotentiale sind als Veränderungen relativ zum *rmp* zu Beginn der Experimente ausgedrückt. Oben: überlagerte EPSP Verläufe wurden vor (1), während (2) und nach (3) Applikation von SKF 38393 aufgenommen. Skalierung: 5 mV, 50 ms. c) Zusammenfassung der D1/D5-R-abhängigen Veränderung der synaptischen Transmission und passiven Membraneigenschaften von REG und BURST Zellen. Säulen repräsentieren Mittelwert + SEM während 3 Phasen (base: 0.–10. min; SKF: 25.–35. min, wash: 50.–60. min). n REG = 7, BURST = 6.

4.3 Entwicklung eines unterschweligen LTP-Stimulationsprotokolls

Um den Einfluss dopaminerger Stimulation durch D1/D5-R auf die Induktion aktivitätsabhängiger, synaptischer Plastizität zu untersuchen, wurde zunächst ein Protokoll verwendet, welches im SUB zur Induktion von LTP bereits etabliert ist. Dieses besteht aus 4 hochfrequenten Stimulationen (HFS) von 100 Pulsen zu 100 Hz im Abstand von 10s (4x100 P / 100 Hz). In einem Teil der Experimente wurde SKF 38393 5 min vor HFS über das Bad appliziert. Bei BURST Neuronen ließ sich exemplarisch sowohl unter Kontrollbedingungen ($1,52 \pm 0,13$; n = 4; p < 0,05) als auch unter D1/D5-R Stimulation ($2,03 \pm 0,19$, n = 2) eine LTP auslösen (siehe Abb. 21).

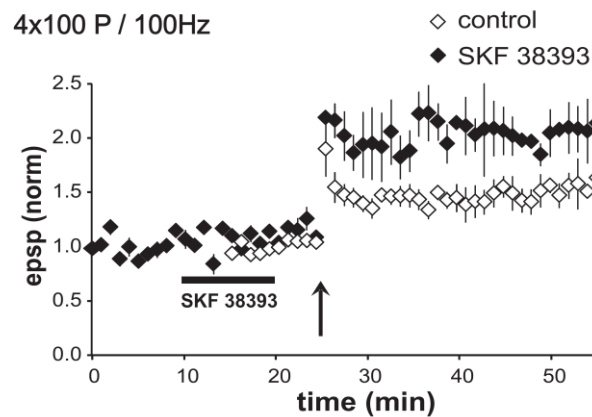


Abbildung 21. Verstärkte LTP Expression nach stark hochfrequenter tetanischer Reizung an der CA1-SUB - Synapse unter D1-D5-R Stimulation bei BURST Neuronen. n = 6.

Um die dopaminerge Modulation explizit untersuchen zu können, wurde ein Stimulationsprotokoll entwickelt, welches unterhalb der Schwelle zur Induktion von LTP in CA1 und SUB Pyramidenzellen liegt. Auf der Basis von Pilotstudien wurden die Frequenz, die Anzahl der gebündelten Stimulationen und der Pulse systematisch variiert und angepasst. Stimuliert wurde mittels Theta-Burst-Protokollen mit 2 bis 5 Stimulationen (2-5x5 P / 100 Hz) im Abstand von 200 ms, was einem Theta-Rhythmus von 5 Hz entspricht, und mittels einmaliger tetanischer Stimulation (10-100 P / 50 Hz). Es wurden Theta-Stimulationen geprüft, da Theta-Oszillationen (4-10 Hz) als wichtiger biologischer Rhythmus in vielen Hirnregionen, insbesondere der hippocampalen Formation, mit instrumentellen Lernvorgängen (Kimchi et al. 2009; Laukka et al. 1995) und Arbeitsgedächtnisleistungen (Klimesch 1996; Sarnthein et al. 1998) assoziiert sind. Theta-Stimulationen wurden jedoch nicht weiterverwendet, da das durch tetanische Stimulation induzierte Ausmaß der LTP im Vergleich größer war. *Abbildung 22* fasst eine Gegenüberstellung der in subikulären Neuronen induzierten LTP zusammen.

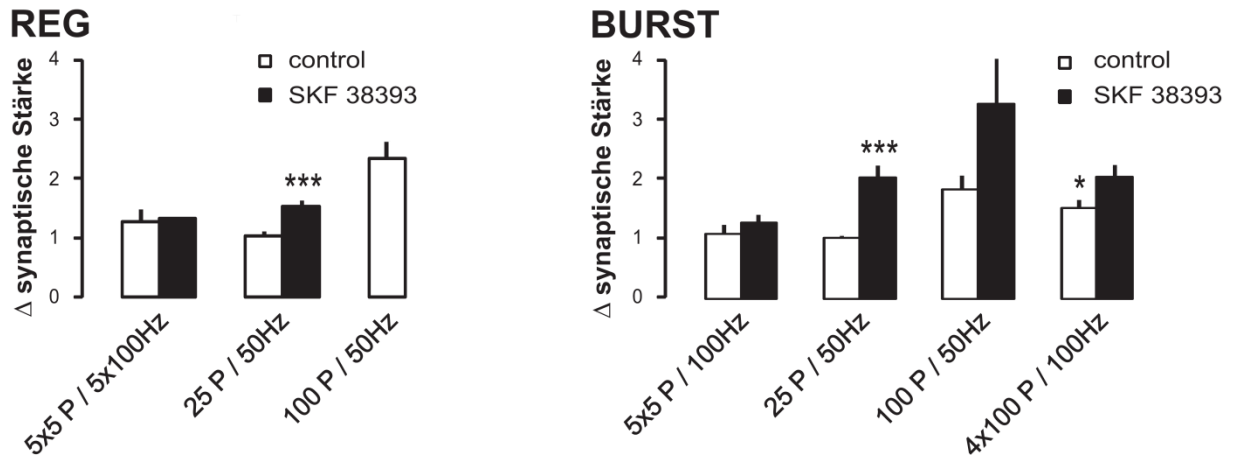


Abbildung 22. Vergleich verschiedener Stimulationsprotokolle nach D1/D5-R Aktivierung. Zunehmende LTP Steigerung mit stärkeren HFS und ausgeprägtere LTP nach Applikation von SKF 38393 und in BURST in Vergleich zu REG Neuronen.

4.4 D1/D5-R-vermittelte Bahnung von LTP in SUB, aber nicht in CA1 Neuronen

Es wurde geprüft, ob Stimulation von D1/D5-R die Schwelle zur Induktion synaptischer Plastizität an subikulären Zellen verändert. Im Rahmen dessen wurde der Frage nachgegangen, ob die Aktivierung von D1/D5-R im CA3-CA1 als auch im CA1-SUB Signalweg synaptische Plastizität induziert und ob es Unterschiede in der Modulation zwischen den einzelnen Signalwegen und Zelltypen gibt.

Verwendet wurde ein kurzes, hochfrequentes Stimulationsprotokoll (25 P / 50 Hz), das unzureichend war, LTP an der CA3-CA1 - und CA1-SUB - Synapse auszulösen. Jedoch löste die unterschwellige HFS eine transiente PTP aus (CA1: $1,24 \pm 0,05$, $p < 0,01$; SUB REG: $1,23 \pm 0,07$, $p < 0,05$; SUB BURST: $1,47 \pm 0,13$, $p < 0,01$), die innerhalb von 2-10 min auf Baseline-Niveau zurückfiel, ohne eine andauernde Potenzierung zu induzieren (CA1: $1,08 \pm 0,08$; $n = 4$; SUB REG: $1,03 \pm 0,04$; $n = 10$; SUB BURST: $1,01 \pm 0,07$; $n = 13$; *Abb. 23a-c*). Bei Messungen unter Bad-Applikation von SKF 38393 über 10 min kam es zu keiner signifikanten Zunahme der EPSP-Amplituden in Pyramidenzellen. Nach 5-minütigem Auswaschen von SKF 38393 war das gewählte Protokoll unzureichend, an CA3-CA1 - Synapsen eine LTP auszulösen ($1,10 \pm 0,09$; $n = 6$; $p > 0,05$; *Abb. 23a*).

Im Gegensatz dazu führte die dopaminerge Stimulation mittels SKF 38393 über 10 min in SUB Pyramidenzellen 5 min nach Auswaschen zu einer ausgeprägten LTP nach HFS (Abb. 23b,c). Die LTP in BURST Neuronen ($2,02 \pm 0,19$; $n = 8$; $p < 0,001$) war signifikant stärker als die LTP in REG Zellen ($1,53 \pm 0,08$; $n = 7$; $p < 0,001$; BURST/REG: $p < 0,05$). Eine Zusammenfassung der LTP 20 min nach HFS gibt *Abbildung 23d* wieder.

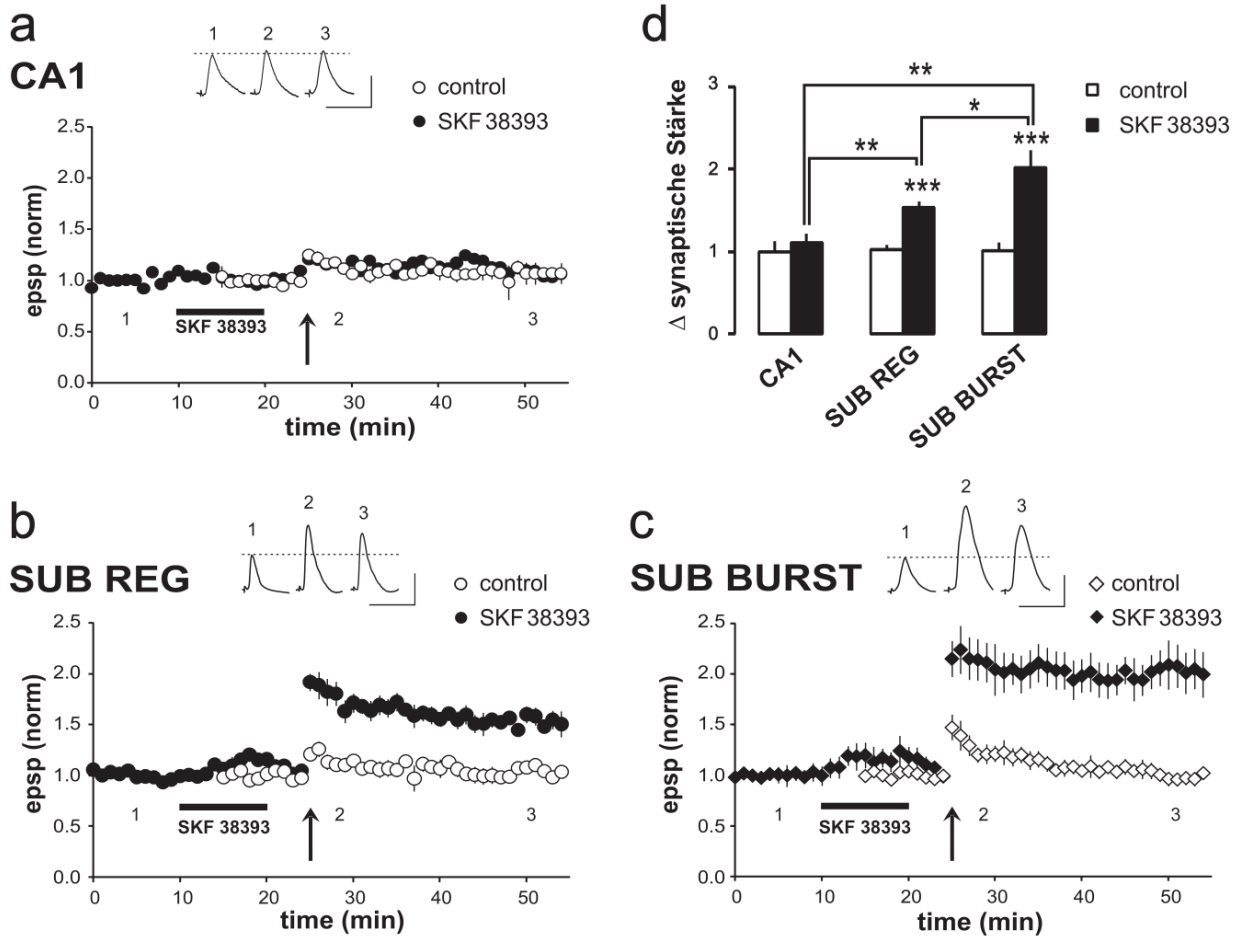


Abbildung 23. Aktivierung von D1/D5-R bahnt die LTP Induktion durch HFS an CA1–SUB, aber nicht an CA3–CA1 - Synapsen. Gemittelter Zeitverlauf der EPSP-Amplituden von CA1 (a), REG (b) und BURST (c) Neuronen. **a)** HFS (25 P / 50 Hz; *Pfeil*) nach Applikation von SKF 38393 (100 μ M; 10 min) führte zu keiner LTP in CA1 Pyramidenzellen. **b+c)** In subikulären REG und BURST Pyramidenzellen führte HFS nach Applikation von SKF 38393 zu einer signifikanten LTP. Oben: Gemittelte EPSP Verläufe wurden aufgenommen vor (1), direkt nach (2) und 25 min nach HFS (3). Skalierung: 5 mV, 50 ms. **d)** Zusammenfassung der Veränderungen der synaptischen Stärke nach D1/D5-R Aktivierung und HFS.

4.5 Mechanismen der D1/D5-R-gebahnten LTP in REG Neuronen

4.5.1 SKF 38393-induzierte Bahnung der LTP ist abhängig von D1/D5- und NMDA-R Koaktivierung

Um zu prüfen, ob die LTP Fazilitierung durch SKF 38393 spezifisch über D1/D5-R- vermittelt wird, wurde das Experiment in Gegenwart des D1/D5-R Antagonisten SCH 23390 (10 μ M) durchgeführt. Es konnte keine LTP in REG Zellen induziert werden ($0,97 \pm 0,05$; $n = 5$; *Abb. 24a*).

Die Induktion synaptischer Plastizität hängt in zahlreichen Hirnregionen von der Aktivierung von NMDA-R ab. In SUB BURST Pyramidenzellen beruht die LTP ebenfalls auf der Aktivierung von NMDA-R (Roberts & Greene 2003; Wozny et al. 2008b). Um zu beurteilen, ob die gebahnte LTP NMDA-R-abhängig ist, wurden NMDA-R inhibiert. In Anwesenheit von D-APV, einem NMDA-R Antagonisten, war die SKF 38393-induzierte Bahnung der LTP signifikant reduziert ($1,11 \pm 0,04$; $n = 5$; $p < 0,01$; *Abb. 24b*). Somit zeigt sich, dass die Bahnung der LTP in REG Zellen auf der Koaktivierung von D1/D5-R und NMDA-R beruht.

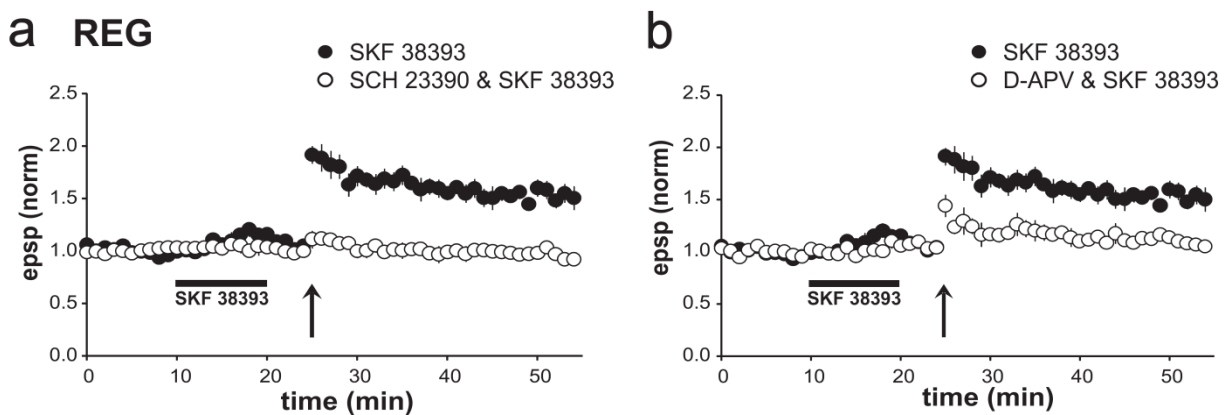


Abbildung 24. D1/D5-R gebahnte LTP in REG Neuronen ist *NMDA-R-abhängig*.

Gemittelter Zeitverlauf der EPSP-Amplituden. **a)** LTP wird durch den spezifischen D1/D5-R Antagonist SCH 23390 (10 μ M) gehemmt. **b)** LTP wird durch den NMDA-R Antagonist D-APV (100 μ M) blockiert.

4.5.2 Gebahnte Induktion der LTP beruht auf der Aktivierung der PKA

Die Rolle der Adenylylzyklase-cAMP-PKA – Kaskade bei der Induktion von D1/D5-R-abhängiger LTP wurde untersucht, indem der Effekt des PKA Antagonisten H-89 auf die D1/D5-R-vermittelte Fazilitierung von LTP geprüft wurde. Da D1/D5-R G-Protein-gekoppelte Rezeptoren sind, die positiv an die Adenylylzyklase–cAMP–PKA – Kaskade gekoppelt sind, untersuchten wir die SKF 38393-vermittelte Fazilitierung von LTP in Anwesenheit des PKA Antagonisten H-89. Hippokampale Hirnschnitte wurden mit H-89 für mindestens eine Stunde vor Messbeginn präinkubiert.

In Anwesenheit von H-89 und nach Applikation von SKF 38393 konnte in REG Pyramidenzellen keine LTP ausgelöst werden ($1,05 \pm 0,06$; $n = 5$; *Abb. 25*). Der Befund weist darauf hin, dass diese Form der LTP die Aktivierung von PKA erfordert.

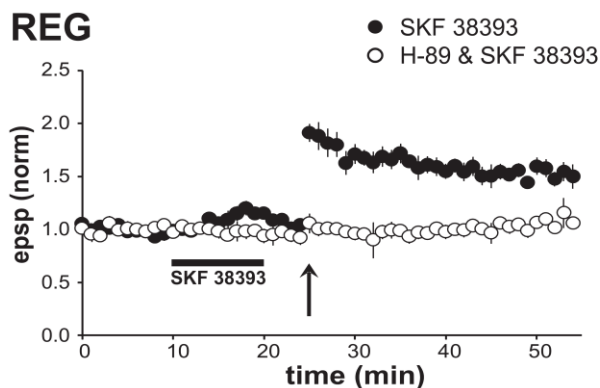


Abbildung 25. D1/D5-R-gebahnte LTP in REG Neuronen ist *PKA-abhängig*. LTP wird durch den PKA Inhibitor H-89 ($10 \mu\text{M}$) gehemmt.

4.5.3 Gebahnte Induktion der LTP ist abhängig von postsynaptischem Ca^{2+}

Da durch Ableitungen mit scharfer Mikroelektrode die postsynaptische Ca^{2+} -Signalgebung nicht beeinflusst werden kann, wurden Whole-Cell Patch-Clamp Messungen in der Spannungsklemme durchgeführt.

Zunächst wurde das unterschwellige LTP Protokoll an die neuen Versuchsbedingungen adaptiert. Unter Whole-Cell Patch-Clamp und submerged Bedingungen waren 100 Pulse erforderlich (100 P / 50 Hz), um knapp unterhalb der Induktionsschwelle für LTP in subikulären Pyramidalneuronen zu liegen. Darunter konnte in REG Zellen eine PTP ($1,46 \pm 0,10$; $n = 6$; $p < 0,01$), aber keine LTP ausgelöst werden ($1,03 \pm 0,09$; $n = 6$; $p > 0,05$; *Abb. 26a*). Nach transientser Applikation von SKF 38393 war das Protokoll in der Lage, eine LTP zu induzieren ($1,32 \pm 0,12$; $n = 8$; $p < 0,05$; *Abb. 26a*). Intrazelluläre Dialyse mit dem nicht membranpermeablen Ca^{2+} -Puffer BAPTA in der Pipettenlösung über bis zu 40 min vor der Applikation des unterschweligen Stimulationsprotokolls hemmte die Induktion der LTP ($1,03 \pm 0,10$; $n = 5$; $p > 0,05$; *Abb. 26b*), was darauf schließen lässt, dass die SKF 38393-induzierte Bahnung der LTP von postsynaptischem Ca^{2+} abhängt. Dies weist darauf hin, dass eine postsynaptische, Ca^{2+} -abhängige Signalkaskade für die Induktion von LTP in subikulären REG Neuronen erforderlich ist.

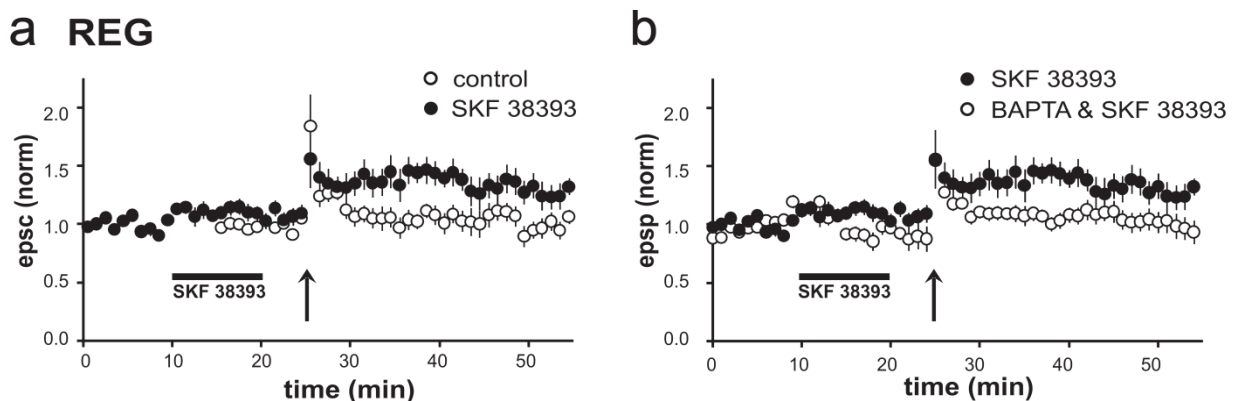


Abbildung 26. D1/D5-R gebahnte LTP erfordert *postsynaptisches* Ca^{2+} in subikulären REG Zellen.

a) HFS, die unter Kontrollbedingungen keine LTP induzierte, bahnte LTP nach Applikation von SKF 38393. **b)** Postsynaptische Dialyse mit dem Ca^{2+} -Puffer BAPTA (30 mM) verhinderte die LTP nach Applikation von SKF 38393 und nachfolgender HFS.

4.5.4 Postsynaptische Expression der gebahnten LTP

Die Analyse des PPI ist eine geeignete Methode, um zwischen einem prä- oder postsynaptischen Expressionsort von LTP zu unterscheiden (siehe *Methoden 3.4*). In REG Zellen war die LTP nach vorhergehender D1/D5-R Aktivierung nicht assoziiert mit signifikanten Veränderungen des PPI ($1,03 \pm 0,07$ vor und $0,89 \pm 0,07$ nach Applikation

von SKF 38393 & HFS; $n = 7$; $p > 0,05$; *Abb. 27a,b*). Eine andere Methode zur Bestimmung des Expressionsortes einer LTP ist die Untersuchung des CV (siehe *Methoden 3.4*). Auch die Analyse des CV^{-2} ergab keinen Unterschied, weder in der Modulation des CV^{-2} vor und nach Induktion der LTP ($n = 7$; $p = 0,09$) noch zwischen gemittelter EPSP Ratio ($0,67 \pm 0,02$) und CV^{-2} Ratio ($0,58 \pm 0,18$; $n = 7$; $p = 0,67$; *Abb. 27c*). *Abbildung 27c* vergleicht das Verhältnis der EPSP-Amplituden mit dem Verhältnis der CV^{-2} jeweils vor und nach Induktion von D1/D5-R-vermittelter LTP. Ausbleibende Veränderungen des PPI und des CV lassen auf eine postsynaptische Expression der LTP in REG Pyramidenzellen schließen.

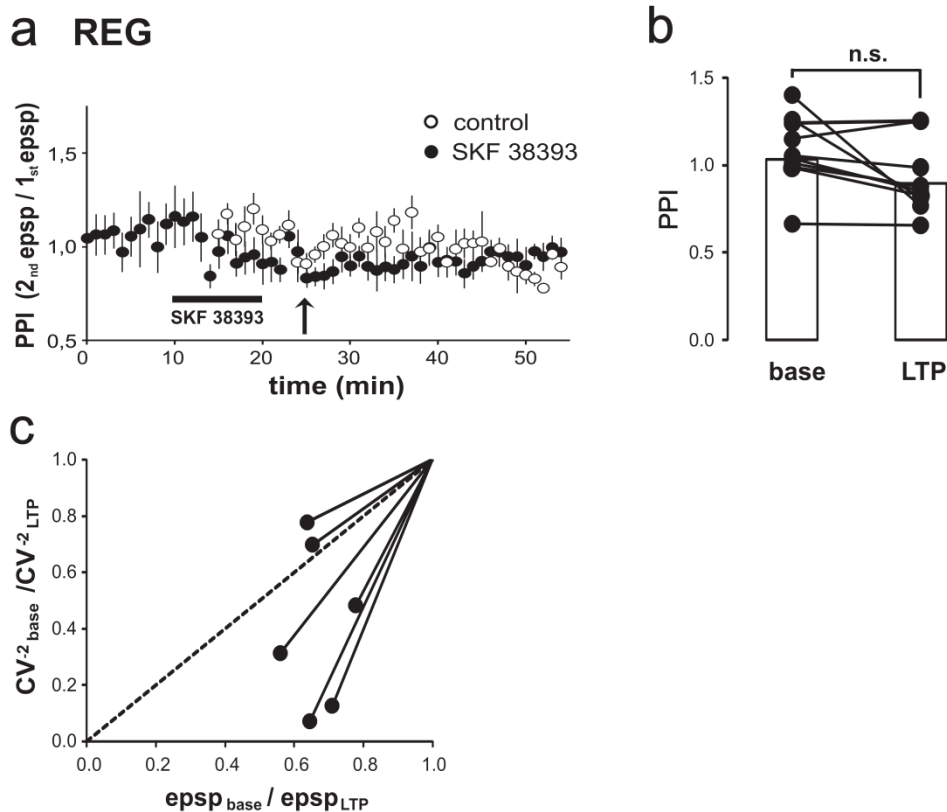


Abbildung 27. PPI und CV nach D1/D5-R-abhängiger Induktion von LTP in REG Zellen.

a) Zeitverlauf des PPI. **b)** PPI vor und 20 min nach Induktion der D1/D5-R-gebahnten LTP (Mittelwert und Einzelveränderungen). **c)** CV Analyse der EPSP-Amplitudenveränderungen weist auf keine präsynaptische Expression der LTP hin. Veränderungen der EPSP Ratio sind nicht mit Veränderungen der CV^{-2} Ratio assoziiert. Datenpunkte entfernt der Winkelhalbierenden deuten auf postsynaptische Veränderung nach HFS hin.

4.6 Mechanismen der D1/D5-R-gebahnten LTP in BURST Neuronen

4.6.1 SKF 38393-induzierte Bahnung der LTP ist abhängig von D1/D5- und NMDA-R Koaktivierung

Ähnlich wie in REG Zellen war in Gegenwart des spezifischen D1/D5-R Antagonisten SCH 23390 die Induktion von LTP in BURST Zellen ($1,00 \pm 0,07$; $n = 5$; *Abb. 28a*) nach Applikation von SKF 38393 gehemmt.

Um zu beurteilen, ob die gebahnte Induktion von LTP durch SKF 38393 die Aktivierung von NMDA-R erfordert, prüften wir zunächst den Effekt der NMDA-R Blockade auf die Induktion von LTP. In Anwesenheit von D-APV war die SKF 38393-induzierte Bahnung der LTP signifikant vermindert ($1,15 \pm 0,04$; $n = 6$; $p < 0,05$; *Abb. 28b*).

Die Daten weisen darauf hin, dass die Bahnung der LTP sowohl in REG als auch in BURST Pyramidalneuronen an CA1-SUB - Synapsen auf der Koaktivierung von D1/D5-R und NMDA-R beruht.

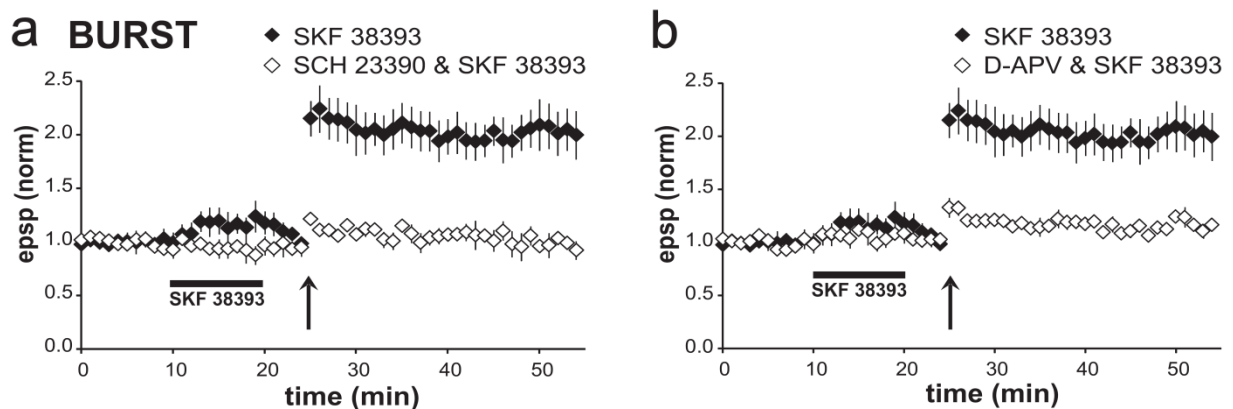


Abbildung 28. Durch D1/D5-R gebahnte LTP in BURST Neuronen ist NMDA-R-abhängig.

Gemittelter Zeitverlauf der EPSP-Amplituden. **a)** LTP wird durch den spezifischen D1/D5-R Antagonist SCH 23390 (10 μ M) gehemmt. **b)** LTP wird durch den NMDA-R Antagonist D-APV (100 μ M) blockiert.

4.6.2 Gebahnte Induktion der LTP beruht auf der Aktivierung der PKA

Vorarbeiten unserer Arbeitsgruppe konnten nachweisen, dass LTP in BURST Neuronen nicht nur von NMDA-R abhängt, sondern auch die Aktivierung der Adenylylzyklase–cAMP–PKA – Kaskade benötigt und präsynaptisch exprimiert wird (Wozny et al. 2008a). In den vorliegenden Untersuchungen war in Anwesenheit von H-89 die Bahnung von LTP durch die D1/D5-R Aktivierung in BURST Neuronen gehemmt ($1,32 \pm 0,18$; $n = 5$; *Abb. 29a*). Dieser Befund weist darauf hin, dass beide Formen der LTP die Aktivierung von PKA erfordern. *Abbildung 29b* stellt eine Zusammenfassung der durch HFS unter Kontrollbedingungen, nach Applikation von SKF 38393, in Gegenwart von jeweils SCH 23390, D-APV oder H-89 und nach Koapplikation von SKF 38393 ausgelösten Veränderungen synaptischer Transmission in REG und BURST Zellen dar.

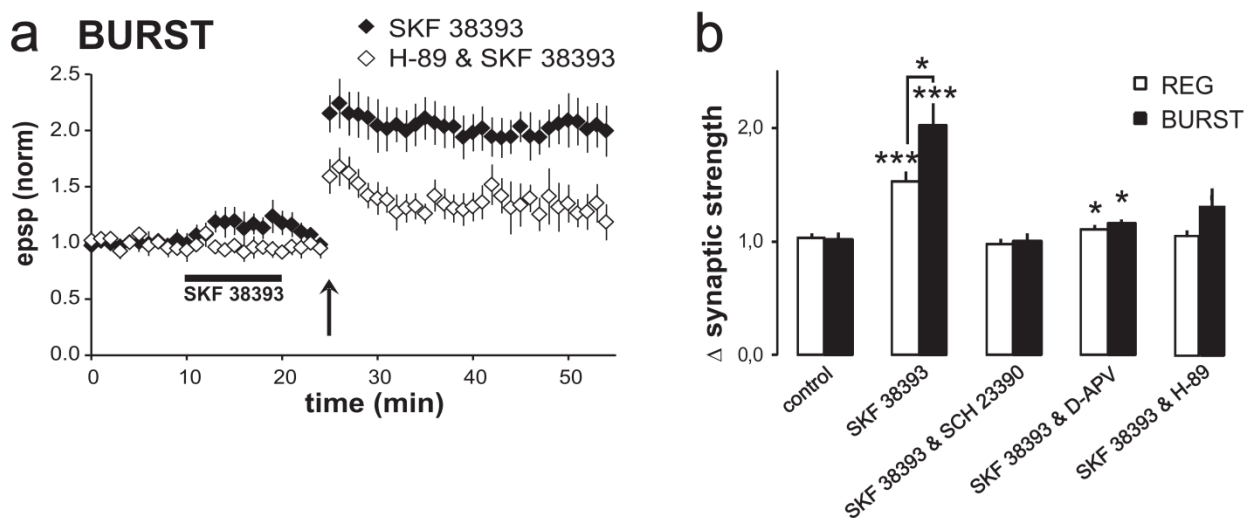


Abbildung 29. Durch D1/D5-R gebahnte LTP in BURST Neuronen ist PKA-abhängig.

a) LTP wird durch den PKA Inhibitor H-89 (10 μ M) gehemmt. **b)** Zusammenfassung der pharmakologischen Modulation bzw. Blockade von LTP in beiden subikulären Zelltypen.

4.6.3 Gebahnte Induktion der LTP ist unabhängig von postsynaptischem Ca^{2+}

Um die Rolle des postsynaptischen Ca^{2+} bei der durch SKF 38393-induzierten Bahnung der LTP zu untersuchen, führten wir Whole-Cell Patch-Clamp Messungen in der Spannungsklemme durch.

Die HFS (100 P / 50 Hz), die unter Kontrollbedingungen nur eine PTP auslöste (PTP: $1,48 \pm 0,14$; $p < 0,05$ und postHFS (20.-30. min): $1,06 \pm 0,08$; $n = 8$; $p = 0,82$; *Abb. 30a*), induzierte eine LTP nach Applikation von SKF 38393 ($1,39 \pm 0,11$; $n = 10$; $p < 0,01$; *Abb. 30a*). Einzelne BURST Zellen wurden mit dem Ca^{2+} -Puffer BAPTA gefüllt, um zu untersuchen, ob die Zunahme postsynaptischen Ca^{2+} wesentlich ist, die LTP durch D1/D5-R Aktivierung zu bahnen. Postsynaptische Dialyse mit BAPTA vor der Applikation des Protokolls verhinderte die LTP Induktion nicht ($1,43 \pm 0,08$; $n = 6$; $p < 0,05$; *Abb. 30b*), was darauf schließen lässt, dass die SKF 38393-induzierte Bahnung der LTP unabhängig von postsynaptischem Ca^{2+} ist. Die Inkubation der Schnitte mit dem zellpermeablen Ca^{2+} -Puffer BAPTA-AM verhinderte jedoch die Induktion der LTP in subikulären BURST Zellen ($0,95 \pm 0,06$; $n = 6$; $p > 0,05$; *Abb. 30c*). Dies weist darauf hin, dass eine präsynaptische, Ca^{2+} -abhängige Signalkaskade wesentlich für die Induktion von LTP in subikulären BURST Neuronen ist.

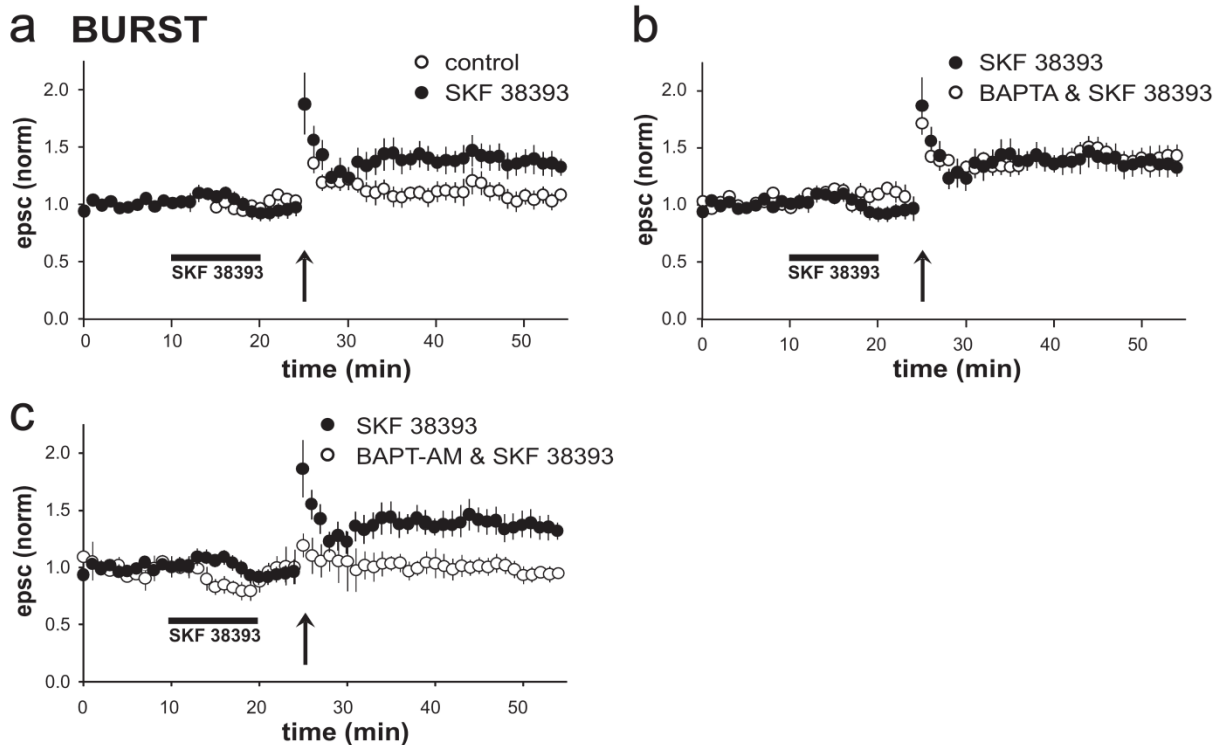


Abbildung 30. D1/D5-R gebahnte LTP erfordert *kein postsynaptisches* Ca^{2+} in subikulären BURST Zellen. **a)** HFS, die unter Kontrollbedingungen keine LTP induzierte, bahnte LTP nach Applikation von SKF 38393. **b)** Postsynaptische Dialyse mit BAPTA verhinderte die Expression von LTP nach Applikation von SKF 38393 und nachfolgender HFS nicht. **c)** Inkubation mit dem zellpermeablen Ca^{2+} -Puffer BAPTA-AM hemmte die Induktion der D1/D5-R-gebahnten LTP.

4.6.4 Präsynaptische Expression der gebahnten LTP

Vorarbeiten unserer Arbeitsgruppe zeigten einen präsynaptischen Expressionsmechanismus einer Ca^{2+} - und cAMP-abhängigen LTP in subikulären BURST Zellen (Wozny et al. 2008a; Wozny et al. 2008b).

BURST Zellen zeigten nach der Induktion der LTP eine signifikante Reduktion des PPI ($1,16 \pm 0,08$ vor und $0,97 \pm 0,08$ nach Applikation von SKF 38393 & HFS; $n = 8$; $p < 0,05$; *Abb. 31a,b*) und somit einen Hinweis auf eine präsynaptische Expression der D1/D5-R-abhängigen LTP. Der CV^{-2} war in BURST Zellen nach Induktion von D1/D5-R-abhängiger LTP signifikant verändert, sowohl in der Modulation des CV^{-2} vor und nach Induktion der LTP ($n = 8$; $p < 0,05$) als auch zwischen gemittelter EPSP Ratio ($0,53 \pm 0,07$) und CV^{-2} Ratio ($0,35 \pm 0,09$; $n = 8$; $p < 0,05$; *Abb. 31c*).

Wie in *Abbildung 31c* gezeigt, sind Veränderungen der EPSP Ratio direkt mit Veränderungen der CV^{-2} Ratio assoziiert. Solche Ergebnisse sind bei Manipulationen zu erwarten, welche die Transmitterfreisetzung verändern. In Übereinstimmung mit der Abnahme des PPI lassen diese Ergebnisse darauf schließen, dass nach D1/D5-R Aktivierung die HFS-induzierte LTP in BURST Zellen präsynaptisch exprimiert wird.

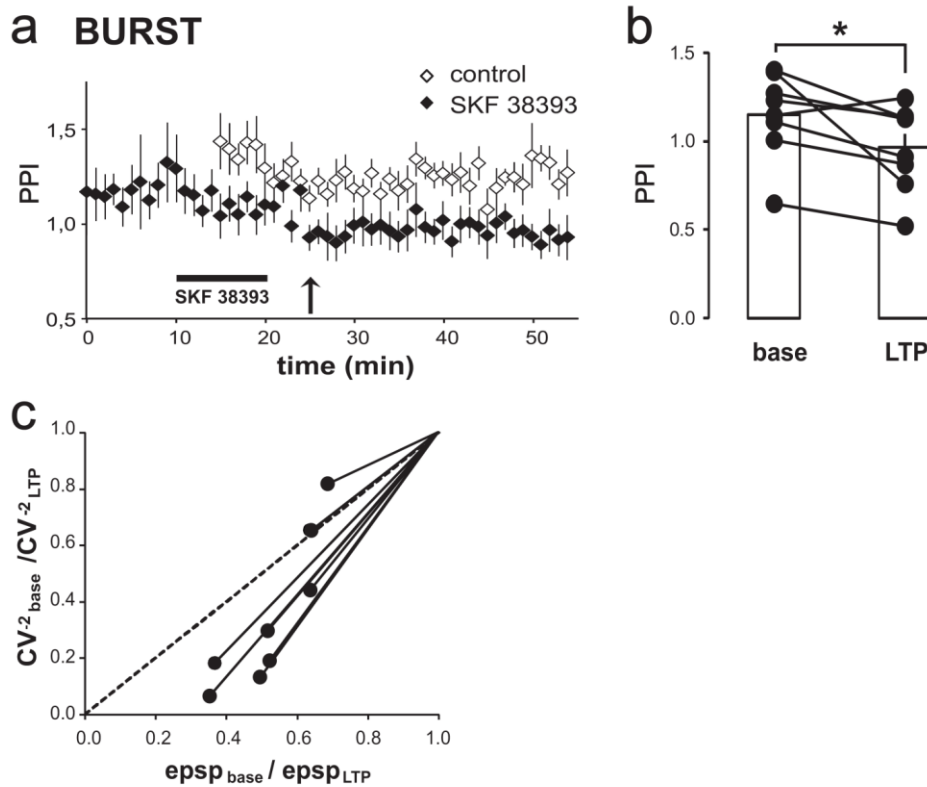


Abbildung 31. PPI und CV^{-2} signifikant verändert nach D1/D5-R-abhängiger LTP Induktion in BURST Zellen. **a)** Zeitverlauf der HFS-induzierten Abnahme des PPI. **b)** PPI vor und 20 min nach Induktion der D1/D5-R-gebahnten LTP (Mittelwert und Einzelveränderungen). **c)** CV Analyse der EPSP-Amplitudenveränderungen weist auf eine präsynaptische Expression der LTP hin. Datenpunkte entlang der Winkelhalbierenden deuten auf präsynaptische Veränderung nach HFS hin.

5 Diskussion

5.1 Membraneigenschaften von CA1 und SUB Pyramidenzellen

In der vorliegenden Arbeit konnte bestätigt werden, dass CA1 und subikuläre REG Neuronen in ihren elektrophysiologischen Membraneigenschaften Gemeinsamkeiten aufweisen. In Analogie zu früheren Studien unterscheiden sich subikuläre BURST Zellen von REG Zellen einerseits durch spezifische Burst-Entladungen mit schnellen Nachdepolarisationen, andererseits durch langsame statt schnelle Nachhyperpolarisation, Nachentladungen ohne Frequenzakkommodation, niedrigere Entladungsschwelle und AP-Höhe sowie ausgeprägtere Sag- und Rebound-Potentiale (Jung et al. 2001; Menendez et al. 2003; Stewart & Wong 1993).

Die präzisen molekularen Ursachen, auf denen Burst-Entladungen beruhen, sind noch nicht vollständig geklärt. Es ist wahrscheinlich, dass spezifische, spannungsabhängige Ca^{2+} -Kanäle (Stewart & Wong 1993; Taube 1993) und α -Untereinheiten von spannungsabhängigen Na^+ -Kanälen eine Rolle spielen (Cooper et al. 2006; Mason 1993). Für die schnelle Nachdepolarisation bei Bursts sind Ströme von sowohl nieder-spannungsabhängigen T-Typ als auch hoch-spannungsabhängigen N-, P/Q-, L- und R-Typ Ca^{2+} -Kanälen verantwortlich, die durch das erste AP initiiert werden (Jung et al. 2001). Beendet wird der Burst durch Ca^{2+} -abhängige K^+ -Ströme (Mattia et al. 1997). Ausgeprägtere Sag-Potentiale bei BURST Zellen im Vergleich zu REG Zellen scheinen von stärkeren I_h -Strömen abhängig zu sein (van Welie et al. 2006), wobei stärkere Rebound-Potentiale durch nieder- und hoch-spannungsabhängige Ca^{2+} -Ströme in Verbindung mit I_h -Strömen ausgelöst werden (Mattia et al. 1997; Menendez et al. 2003).

5.2 Effekt von D1/D5-R Aktivierung auf synaptische Eigenschaften von SUB Pyramidenzellen

Die Aktivierung von D1/D5-R kann eine aktivitätsunabhängige, späte-LTP auslösen (Huang & Kandel 1995; Rotaru et al. 2007). Einige Arbeiten konnten diesen Befund allerdings nicht bestätigen (Missale et al. 1998; Mockett et al. 2004; Swanson-Park et al. 1999). Verantwortlich gemacht wurden u.a. verstärkte AMPA-R- (Price et al. 1999; Snyder et al. 2000; Yan et al. 1999) und NMDA-R-Ströme (Cepeda et al. 1993; Chen et al. 2004; Hernandez-Lopez et al. 1997) bei Aktivierung von D1/D5-R, nachgewiesen im Striatum und präfrontalen Kortex.

Deshalb prüften wir zunächst, inwieweit eine D1/D5-R Aktivierung die basale synaptische Transmission und die intrinsischen Membraneigenschaften beeinflusst bzw. eine aktivitätsunabhängige LTP induziert. Applikation von SKF 38393 führte zu einer leichten transienten Depolarisation. Diese kann auf einer D1-D5-R-vermittelten Verstärkung der persistenten Na^+ -Ströme beruhen, die bereits in früheren Studien gezeigt wurde (Gorelova & Yang 2000; Yang & Seamans 1996), in anderen jedoch nicht (Geijo-Barrientos & Pastore 1995; Maurice et al. 2001). Verantwortlich könnte auch ein verminderter, langsam inaktivierender K^+ -Strom sein, wie in Neuronen des Striatums und präfrontalen Kortex. Dieser Effekt wird via PKA und/oder cAMP-Phosphorylierung der K^+ -Kanäle vermittelt (Surmeier & Kitai 1993; Yang & Seamans 1996). Eine D1/D5-R-vermittelte Depolarisation zeigte sich in striatalen Neuronen ebenso abhängig von einer Zunahme des L-Typ Ca^{2+} -Stroms (Hernandez-Lopez et al. 1997; Song & Surmeier 1996).

Aus diesem Grund wurde bei darauffolgenden Experimenten die tetanische Reizung zur Induktion synaptischer Plastizität erst durchgeführt, nachdem die Zelle jeweils ihr RMP-Niveau wieder erreicht hatte, was meist 5 min nach Applikationsende der Fall war. Darüber hinaus verursachte die dopaminerge Stimulation weder eine EPSP-Steigerung noch eine dauerhafte Veränderung des Eingangswiderstandes in subikulären Pyramidalzellen. Eine aktivitätsunabhängige, späte-LTP wurde somit ausgeschlossen. Dieses Ergebnis steht ebenso in Analogie zu den vorausgehenden Studien, bei denen die NMDA-R-abhängige, späte Form der LTP erst 50 min nach Beginn der D1/D5-R Aktivierung messbar wurde.

5.3 D1/D5-R-vermittelte Bahnung von LTP in SUB, aber nicht in CA1 Neuronen

Die vorliegende Arbeit belegt, dass DA die Schwelle zur Induktion von LTP an subikulären Pyramidalneuronen moduliert. Entsprechend der ‚sliding threshold‘ - Theorie von BCM zur Metaplastizität (Abraham & Tate 1997; Bienenstock et al. 1982) setzt in den durchgeführten Experimenten die dopaminerge Stimulation die Schwelle zur Induktion von LTP an CA1-SUB - Synapsen herab (Abb. 32).

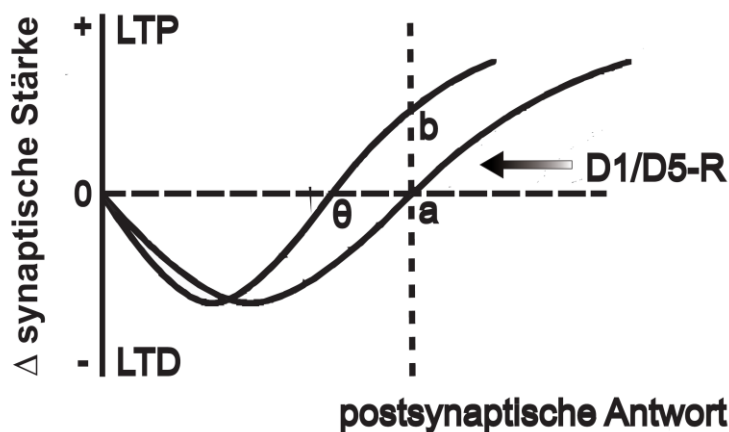


Abbildung 32. BCM-Modell mit gleitendem Schwellenwert θ . Aktivitätsabhängige Funktion der synaptischen Plastizität wird moduliert: Aktivierung von D1/D5-R verschiebt LTD-LTP Wendepunkt θ nach links und erhöht die Wahrscheinlichkeit einer Induktion von LTP durch HFS. Während eine HFS keine Form der synaptischen Plastizität auslöste (Punkt a auf der vertikalen Achse), führte eine vorausgehende Stimulation von D1/D5-R zur Induktion von LTP in subikulären Pyramidenzellen (Punkt b: siehe Abb. 23b,c; adaptiert nach Bear 2003).

Die Stimulation von D1/D5-R bahnt eine aktivitätsabhängige Form der LTP in subikulären Neuronen, aber nicht in CA1 Neuronen. Die regionsspezifische Schwelle zur LTP Induktion nach D1/D5-R Aktivierung scheint an CA3-CA1 - Synapsen höher zu liegen als an CA1-SUB - Synapsen.

In der CA1 Region wurde bereits sowohl *in vitro* (Otmakhova & Lisman 1996; Swanson-Park et al. 1999) als auch *in vivo* (Lemon & Manahan-Vaughan 2006; Li et al. 2003; Swanson-Park et al. 1999) nachgewiesen, dass eine Stimulation von D1/D5-R die Induktion und Persistenz der LTP verstärken kann. *In vivo* war die Schwelle zur Induktion von LTP in der CA1 Region herabgesetzt, nachdem die Versuchstiere einer neuen räumlichen Umgebung ausgesetzt worden waren (Li et al. 2003).

Ebenso führte die Erforschung eines neuen, leeren Raumes zur Induktion einer späten-LTP (Kemp & Manahan-Vaughan 2004; Lemon & Manahan-Vaughan 2006). Die erleichterte LTP Induktion bzw. Persistenz konnte durch einen D1/D5-R Antagonisten verhindert werden. Die bisherigen Ergebnisse in der CA1 Region stehen in Analogie zu der in dieser Arbeit nachgewiesenen Bahnung einer aktivitätsabhängigen Form der LTP in subikulären Neuronen.

Sie fügen sich in die entsprechende Theorie einer regionsspezifischen Schwelle zur LTP Induktion nach D1/D5-R Aktivierung, die in der CA1 Region höher liegt als im SUB. Denn in den Studien zur CA1 Region wurden wesentlich stärkere Stimulationsprotokolle (höhere Frequenz und höhere Pulszahl) verwendet und die Applikation des D1/D5-R Agonisten wurde bis zur HFS fortgesetzt. Dies kann über eine leichte Depolarisation zur unterschwelligen Aktivierung von NMDA-R durch Verlust des Mg^{2+} -Blockes und somit zur Verstärkung der postsynaptischen Potenzierung geführt haben.

Huang und Kandel zeigten, dass die Hochregulation synaptischer Stärke nach theta-frequenter Stimulation an CA1-SUB - Synapsen stärker ausfällt als an CA3-CA1 - Synapsen (Huang & Kandel 2005). Die in dieser Arbeit gezeigte Hochregulation synaptischer Plastizität nach D1/D5-R Stimulation scheint vergleichbar zu sein. Der Mechanismus für die Regionsspezifität der dopaminergen Modulation wurde bisher nicht geklärt. Eine höhere Dichte von D1- oder D5-R konnte für das SUB im Vergleich zur CA1 Region nicht nachgewiesen werden (Fremeau, Jr. et al. 1991; Meador-Woodruff et al. 1994).

Die Erkennung neuer Information bedeutet, neue mit existierenden, sensorischen Informationen zu vergleichen. CA1 Pyramidalzellen erhalten sowohl direkte sensorische Informationen aus dem Kortex als auch sequentielle ‚phase precession‘ Informationen aus dem DG-CA3 - Netzwerk, deren Signale eine Art ‚Vorhersage‘ gegenüber neuen Informationen beinhalten. Der Area CA1 wird die Rolle zugeschrieben, die Diskrepanz zwischen den Informationen aus den DG-CA3 - Signalweg und dem aktuellen sensorischen Eingang aus dem Kortex zu erfassen (Hasselmo et al. 1996; Lisman & Otmakhova 2001).

Werden in der CA1 Region neue Informationen erkannt, so können im SUB Signale DA-abhängig verstärkt und synaptische Plastizität gebahnt werden. Voraussetzung hierfür wäre die neuigkeitsabhängige Freisetzung von DA bei Aktivierung der HC-VTA-Schleife (Lisman & Grace 2005). Die hier gezeigte dopaminerge Modulation synaptischer Plastizität kann an der Schnittstelle zum Neokortex und innerhalb der HC-VTA-Schleife die Grundlage für den engen Zusammenhang zwischen der Ausschüttung von DA im HC und Detektion sowie Speicherung neuer sensorischer Information bilden.

5.4 Zelltypspezifische D1/D5-R-vermittelte Bahnung der LTP im SUB

Nicht nur die Regionsspezifität zwischen CA1 und SUB sondern auch die Zelltypspezifität zwischen den beiden subikulären Pyramidenzelltypen ist ein Merkmal dopaminergener Modulation synaptischer Plastizität. Die Daten deuten auf eine verstärkte Bahnung der LTP in subikulären BURST im Vergleich zu REG Zellen hin.

Subikuläre Pyramidenzellen projizieren zu einer Vielzahl kortikaler und subkortikaler Strukturen (Amaral & Witter 1995). Die räumliche Aufteilung von BURST und REG Zellen auf der proximo-distalen und tief-oberflächlichen Achse des SUB (Greene & Totterdell 1997; Harris et al. 2001; Jarsky et al. 2008; Menendez et al. 2003; Staff et al. 2000) sowie die Topographie subikulärer Efferenzen (Ishizuka 2001) lassen annehmen, dass BURST und REG Zellen mit unterschiedlichen subkortikalen Strukturen synaptisch verbunden sind. Des Weiteren gibt es Hinweise, dass subikuläre REG und BURST Zellen jeweils entweder zum EC oder zum PrS projizieren (Stewart 1997). Durch zellspezifische Formen synaptischer Plastizität nach dopaminergener Stimulation würden verschiedene, zelluläre (Cooper et al. 2005) und synaptische Mechanismen unabhängig genutzt, um sensorische Informationen vom HC zu unterschiedlichen, kortikalen und subkortikalen Hirnregionen differentiell zu verarbeiten. Ein solcher zelltypspezifischer Mechanismus würde zur besseren Selektion neuronaler Information beitragen und somit an der selektiven, Konsolidierung der hippocampalen Information beteiligt sein.

5.5 Mechanismen der D1/D5-R-gebahnten LTP in REG Neuronen

Die Daten deuten darauf hin, dass in subikulären REG Neuronen die verstärkte LTP D1/D5-R-vermittelt, NMDA-R-abhängig ist und eine PKA Aktivierung benötigt. Blockade der postsynaptischen Ca^{2+} -Signalkaskade durch BAPTA verhinderte die Expression der D1/D5-R-vermittelten LTP, die mit keiner Veränderung des PPI und des CV assoziiert war. Zusammenfassend weisen diese Ergebnisse auf eine postsynaptische Induktion und Expression der D1/D5-R-gebahnten LTP in subikulären REG Pyramidenzellen hin.

Es ist bekannt, dass bei REG Zellen die LTP eine Aktivierung von NMDA-R benötigt. Die LTP hängt von einem postsynaptischen Ca^{2+} -Einstrom ab (Wozny et al. 2008b). Als man die Adenylylzyklase mit Forskolin stimulierte, wurde LTP anders als in BURST Zellen nicht induziert, was auf einen von cAMP unabhängigen Signalweg bei der Induktion von LTP durch HFS hindeuten kann (Wozny et al. 2008a).

Im Gegensatz zur D1/D5-R-unabhängigen LTP in REG Zellen zeigte die D1/D5-R-vermittelte LTP eine Abhängigkeit von der Adenylylzyklase-cAMP-PKA – Kaskade. Der Befund deutet darauf hin, dass zwar in beiden Zelltypen die cAMP-Kaskade eine Rolle bei Induktion von LTP spielt, aber in REG Zellen nur bei Koaktivierung von D1/D5-R, aber nicht bei reiner HFS aktiv wird. Durch Ca^{2+} werden zwei der acht bekannten Formen der Adenylylzyklase aktiviert, AC1 und AC8 (Ferguson & Storm 2004). Im HC, dem DG, den Areae CA3 und CA1, lassen sich hohe mRNA Konzentrationen von AC1 und AC8 nachweisen (Mons et al. 1995; Xia et al. 1991). Zudem sind AC1-Knock-out und AC1/AC8-Doppel-Knock-out Mäuse im hippokampal abhängigen Lernen beeinträchtigt (Wong et al. 1999; Wu et al. 1995). Einige Formen synaptischer Plastizität sind vom Adenylylzyklase-cAMP Signalweg abhängig (Blitzer et al. 1998; Brown et al. 2000). Es ist anzunehmen, dass in subikulären REG Neuronen die Aktivierung von D1/D5-R G-Protein-Adenylylzyklase-vermittelt die postsynaptische cAMP-Konzentration steigert und somit die LTP bahnt.

5.6 Mechanismen der D1/D5-R-gebahnten LTP in BURST Neuronen

Die Untersuchungen weisen darauf hin, dass auch in subikulären BURST Neuronen die verstärkte LTP D1/D5-R-vermittelt, NMDA-R-abhängig ist und eine PKA Aktivierung benötigt. Die Expression der D1/D5-R-vermittelten LTP wurde nicht durch eine Blockade der postsynaptischen Ca^{2+} -Signalkaskade mittels BAPTA verhindert, jedoch durch eine Badapplikation des membranpermeablen Ca^{2+} -Puffers BAPTA-AM, der ebenso die präsynaptische Ca^{2+} -Signalgebung hemmen kann. Zusätzlich war die LTP mit einer Abnahme des PPI und einer Veränderung des CV assoziiert. Diese Ergebnisse weisen auf eine präsynaptische Transduktion und Expression der D1/D5-R-gebahnten LTP in subikulären BURST Zellen hin.

Die Mechanismen der dopaminergen Modulation von LTP unterscheiden sich zwischen den beiden subikulären Neuronenarten weder in ihrer NMDA-R- noch in ihrer cAMP-PKA-Kaskaden - Abhängigkeit. Die Ergebnisse weisen jedoch auf unterschiedliche Expressionsorte hin. Eine D1/D5-R Aktivierung scheint die Expression der LTP spezifisch an afferenten CA1 Terminalen zu bahnen, die auf subikuläre BURST Zellen projizieren. In REG-Zellen liegt eine postsynaptische Expression der LTP vor.

Es wurde gezeigt, dass in BURST Zellen die LTP eine Aktivierung von NMDA-R und präsynaptischen Ca^{2+} -Einstrom benötigt (Wozny et al. 2008b). In diversen Hirnregionen wurde bereits dargestellt, dass synaptische Plastizität auf der Aktivierung von präsynaptischen NMDA-R beruht (Casado et al. 2002; Duguid & Smart 2004; Humeau et al. 2003; Sjoestroem et al. 2003). Stimuliert man die Adenylylzyklase-cAMP-PKA – Kaskade entweder direkt mit Forskolin oder durch Applikation des cAMP-Analogons Sp-5,6-DCI-cBIMPS, so wird in beiden Fällen eine präsynaptische LTP in BURST Zellen induziert und eine aktivitätsabhängige LTP okkludiert. Diese LTP kann durch verschiedene PKA Inhibitoren gehemmt werden (Wozny et al. 2008a). Aktivierung von D1/D5-R steigert die Aktivität der Adenylylzyklase und setzt somit die Adenylylzyklase-cAMP-PKA – Kaskade in Gang (Missale et al. 1998). Ebenso wird durch Stimulation von D1/D5-R die intrazelluläre Ca^{2+} -Konzentration angehoben (Jay 2003; Lezcano & Bergson 2002; Surmeier et al. 1995; Yang 2000). Die SKF 38393-induzierte Bahnung der LTP war in den vorliegenden Untersuchungen unabhängig von postsynaptischem Ca^{2+} und konnte durch den PKA Antagonisten H-89 gehemmt werden.

Daher ist anzunehmen, dass die Aktivierung von D1/D5-R die präsynaptische cAMP-Konzentration durch einen G_s -Adenylylzyklase-Signalweg in denjenigen CA1 Terminalen anhebt, die auf subikuläre BURST Neurone projizieren.

D1- und D5-R wurden im HC sowohl prä- als auch postsynaptisch nachgewiesen (Bergson et al. 1995). Mehrere Studien weisen darauf hin, dass PKA präsynaptisch an der Induktion von LTP in Moosfasersynapsen bzw. zerebellären Parallelfasersynapsen beteiligt ist (Lonart et al. 2003; Nicoll & Malenka 1995; Villacres et al. 1998). PKA wiederum kann direkt die NR1-Untereinheit des NMDA-R phosphorylieren (Snyder et al. 1998) und so den NMDA-R-vermittelten Einwärtsstrom erhöhen (Chen et al. 2004; Flores-Hernandez et al. 2002; Gonzalez-Islas & Hablitz 2003; Hernandez-Lopez et al. 1997; Seamans et al. 2001).

Ferner wurde gezeigt, dass eine D1/D5-R Aktivierung eine PKA- und Ca^{2+} -abhängige Verstärkung der NMDA-R Antwort verursacht (Cepeda et al. 1998; Lee et al. 2002; Levine et al. 1996; Raman et al. 1996; Wang & O'Donnell 2001; Yang 2000). Folglich kann eine D1/D5-R Stimulation mittels PKA Aktivierung die präsynaptische NMDA-R Funktion steigern und dadurch LTP in subikulären BURST Zellen bahnen.

Unser *in vitro* Ansatz demonstriert, dass eine transiente D1/D5-R Aktivierung dazu dient, die Expression der LTP spezifisch an CA1-Efferenzen zu bahnen, die auf subikuläre BURST Zellen projizieren. Die herabgesetzte Schwelle von subikulären BURST Pyramidalneuronen eine präsynaptische, aktivitätsabhängige LTP nach kurzfristiger D1/D5-R Aktivierung zu exprimieren, deckt einen wirksamen Mechanismus zur Verschlüsselung hippokampaler Informationen auf. Es wurde gezeigt, dass das SUB verantwortlich ist, eine neuigkeitsabhängige Aktivierung der VTA zu generieren (Legault & Wise 2001). Reizt man das SUB durch entweder eine tetanische Stimulation (Blaha et al. 1997; Wang & O'Donnell 2001) oder Applikation von NMDA (Floresco et al. 2001; Floresco et al. 2003), aktiviert dies die DA-Freisetzung von Zellen der VTA, die ihrerseits auf den HC projizieren (siehe ‚*Einleitung 1.3*‘). Die dopaminergen Afferenzen können durch die von uns gezeigten Mechanismen die Erregungsübertragung an der CA1-SUB – Synapse modulieren und dazu beitragen neue und bekannte, sensorische Informationen vom HC auf verschiedene kortikale und subkortikale Hirnregionen differentiell zu übertragen.

5.7 D1/D5-R-vermittelte Modulation im SUB und Alzheimer-Krankheit

Das SUB ist am frühen Stadium der Alzheimer-Krankheit (AK) beteiligt. Die Pathophysiologie ist durch das Auftreten von neurofibrillären ‚Tangles‘ und neuritischen Plaques zuerst im SUB und temporalen Kortex, später im gesamten HC charakterisiert (Adachi et al. 2003). Einige frühe Entstehungsformen familiärer AK sind mit Genmutationen der Amyloid-Vorläufer-Proteine Presenilin 1 und 2 assoziiert (Price et al. 1998).

Zunehmend deuten Studien darauf hin, dass auch Störungen der exzitatorischen synaptischen Transmission in der frühen Phase, bevor die Neurodegeneration beginnt, eine Rolle spielen. Amyloid-beta führt zur schnellen und andauernden Depression von NMDA-R-vermittelten Strömen sowie Endozytose von NMDA-R in kortikalen Neuronen (Kamenetz et al. 2003; Snyder et al. 2005). Das Amyloid-Vorläufer-Protein Presenilin 1 reduziert die AMPA-R-vermittelten Ströme und die synaptische AMPA-R Dichte in der Area CA1 sowie die bidirektionale Plastizität (LTP und LTD) und die Gedächtnisleistung (Chang et al. 2006). Synaptische Depression und Abnahme synaptischer Plastizität durch Amyloid-beta und dessen Vorläuferproteine können zum kognitiven Abbau während der frühen Phase der AK beitragen.

Postmortal fand man im frontalen Kortex bei AK eine verminderte DA-Affinität der D1-R (De Keyser et al. 1990). Zudem bewirkt Amyloid-beta eine Abnahme der extrazellulären DA-Konzentration (Itoh et al. 1996). Diese Abnahme ist zum Teil für die Lerndefizite verantwortlich, die man bei mit Amyloid-beta infundierten Ratten feststellte (Itoh et al. 1996). Transgene Mäuse für die TgCRND8 Linie, einem Modell der AK, zeigten verbesserte Leistungen in Lern- und Gedächtnisaufgaben nach Gabe von Levo-Dopa (Ambree et al. 2009). Spezifisch könnten Lern- und Gedächtnisvorgänge durch D1/D5-R Agonisten beeinflusst werden. Die beeinträchtigte Fähigkeit bei AK Patienten zur Ausbildung synaptischer Plastizität könnte durch D1/D5-R-vermittelte Bahnung kompensiert werden, was bisher jedoch noch nicht untersucht wurde.

5.8 D1/D5-R-vermittelte Modulation im SUB und Abhängigkeitserkrankungen

Bei Abhängigkeitserkrankungen scheint die Aktivierung der HC-VTA - Schleife mit erhöhten extrazellulären DA-Spiegeln im SUB eine Rolle zu spielen (Di Chiara & Imperato 1988). Es besteht ein enger Zusammenhang zwischen Persönlichkeitsmerkmalen, die als exploratorische "Neuigkeits-Suchende" charakterisiert werden, und deren verstärkter DA-Antwort auf abhängig-machende Drogen (Leyton et al. 2002). Ebenso wurde bei Ratten mit erhöhter motorischer Aktivität und verstärkter Entladungsrate der dopaminergen VTA Neurone als Antwort auf Neuigkeit eine erhöhte Selbstadministration von Kokain - einem Wiederaufnahmehemmer von DA, Noradrenalin und Serotonin - festgestellt (Mantsch et al. 2001; Marinelli & White 2000).

Drogensuchendes Verhalten wird durch Impulsaktivität von DA-Neuronen moduliert (Marinelli et al. 2003) und diese Aktivität kann der Aktivierung des HC folgen (siehe *Einleitung 1.3*). Subikuläre Stimulation bahnt einen kontextabhängigen Rückfall in drogensuchendes Verhalten für sowohl Kokain als auch D-Amphetamin (Taepavarapruk & Phillips 2003; Vorel et al. 2001). Wird die subikuläre Aktivität blockiert (Sun & Rebec 2003) oder ist die Fähigkeit zur Ausbildung hippokampaler, synaptischer Plastizität bei transgenen Mäuse gehemmt (Ungless et al. 2001), so ist das drogensuchende Verhalten vermindert.

Nimmt man an, dass die Aktivierung des SUB durch die Verarbeitung neuer Informationen bedingt wird, ist es möglich, dass subikuläre Aktivität die Wahrnehmung eines bereits gelöschten, drogenassoziierten Kontextes verändert. Dieser scheint nun neu oder genug verschieden von dem gelöschten Kontext, um wieder eine Antwort zu provozieren.

Des Weiteren kann die DA-Überfunktion die Motivation steigern (Schultz 1998), was die Wiederaufnahme des abhängigen Verhaltens verstärkt und drogensuchendes Verhalten bahnt. Im Gegensatz würde eine Inaktivierung des SUB die DA-Freisetzung und demzufolge die Motivation vermindern sowie der Kokain-Administration den diskriminativen Reiz neuer Wahrnehmungsinhalte nehmen.

Aktuelle Studien lassen darauf schließen, dass suchterzeugende Drogen synaptische Plastizität mittels dopaminerger Signalgebung bahnen (Borgland et al. 2004; Guan et al. 2009; Mameli et al. 2009; Saal et al. 2003; Thompson et al. 2004; Ungless et al. 2001).. Dieser Mechanismus von Lern- und Gedächtnisvorgängen führt dabei zu Drogen-induzierter, assoziativer Gedächtnisbildung. In DA-Neuronen der VTA induziert bereits eine singuläre Gabe von Kokain eine transiente, NMDA-R-abhängige LTP, wobei im Ncl. accumbens erst wiederholte Gaben zur Induktion von synaptischer Plastizität führen (Mameli et al. 2009). Die Plastizität der VTA konnte durch alle bisher untersuchten abhängig-machenden Drogen induziert werden und dauert ca. 5 Tage an (Borgland et al. 2004; Saal et al. 2003; Ungless et al. 2001). Ob die beiden Formen synaptischer Plastizität unabhängig oder hierarchisch organisiert sind und was deren Funktion für die hippocampale Informationsübertragung ist, bleibt bisher unbekannt. In der CA1 Region ist sowohl nach kurzer Kokain-Administration als auch nach Entwöhnung eine LTP verstärkt auslösbar (Guan et al. 2009; Thompson et al. 2004). *In vivo* zeigt sich eine LTP im DG bei Nikotin-Administration DA-abhängig (Tang & Dani 2009).

Möglicherweise liegt dem Zusammenhang zwischen DA-Überfunktion und verstärkten Suchtverhalten eine DA-vermittelte Bahnung synaptischer Plastizität im Subikulum zugrunde, was bisher nicht untersucht wurde. Mittels Hemmung der HC-VTA - Signalübertragung durch D1/D5-R Antagonisten könnte man medikamentös versuchen, den Rückfall in abhängiges Verhalten zu verhindern, was jedoch mit der potentiellen Nebenwirkung in Form mnestischer Defizite verbunden wäre.

5.9 D1/D5-R-vermittelte Modulation im SUB und Schizophrenie

Bereits 1967 wurde für die Genese der Schizophrenie eine Hypothese aufgestellt, nach der Schizophrenien durch eine Überaktivität bestimmter dopaminerger Bereiche des Gehirns verursacht werden (van Rossum 1967). Die DA-Hypothese beruht auf der Beobachtung, dass beim Verabreichen des reversiblen D2-R Antagonisten Chlorpromazin die dopaminerge Neurotransmission geblockt wurde und sich die schizophrene Psychose, vor allem Positivsymptome wie Wahnsymptome, Halluzinationen und Ich-Störungen, besserte (Horn & Snyder 1971). Beim Verabreichen von D2-R Agonisten bzw. Antagonisten konnten schizophrene Psychosen herbeigeführt bzw. gebessert werden (Snyder 1976).

Gegen die DA-Hypothese sprach jedoch, dass Negativsymptome wie Affektverflachung, motorische und kognitive Defizite durch die Behandlung mit klassischen Neuroleptika entstehen können oder nicht behandelbar sind (Davila et al. 2007). Deshalb wurde die DA-Hypothese rekapituliert, um die Negativsymptome folgerichtig miteinzubeziehen: *„Die Schizophrenien sind bedingt durch abnormal niedrige DA-Aktivitäten im Bereich des präfrontalen Kortex, welche Negativsymptome verursachen, was zu erhöhten DA-Aktivitäten in mesolimbischen DA-Neuronen führt, wodurch die Positivsymptome verursacht werden (Davis et al. 1991).“* Als DA-R-Untergruppe sind vor allem D2-R beteiligt. Es konnte nachgewiesen werden, dass bei noch nicht medikamentös behandelten, schizophrenen Patienten die Dichte von D2-R um 10-30 % im frontalen Kortex (Kessler et al. 2006) und Striatum (Wong et al. 1997) erhöht, aber um 12-30 % im Gyrus cinguli (Buchsbaum et al. 2006) und im Mittelhirn (Kessler et al. 2006) vermindert ist.

D2-R weisen zwei verschiedene funktionelle Zustände im Hypophysenvorderlappen und der Substantia nigra auf, einen Zustand hoher DA-Affinität und einen nicht-funktionalen Zustand niederer DA-Affinität (George et al. 1985), die schnell und kontinuierlich ineinander umwandelbar sind. Durch Stimulation von D1-R kann die Umwandlung von hoher zu niederer DA-Affinität des D2-R beschleunigt werden (Seeman & Tellerico 2003). Eine Unterfunktion von D1-R oder Reduktion des D1-D2-R – Zusammenhangs würde eine Überfunktion von D2-R und demzufolge Positivsymptome oder potentiell eine Psychose fördern.

Ein weiterer wichtiger, ätiologischer Faktor der Schizophrenie, der erst später identifiziert wurde, ist eine Unterfunktion von NMDA-R (Olney et al. 1999; Tamminga 1999). Ein Tiermodell der Schizophrenie, das in Ratten vergleichbare neurochemische, funktionelle sowie Verhaltensmerkmale hervorruft wie in Menschen während der akuten Phase einer Schizophrenie, setzt eine verlängerte soziale Isolation nach Entwöhnung voraus. Die Induktion einer NMDA-R-abhängigen LTP ist in diesem Modell an der CA1-SUB-Synapse reduziert (Roberts & Greene 2003). Wahrscheinlich ist dieser Funktionsverlust mit den Gedächtnisdefiziten und der verminderten hippokampalen Aktivierung während bewussten Wiederabrufens von Gedächtnisinhalten verbunden, die bei Schizophrenie beobachtet werden können (Geyer et al. 1993; Heckers et al. 1998).

Ein therapeutischer Ansatz bei Gedächtnisstörungen von schizophrenen Patienten stellt die Behandlung mit selektiven D1/D5-R Agonisten dar. Wie in der vorliegenden Arbeit gezeigt wurde, könnte dadurch die Induktion und Expression der NMDA-R-abhängigen LTP im Subikulum gebahnt und der Eingang von sensorischen Informationen ins Gedächtnis gefördert werden. Die NMDA-R Unterfunktion würde kompensiert. Der niedere DA-Affinitätszustand von D2-R wird durch D1/D5-R Interaktion erhöht und die therapeutische Wirkung von D2-R Antagonisten somit verstärkt. Eine Besserung der D2-R-vermittelten Positivsymptome könnte bewirkt werden. Im Tiermodell wurde bereits gezeigt, dass eine Aktivierung von D1/D5-R kognitive Defizite bessert und in einer engen therapeutischen Breite zu erhöhten Leistungen in der Objekterkennung, in operanten Lernaufgaben und des räumlichen Arbeitsgedächtnisses führt (McLean et al. 2009; Williams & Castner 2006).

6 Zusammenfassung

Die Verschlüsselung und Speicherung neuer Informationen beruhen auf einer zeitgleichen Freisetzung von DA in der hippocampalen Formation während der Neuigkeitserkennung. Der genaue Ort der Neuigkeitserkennung im HC ist jedoch unklar. HC und dopaminerge Projektionen des Mittelhirns bilden eine funktionelle Schleife. Aktiviert wird diese Schleife, sobald der HC neue Informationen erkennt. Entsprechend aktueller Modelle fungieren die hippocampalen Regionen, CA1 und SUB, als Detektor und Verteiler neuer sensorischer Informationen. Das resultierende Neuigkeitssignal wird über das SUB übertragen, welches als Schnittstelle zwischen HC und Neokortex eine zentrale Rolle bei der Regulation des Informationseinganges ins Langzeitgedächtnis einnimmt.

Aktivitätsabhängige, synaptische Plastizität wird als einer der zellulären Mechanismen verstanden, der wesentlich den physiologischen Prozessen Lernen und Gedächtnis zugrunde liegt. Als zellulär-synaptisches Korrelat versteht man die LTP, eine langandauernde Verstärkung der synaptischen Übertragung zwischen Neuronen im HC. Die am besten untersuchte Form der LTP kann an den Synapsen der Pyramidenzellen in der CA1 Region ausgelöst werden. Trotz der Schlüsselrolle des SUB bei der Informationsübertragung ins Langzeitgedächtnis wurde bisher nicht untersucht, wie DA synaptische Plastizität in dieser Struktur moduliert.

Während die Mehrheit der subikulären Pyramidenneurone mit hochfrequenten Bursts von AP entlädt, weisen der andere Teil subikulärer Pyramidenneurone sowie die meisten CA1 Pyramidenneurone regulär-feuerndes Entladungsverhalten auf. In der vorliegenden Arbeit wurde untersucht, ob und wie eine transiente Aktivierung von D1/D5-R die Induktion einer aktivitätsabhängigen LTP in CA1, subikulären BURST und REG Pyramidenzellen bahnt. Verwendet wurde ein schwaches Stimulationsprotokoll, welches unterschwellig zur Induktion von LTP ist.

Die Ergebnisse zeigen, dass zum einen die kurzfristige D1/D5-R Aktivierung über 5-10 min eine LTP in beiden subikulären Neuronenarten, aber nicht in CA1 Neuronen bahnt. Zum anderen scheinen sich die Formen der induzierten LTP zwischen den subikulären Zelltypen zu unterscheiden.

Es wird nachgewiesen, dass die D1/D5-R-gebahnte LTP in beiden Zellarten zwar NMDA-R-abhängig ist und die Aktivierung der Proteinkinase A benötigt. Jedoch wird in BURST Zellen die D1/D5-R-abhängige LTP stärker gebahnt als in REG Zellen, wird präsynaptisch exprimiert und beruht auf präsynaptischer Ca^{2+} -Signalgebung. In REG Zellen dagegen ist der Expressionsort der LTP postsynaptisch lokalisiert und abhängig von der postsynaptischen Ca^{2+} -Signalkaskade.

Das Phänomen der DA-induzierten Vorbahnung einer NMDA-R-abhängigen LTP in subikulären Pyramidenzellen stimmt mit den Beobachtungen der zeitabhängigen Freisetzung von DA während der Neuigkeitserkennung in dieser Hirnregion überein und deckt einen bedeutenden Mechanismus auf, hippokampale Ausgangsinformationen zu kodieren.

7 Literaturverzeichnis

- Abe K, Fujimoto T, Akaishi T, Misawa M. Basolateral amygdala D1- and D2-dopaminergic system promotes the formation of long-term potentiation in the dentate gyrus of anesthetized rats. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2009; 33(3):552-556.
- Abraham WC, Tate WP. Metaplasticity: a new vista across the field of synaptic plasticity. *Prog Neurobiol.* 1997.52[4]:303-323.
- Abraham WC, Williams JM. Properties and mechanisms of LTP maintenance. *Neuroscientist* 2003; 9(6):463-474.
- Adachi M, Kawakatsu S, Hosoya T et al. Morphology of the inner structure of the hippocampal formation in Alzheimer disease. *AJNR Am J Neuroradiol* 2003; 24(8):1575-1581.
- Amaral DG. Emerging principles of intrinsic hippocampal organization. *Curr Opin Neurobiol* 1993; 3:225-229.
- Amaral DG, Dolorfo C, Alvarez-Royo P. Organization of CA1 projections to the subiculum: a PHA-L analysis in the rat. *Hippocampus* 1991; 1:415-436.
- Amaral DG, Witter MP. The three-dimensional organization of the hippocampal formation: A review of anatomical data. *Neuroscience* 1989; 31:571-591.
- Amaral DG, Witter MP. The hippocampal formation. In: Paxinos G, editor. *The rat nervous system*. New York: Academic Press, 1995: 443-494.
- Ambree O, Richter H, Sachser N et al. Levodopa ameliorates learning and memory deficits in a murine model of Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 2009; 30(8):1192-1204.
- Andersen P, Bliss TVP, Skrede KK. Lamellar organization of hippocampal excitatory pathways. *Exp Brain Res* 1971; 13:222-238.
- Anderson MI, O'Mara SM. Responses of dorsal subicular neurons of rats during object exploration in an extended environment. *Exp Brain Res* 2004; 159(4):519-529.
- Aptowicz CO, Kunkler PE, Kraig RP. Homeostatic plasticity in hippocampal slice cultures involves changes in voltage-gated Na⁺ channel expression. *Brain Res* 2004; 998(2):155-163.
- Apud JA, Mattay V, Chen J et al. Tolcapone improves cognition and cortical information processing in normal human subjects. *Neuropsychopharmacology* 2007; 32(5):1011-1020.
- Arancio O, Kiebler M, Lee CJ et al. Nitric oxide acts directly in the presynaptic neuron to produce long-term potentiation in cultured hippocampal neurons. *Cell* 1996; 87(6):1025-1035.
- Bach ME, Barad M, Son H et al. Age-related defects in spatial memory are correlated with defects in the late phase of hippocampal long-term potentiation in vitro and are attenuated by drugs that enhance the cAMP signaling pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96(9):5280-5285.

- Banke TG, Bowie D, Lee H, Huganir RL, Schousboe A, Traynelis SF. Control of GluR1 AMPA receptor function by cAMP-dependent protein kinase. *J Neurosci* 2000; 20(1):89-102.
- Barria A, Muller D, Derkach V, Griffith LC, Soderling TR. Regulatory phosphorylation of AMPA-type glutamate receptors by CaM-KII during long-term potentiation. *Science* 1997; 276(5321):2042-2045.
- Bear MF. Bidirectional synaptic plasticity: from theory to reality. *Philos Trans R Soc Lond [Biol]* 2003; 358(1432):649-655.
- Beattie EC, Carroll RC, Yu X et al. Regulation of AMPA receptor endocytosis by a signaling mechanism shared with LTD. *Nat Neurosci* 2000; 3(12):1291-1300.
- Bekkers JM, Stevens CF. Presynaptic mechanism for long-term potentiation in the hippocampus. *Nature* 1990; 346:724-729.
- Bender VA, Bender KJ, Brasier DJ, Feldman DE. Two coincidence detectors for spike timing-dependent plasticity in somatosensory cortex. *J Neurosci* 2006; 26(16):4166-4177.
- Benke TA, Lüthi A, Isaac JT, Collingridge GL. Modulation of AMPA receptor unitary conductance by synaptic activity. *Nature* 1998; 393:793-797.
- Bergson C, Mrzljak L, Smiley JF, Pappy M, Levenson R, Goldman-Rakic PS. Regional, cellular, and subcellular variations in the distribution of D1 and D5 dopamine receptors in primate brain. *J Neurosci* 1995; 15(12):7821-7836.
- Berry MS, Pentreath VW. Criteria for distinguishing between monosynaptic and polysynaptic transmission. *Brain Res* 1976; 105:1-20.
- Bienenstock EL, Cooper LN, Munro PW. Theory for the development of neuron selectivity: orientation specificity and binocular interaction in visual cortex. *J Neurosci* 1982; 2(1):32-48.
- Blaha CD, Yang CR, Floresco SB, Barr AM, Phillips AG. Stimulation of the ventral subiculum of the hippocampus evokes glutamate receptor-mediated changes in dopamine efflux in the rat nucleus accumbens. *Eur J Neurosci* 1997; 9:902-911.
- Bliss TVP, Collingridge GL. A synaptic model of memory: Long-term potentiation in the hippocampus. *Nature* 1993; 361:31-39.
- Bliss TVP, Lømo T. Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J Physiol (Lond)* 1973; 232:331-356.
- Blitzer RD, Connor JH, Brown GP et al. Gating of CaMKII by cAMP-regulated protein phosphatase activity during LTP. *Science* 1998; 280(5371):1940-1942.
- Boeijinga PH, Boddeke HWGM. Activation of 5-HT_{1B} receptors suppresses low but not high frequency synaptic transmission in the rat subicular cortex *in vitro*. *Brain Res* 1996; 721:59-65.
- Bolshakov VY, Siegelbaum SA. Postsynaptic induction and presynaptic expression of hippocampal long-term depression. *Science* 1994; 264(5162):1148-1152.

- Borgland SL, Malenka RC, Bonci A. Acute and chronic cocaine-induced potentiation of synaptic strength in the ventral tegmental area: electrophysiological and behavioral correlates in individual rats. *J Neurosci* 2004; 24(34):7482-7490.
- Bortolotto ZA, Clarke VR, Delany CM et al. Kainate receptors are involved in synaptic plasticity. *Nature* 1999; 402(6759):297-301.
- Bortolotto ZA, Lauri S, Isaac JTR, Collingridge GL. Kainate receptors and the induction of mossy fibre long-term potentiation. *Philos Trans R Soc Lond [Biol]* 2003; 358(1432):657-666.
- Bredt DS, Nicoll RA. AMPA receptor trafficking at excitatory synapses. *Neuron* 2003; 40(2):361-379.
- Brown GP, Blitzer RD, Connor JH et al. Long-term potentiation induced by theta frequency stimulation is regulated by a protein phosphatase-1-operated gate. *J Neurosci* 2000; 20(21):7880-7887.
- Brudzynski SM, Gibson CJ. Release of dopamine in the nucleus accumbens caused by stimulation of the subiculum in freely moving rats. *Brain Res Bull* 1997; 42:303-308.
- Bruinink A, Bischoff S. Dopamine D2 receptors are unevenly distributed in the rat hippocampus and are modulated differently than in striatum. *Eur J Pharmacol* 1993; 245:157-164.
- Buchsbaum MS, Christian BT, Lehrer DS et al. D2/D3 dopamine receptor binding with [¹⁸F]-allypride in thalamus and cortex of patients with schizophrenia. *Schizophr Res* 2006; 85(1-3):232-244.
- Buzsaki G. Two-stage model of memory trace formation: a role for "noisy" brain states. *Neuroscience* 1989; 31(3):551-570.
- Calabresi P, Gubellini P, Centonze D et al. Dopamine and cAMP-regulated phosphoprotein 32 kDa controls both striatal long-term depression and long-term potentiation, opposing forms of synaptic plasticity. *J Neurosci* 2000; 20(22):8443-8451.
- Carroll RC, Lissin DV, von Zastrow M, Nicoll RA, Malenka RC. Rapid redistribution of glutamate receptors contributes to long-term depression in hippocampal cultures. *Nat Neurosci* 1999; 2(5):454-460.
- Casado M, Isope P, Ascher P. Involvement of presynaptic N-methyl-D-aspartate receptors in cerebellar long-term depression. *Neuron* 2002; 33(1):123-130.
- Castillo PE, Janz R, Südhof TC, Tzounopoulos T, Malenka RC, Nicoll RA. Rab3A is essential for mossy fibre long-term potentiation in the hippocampus. *Nature* 1997; 388:590-593.
- Castillo PE, Schoch S, Schmitz F, Südhof TC, Malenka RC. RIM1alpha is required for presynaptic long-term potentiation. *Nature* 2002; 415(6869):327-330.
- Castro-Alamancos MA, Calcagnotto ME. Presynaptic long-term potentiation in corticothalamic synapses. *J Neurosci* 1999; 19(20):9090-9097.
- Centonze D, Grande C, Saulle E et al. Distinct roles of D1 and D5 dopamine receptors in motor activity and striatal synaptic plasticity. *J Neurosci* 2003; 23(24):8506-8512.

- Cepeda C, Buchwald NA, Levine MS. Neuromodulatory actions of dopamine in the neostriatum are dependent upon the excitatory amino acid receptor subtypes activated. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993; 90(20):9576-9580.
- Cepeda C, Colwell CS, Itri JN, Chandler SH, Levine MS. Dopaminergic modulation of NMDA-induced whole cell currents in neostriatal neurons in slices: Contribution of calcium conductances. *J Neurophysiol* 1998; 79:82-94.
- Chang EH, Savage MJ, Flood DG et al. AMPA receptor downscaling at the onset of Alzheimer's disease pathology in double knockin mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103(9):3410-3415.
- Chen G, Greengard P, Yan Z. Potentiation of NMDA receptor currents by dopamine D1 receptors in prefrontal cortex. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101(8):2596-2600.
- Chevaleyre V, Castillo PE. Assessing the role of Ih channels in synaptic transmission and mossy fiber LTP. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002; 99(14):9538-9543.
- Chevaleyre V, Castillo PE. Heterosynaptic LTD of hippocampal GABAergic synapses: A novel role of endocannabinoids in regulating excitability. *Neuron* 2003; 38(3):461-472.
- Chevaleyre V, Castillo PE. Endocannabinoid-mediated metaplasticity in the hippocampus. *Neuron* 2004; 43(6):871-881.
- Chrobak JJ, Lorincz A, Buzsaki G. Physiological patterns in the hippocampo-entorhinal cortex system. *Hippocampus* 2000; 10(4):457-465.
- Chrobak JJ, Napier TC. Opioid and GABA modulation of accumbens-evoked ventral pallidal activity. *J Neural Transm* 1993; 93:123-143.
- Commins S, Gigg J, Anderson M, O'Mara SM. Interaction between paired-pulse facilitation and long-term potentiation in the projection from hippocampal area CA1 to the subiculum. *NeuroReport* 1998; 9:4109-4113.
- Contractor A, Swanson G, Heinemann SF. Kainate receptors are involved in short- and long-term plasticity at mossy fiber synapses in the hippocampus. *Neuron* 2001; 29(1):209-216.
- Cooper DC, Chung S, Spruston N. Output-mode transitions are controlled by prolonged inactivation of sodium channels in pyramidal neurons of subiculum. *PLoS Biol* 2005; 3(6):e175.
- Cooper DC, Klipec WD, Fowler MA, Ozkan ED. A role for the subiculum in the brain motivation/reward circuitry. *Behav Brain Res* 2006; 174(2):225-231.
- Cummings JA, Mulkey RM, Nicoll RA, Malenka RC. Ca²⁺ signaling requirements for long-term depression in the hippocampus. *Neuron* 1996; 16:825-833.
- Cummings JA, Nicola SM, Malenka RC. Induction in the rat hippocampus of long-term potentiation (LTP) and long-term depression (LTD) in the presence of a nitric oxide synthase inhibitor. *Neurosci Lett* 1994; 176(1):110-114.
- Daoudal G, Debanne D. Long-term plasticity of intrinsic excitability: learning rules and mechanisms. *Learn Mem* 2003; 10(6):456-465.

- Davila R, Zumarraga M, Basterreche N, Arrue A, Anguiano JB. Plasma homovanillic acid levels in schizophrenic patients: correlation with negative symptoms. *Psychiatry Res* 2007; 151(1-2):163-168.
- Davis KL, Kahn RS, Ko G, Davidson M. Dopamine in schizophrenia: a review and reconceptualization. *Am J Psychiatry* 1991; 148(11):1474-1486.
- de Frias CM, Annerbrink K, Westberg L, Eriksson E, Adolfsson R, Nilsson LG. COMT gene polymorphism is associated with declarative memory in adulthood and old age. *Behav Genet* 2004; 34(5):533-539.
- De Keyser J, Ebinger G, Vauquelin G. D1-dopamine receptor abnormality in frontal cortex points to a functional alteration of cortical cell membranes in Alzheimer's disease. *Arch Neurol* 1990; 47(7):761-763.
- Deadwyler SA, Hampson RE. Differential but complementary mnemonic functions of the hippocampus and subiculum. *Neuron* 2004; 42(3):465-476.
- Debanne D, Guérineau NC, Gähwiler BH, Thompson SM. Paired-pulse facilitation and depression at unitary synapses in rat hippocampus: Quantal fluctuation affects subsequent release. *J Physiol (Lond)* 1996; 491:163-176.
- Derkach V, Barria A, Soderling TR. Ca²⁺/calmodulin-kinase II enhances channel conductance of alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionate type glutamate receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96(6):3269-3274.
- Desai NS, Rutherford LC, Turrigiano GG. Plasticity in the intrinsic excitability of cortical pyramidal neurons. *Nat Neurosci* 1999; 2(6):515-520.
- Di Chiara G, Imperato A. Drugs abused by humans preferentially increase synaptic dopamine concentrations in the mesolimbic system of freely moving rats. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1988; 85(14):5274-5278.
- Diamond JS, Bergles DE, Jahr CE. Glutamate release monitored with astrocyte transporter currents during LTP. *Neuron* 1998; 21:425-433.
- Dudek SM, Bear MF. Homosynaptic long-term depression in area CA1 of hippocampus and effects of *N*-methyl-D-aspartate receptor blockade. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992; 89:4363-4367.
- Dudek SM, Bear MF. Bidirectional long-term modification of synaptic effectiveness in the adult and immature hippocampus. *J Neurosci* 1993; 13:2910-2918.
- Dudel J, Menzel R, Schmidt RF. *Neurowissenschaft - Vom Molekül zur Kognition*. Berlin: Springer, 2001.
- Duguid IC, Smart TG. Retrograde activation of presynaptic NMDA receptors enhances GABA release at cerebellar interneuron-Purkinje cell synapses. *Nat Neurosci* 2004; 7(5):525-533.
- Ehlers MD. Reinsertion or degradation of AMPA receptors determined by activity-dependent endocytic sorting. *Neuron* 2000; 28(2):511-525.
- Eichenbaum H. Hippocampus: cognitive processes and neural representations that underlie declarative memory. *Neuron* 2004; 44(1):109-120.

- Esteban JA, Shi SH, Wilson C, Nuriya M, Haganir RL, Malinow R. PKA phosphorylation of AMPA receptor subunits controls synaptic trafficking underlying plasticity. *Nat Neurosci* 2003; 6(2):136-143.
- Faber DS, Korn H. Applicability of the coefficient of variation method for analyzing synaptic plasticity. *Biophys J* 1991; 60:1288-1294.
- Ferguson GD, Storm DR. Why calcium-stimulated adenylyl cyclases? *Physiology (Bethesda)* 2004; 19:271-276.
- Flores-Hernandez J, Cepeda C, Hernandez-Echeagaray E et al. Dopamine enhancement of NMDA currents in dissociated medium-sized striatal neurons: role of D1 receptors and DARPP-32. *J Neurophysiol* 2002; 88(6):3010-3020.
- Floresco SB, Todd CL, Grace AA. Glutamatergic afferents from the hippocampus to the nucleus accumbens regulate activity of ventral tegmental area dopamine neurons. *J Neurosci* 2001; 21(13):4915-4922.
- Floresco SB, West AR, Ash B, Moore H, Grace AA. Afferent modulation of dopamine neuron firing differentially regulates tonic and phasic dopamine transmission. *Nat Neurosci* 2003; 6(9):968-973.
- Fremeau RT, Jr., Duncan GE, Fornaretto MG et al. Localization of D₁ dopamine receptor mRNA in brain supports a role in cognitive, affective, and neuroendocrine aspects of dopaminergic neurotransmission. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1991; 88:3772-3776.
- Frick A, Johnston D. Plasticity of dendritic excitability. *J Neurobiol* 2005; 64(1):100-115.
- Gabrieli JD, Brewer JB, Desmond JE, Glover GH. Separate neural bases of two fundamental memory processes in the human medial temporal lobe. *Science* 1997; 276(5310):264-266.
- Gao C, Sun X, Wolf ME. Activation of D1 dopamine receptors increases surface expression of AMPA receptors and facilitates their synaptic incorporation in cultured hippocampal neurons. *J Neurochem* 2006; 98(5):1664-1677.
- Gasbarri A, Sulli A, Innocenzi R, Pacitti C, Brioni JD. Spatial memory impairment induced by lesion of the mesohippocampal dopaminergic system in the rat. *Neuroscience* 1996; 74:1037-1044.
- Gasbarri A, Sulli A, Packard MG. The dopaminergic mesencephalic projections to the hippocampal formation in the rat. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 1997; 21(1):1-22.
- Gasbarri A, Verney C, Innocenzi R, Campana E, Pacitti C. Mesolimbic dopaminergic neurons innervating the hippocampal formation in the rat: a combined retrograde tracing and immunohistochemical study. *Brain Res* 1994; 668:71-79.
- Geijo-Barrientos E, Pastore C. The effects of dopamine on the subthreshold electrophysiological responses of rat prefrontal cortex neurons in vitro. *Eur J Neurosci* 1995; 7(3):358-366.
- George SR, Watanabe M, Di Paolo T, Falardeau P, Labrie F, Seeman P. The functional state of the dopamine receptor in the anterior pituitary is in the high affinity form. *Endocrinology* 1985; 117(2):690-697.

- Geyer MA, Wilkinson LS, Humby T, Robbins TW. Isolation rearing of rats produces a deficit in prepulse inhibition of acoustic startle similar to that in schizophrenia. *Biol Psychiatry* 1993; 34(6):361-372.
- Gigg J, Finch DM, O'Mara SM. Responses of rat subicular neurons to convergent stimulation of lateral entorhinal cortex and CA1 in vivo. *Brain Res* 2000; 884(1--2):35-50.
- Gloveli T, Albrecht D, Heinemann U. Properties of low Mg^{2+} induced epileptiform activity in rat hippocampal and entorhinal cortex slices during adolescence. *Dev Brain Res* 1995; 87:145-152.
- Goldsmith SK, Joyce JN. Dopamine D2 receptor expression in hippocampus and parahippocampal cortex of rat, cat, and human in relation to tyrosine hydroxylase-immunoreactive fibers. *Hippocampus* 1994; 4:354-373.
- Gonzalez-Islas C, Hablitz JJ. Dopamine enhances EPSCs in layer II-III pyramidal neurons in rat prefrontal cortex. *J Neurosci* 2003; 23(3):867-875.
- Gorelova NA, Yang CR. Dopamine D1/D5 receptor activation modulates a persistent sodium current in rat prefrontal cortical neurons in vitro. *J Neurophysiol* 2000; 84(1):75-87.
- Greene JR, Totterdell S. Morphology and distribution of electrophysiologically defined classes of pyramidal and nonpyramidal neurons in rat ventral subiculum in vitro. *J Comp Neurol* 1997; 380:395-408.
- Guan X, Zhang R, Xu Y, Li S. Cocaine withdrawal enhances long-term potentiation in rat hippocampus via changing the activity of corticotropin-releasing factor receptor subtype 2. *Neuroscience* 2009; 161(3):665-670.
- Gurden H, Takita M, Jay TM. Essential role of D1 but not D2 receptors in the NMDA receptor-dependent long-term potentiation at hippocampal-prefrontal cortex synapses in vivo. *J Neurosci* 2000; 20(22):RC106.
- Hampson RE, Hedberg T, Deadwyler SA. Differential information processing by hippocampal and subicular neurons. *Ann N Y Acad Sci* 2000; 911:151-165.
- Harris E, Stewart M. Intrinsic connectivity of the rat subiculum: II. Properties of synchronous spontaneous activity and a demonstration of multiple generator regions. *J Comp Neurol* 2001; 435(4):506-518.
- Harris E, Witter MP, Weinstein G, Stewart M. Intrinsic connectivity of the rat subiculum: I. Dendritic morphology and patterns of axonal arborization by pyramidal neurons. *J Comp Neurol* 2001; 435(4):490-505.
- Hasselmo ME. Neuromodulation and the hippocampus: memory function and dysfunction in a network simulation. *Prog Brain Res* 1999; 121:3-18.
- Hasselmo ME, Wyble BP, Wallenstein GV. Encoding and retrieval of episodic memories: role of cholinergic and GABAergic modulation in the hippocampus. *Hippocampus* 1996; 6(6):693-708.
- Hebb DO. *The Organization of Behavior: a neuropsychological theory*. New York: Wiley, 1949.
- Heckers S, Rauch SL, Goff D et al. Impaired recruitment of the hippocampus during conscious recollection in schizophrenia. *Nat Neurosci* 1998; 1(4):318-323.

- Hernandez-Lopez S, Bargas J, Surmeier DJ, Reyes A, Galarraga E. D1 receptor activation enhances evoked discharge in neostriatal medium spiny neurons by modulating an L-type Ca²⁺ conductance. *J Neurosci* 1997; 17(9):3334-3342.
- Hersi AI, Rowe W, Gaudreau P, Quirion R. Dopamine D1 receptor ligands modulate cognitive performance and hippocampal acetylcholine release in memory-impaired aged rats. *Neuroscience* 1995; 69(4):1067-1074.
- Horn AS, Snyder SH. Chlorpromazine and dopamine: conformational similarities that correlate with the antischizophrenic activity of phenothiazine drugs. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1971; 68(10):2325-2328.
- Hrabetova S, Serrano P, Blace N et al. Distinct NMDA receptor subpopulations contribute to long-term potentiation and long-term depression induction. *J Neurosci* 2000; 20(12):RC81.
- Huang CC, Hsu KS. Reexamination of the role of hyperpolarization-activated cation channels in short- and long-term plasticity at hippocampal mossy fiber synapses. *Neuropharmacology* 2003; 44(7):968-981.
- Huang YY, Kandel ER. D1/D5 receptor agonists induce a protein synthesis-dependent late potentiation of the CA1 region of the hippocampus. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92(7):2446-2450.
- Huang YY, Kandel ER. Theta frequency stimulation up-regulates the synaptic strength of the pathway from CA1 to subiculum region of hippocampus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102(1):232-237.
- Huber KM, Roder JC, Bear MF. Chemical induction of mGluR5- and protein synthesis--dependent long-term depression in hippocampal area CA1. *J Neurophysiol* 2001; 86(1):321-325.
- Humeau Y, Shaban H, Bissiere S, Luthi A. Presynaptic induction of heterosynaptic associative plasticity in the mammalian brain. *Nature* 2003; 426(6968):841-845.
- Ihalainen JA, Riekkinen P, Jr., Feenstra MG. Comparison of dopamine and noradrenaline release in mouse prefrontal cortex, striatum and hippocampus using microdialysis. *Neurosci Lett* 1999; 277(2):71-74.
- Ishizuka N. Laminar organization of the pyramidal cell layer of the subiculum in the rat. *J Comp Neurol* 2001; 435(1):89-110.
- Itoh A, Nitta A, Nadai M et al. Dysfunction of cholinergic and dopaminergic neuronal systems in beta-amyloid protein--infused rats. *J Neurochem* 1996; 66(3):1113-1117.
- Izhikevich EM, Desai NS, Walcott EC, Hoppensteadt FC. Bursts as a unit of neural information: selective communication via resonance. *Trends Neurosci* 2003; 26(3):161-167.
- Jarsky T, Mady R, Kennedy B, Spruston N. Distribution of bursting neurons in the CA1 region and the subiculum of the rat hippocampus. *J Comp Neurol* 2008; 506(4):535-547.
- Jay TM. Dopamine: a potential substrate for synaptic plasticity and memory mechanisms. *Prog Neurobiol* 2003; 69(6):375-390.
- Jones MV, Westbrook GL. The impact of receptor desensitization on fast synaptic transmission. *Trends Neurosci* 1996; 19:96-101.

- Jung HY, Staff NP, Spruston N. Action potential bursting in subicular pyramidal neurons is driven by a calcium tail current. *J Neurosci* 2001; 21(10):3312-3321.
- Kamal A, Ramakers GM, Urban IJ, de Graan PN, Gispen WH. Chemical LTD in the CA1 field of the hippocampus from young and mature rats. *Eur J Neurosci* 1999; 11(10):3512-3516.
- Kamenetz F, Tomita T, Hsieh H et al. APP processing and synaptic function. *Neuron* 2003; 37(6):925-937.
- Karmarkar UR, Buonomano DV. Different forms of homeostatic plasticity are engaged with distinct temporal profiles. *Eur J Neurosci* 2006; 23(6):1575-1584.
- Kemp A, Manahan-Vaughan D. Hippocampal long-term depression and long-term potentiation encode different aspects of novelty acquisition. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101(21):8192-8197.
- Kessler RM, Ansari MS, Riccardi P et al. Occupancy of striatal and extrastriatal dopamine D2 receptors by clozapine and quetiapine. *Neuropsychopharmacology* 2006; 31(9):1991-2001.
- Kimchi EY, Torregrossa MM, Taylor JR, Laubach M. Neuronal correlates of instrumental learning in the dorsal striatum. *J Neurophysiol* 2009.
- Klimesch W. Memory processes, brain oscillations and EEG synchronization. *Int J Psychophysiol* 1996; 24(1-2):61-100.
- Kloosterman F, Witter MP, Van Haeften T. Topographical and laminar organization of subicular projections to the parahippocampal region of the rat. *J Comp Neurol* 2003; 455(2):156-171.
- Kloosterman WP, Wienholds E, Ketting RF, Plasterk RH. Substrate requirements for let-7 function in the developing zebrafish embryo. *Nucleic Acids Res* 2004; 32(21):6284-6291.
- Knecht S, Breitenstein C, Bushuven S et al. Levodopa: faster and better word learning in normal humans. *Ann Neurol* 2004; 56(1):20-26.
- Knopp A, Kivi A, Wozny C, Heinemann U, Behr J. Cellular and network properties of the subiculum in the pilocarpine model of temporal lobe epilepsy. *J Comp Neurol* 2005; 483(4):476-488.
- Kokaia M. Long-term potentiation of single subicular neurons in mice. *Hippocampus* 2000; 10(6):684-692.
- Kulla A, Manahan-Vaughan D. Depotentiation in the dentate gyrus of freely moving rats is modulated by D1/D5 dopamine receptors. *Cereb Cortex* 2000; 10:614-620.
- Kusuki T, Imahori Y, Ueda S, Inokuchi K. Dopaminergic modulation of LTP induction in the dentate gyrus of intact brain. *NeuroReport* 1997; 8:2037-2040.
- Lapointe V, Morin F, Ratte S, Croce A, Conquet F, Lacaille JC. Synapse-specific mGluR1-dependent long-term potentiation in interneurons regulates mouse hippocampal inhibition. *J Physiol* 2004; 555(Pt 1):125-135.
- Laukka SJ, Jarvilehto T, Alexandrov Y, Lindqvist J. Frontal midline theta related to learning in a simulated driving task. *Biol Psychol* 1995; 40(3):313-320.

- Lavenex P, Amaral DG. Hippocampal-neocortical interaction: a hierarchy of associativity. *Hippocampus* 2000; 10(4):420-430.
- Lee FJ, Xue S, Pei L et al. Dual regulation of NMDA receptor functions by direct protein-protein interactions with the dopamine D1 receptor. *Cell* 2002; 111(2):219-230.
- Lee HK, Kameyama K, Huganir RL, Bear MF. NMDA induces long-term synaptic depression and dephosphorylation of the GluR1 subunit of AMPA receptors in hippocampus. *Neuron* 1998; 21(5):1151-1162.
- Lee HK, Takamiya K, Han JS et al. Phosphorylation of the AMPA receptor GluR1 subunit is required for synaptic plasticity and retention of spatial memory. *Cell* 2003; 112(5):631-643.
- Legault M, Rompre PP, Wise RA. Chemical stimulation of the ventral hippocampus elevates nucleus accumbens dopamine by activating dopaminergic neurons of the ventral tegmental area. *J Neurosci* 2000; 20(4):1635-1642.
- Legault M, Wise RA. Novelty-evoked elevations of nucleus accumbens dopamine: dependence on impulse flow from the ventral subiculum and glutamatergic neurotransmission in the ventral tegmental area. *Eur J Neurosci* 2001; 13(4):819-828.
- Lemon N, Manahan-Vaughan D. Dopamine D1/D5 receptors gate the acquisition of novel information through hippocampal long-term potentiation and long-term depression. *J Neurosci* 2006; 26(29):7723-7729.
- Lesica NA, Stanley GB. Encoding of natural scene movies by tonic and burst spikes in the lateral geniculate nucleus. *J Neurosci* 2004; 24(47):10731-10740.
- Lever C, Burton S, Jeewajee A, O'Keefe J, Burgess N. Boundary vector cells in the subiculum of the hippocampal formation. *J Neurosci* 2009; 29(31):9771-9777.
- Levine MS, Altemus KL, Cepeda C et al. Modulatory actions of dopamine on NMDA receptor-mediated responses are reduced in D1A-deficient mutant mice. *J Neurosci* 1996; 16(18):5870-5882.
- Leyton M, Boileau I, Benkelfat C, Diksic M, Baker G, Dagher A. Amphetamine-induced increases in extracellular dopamine, drug wanting, and novelty seeking: a PET/[11C]raclopride study in healthy men. *Neuropsychopharmacology* 2002; 27(6):1027-1035.
- Lezcano N, Bergson C. D1/D5 dopamine receptors stimulate intracellular calcium release in primary cultures of neocortical and hippocampal neurons. *J Neurophysiol* 2002; 87(4):2167-2175.
- Li S, Cullen WK, Anwyl R, Rowan MJ. Dopamine-dependent facilitation of LTP induction in the hippocampal CA1 by exposure to spatial novelty. *Nat. Neurosci.* 2003.6[5]:526-531.
- Lisman J, Lichtman JW, Sanes JR. LTP: perils and progress. *Nat Rev Neurosci* 2003; 4(11):926-929.
- Lisman J, Schulman H, Cline H. The molecular basis of CaMKII function in synaptic and behavioural memory. *Nat Rev Neurosci* 2002; 3(3):175-190.
- Lisman JE. Bursts as a unit of neural information: making unreliable synapses reliable. *Trends Neurosci* 1997; 20(1):38-43.

- Lisman JE, Grace AA. The hippocampal-VTA loop: controlling the entry of information into long-term memory. *Neuron* 2005; 46(5):703-713.
- Lisman JE, Otmakhova NA. Storage, recall, and novelty detection of sequences by the hippocampus: elaborating on the SOCRATIC model to account for normal and aberrant effects of dopamine. *Hippocampus* 2001; 11(5):551-568.
- Liu L, Wong TP, Pozza MF et al. Role of NMDA receptor subtypes in governing the direction of hippocampal synaptic plasticity. *Science* 2004; 304(5673):1021-1024.
- Livingstone MS, Freeman DC, Hubel DH. Visual responses in V1 of freely viewing monkeys. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 1996; 61:27-37.
- Lonart G, Schoch S, Kaeser PS, Larkin CJ, Sudhof TC, Linden DJ. Phosphorylation of RIM1alpha by PKA triggers presynaptic long-term potentiation at cerebellar parallel fiber synapses. *Cell* 2003; 115(1):49-60.
- Lopes da Silva FH, Witter MP, Boeijinga PH, Lohman AHM. Anatomic organization and physiology of the limbic cortex. *Physiol Rev* 1990; 70:453-511.
- Lorente de Nó R. Studies on the structure of the cerebral cortex II. Continuation of the study of the ammonic system. *J Psychol Neurol* 1934; 46(2-3):113-177.
- Lüscher C, Malenka RC, Nicoll RA. Monitoring glutamate release during LTP with glial transporter currents. *Neuron* 1998; 21:435-441.
- Lynch G, Larson J, Kelso S, Barrionuevo G, Schottler F. Intracellular injections of EGTA block induction of hippocampal long term potentiation. *Nature* 1983; 305:719-723.
- Lynch MA. Long-term potentiation and memory. *Physiol Rev* 2004; 84(1):87-136.
- MacDermott AB, Role LW, Siegelbaum SA. Presynaptic ionotropic receptors and the control of transmitter release. *Annu Rev Neurosci* 1999; 22:443-485.
- Malenka RC, Bear MF. LTP and LTD: an embarrassment of riches. *Neuron* 2004; 44(1):5-21.
- Malenka RC, Kauer JA, Zucker RS, Nicoll RA. Postsynaptic Calcium is sufficient for potentiation of hippocampal synaptic transmission. *Science* 1988; 242:81-84.
- Malenka RC, Lancaster B, Zucker RS. Temporal limits on the rise in postsynaptic calcium required for the induction of long-term potentiation. *Neuron* 1992; 9:121-128.
- Malenka RC, Nicoll RA. Long-term potentiation--a decade of progress? *Science* 1999; 285(5435):1870-1874.
- Malinow R, Malenka RC. AMPA receptor trafficking and synaptic plasticity. *Annu Rev Neurosci* 2002; 25:103-126.
- Malinow R, Tsien RW. Presynaptic enhancement shown by whole-cell recordings of long-term potentiation in hippocampal slices. *Nature* 1990; 346:177-180.
- Mameli M, Halbout B, Creton C et al. Cocaine-evoked synaptic plasticity: persistence in the VTA triggers adaptations in the NAc. *Nat Neurosci* 2009; 12(8):1036-1041.

- Manabe T, Wyllie DJA, Perkel DJ, Nicoll RA. Modulation of synaptic transmission and long-term potentiation: Effects on paired pulse facilitation and EPSC variance in the CA1 region of the hippocampus. *J Neurophysiol* 1993; 70:1451-1459.
- Mantsch JR, Ho A, Schlussman SD, Kreek MJ. Predictable individual differences in the initiation of cocaine self-administration by rats under extended-access conditions are dose-dependent. *Psychopharmacology (Berl)* 2001; 157(1):31-39.
- Manzoni OJ, Castillo PE, Nicoll RA. Pharmacology of metabotropic glutamate receptors at the mossy fiber synapses of the guinea pig hippocampus. *Neuropharmacology* 1995; 34:965-971.
- Marinelli M, Cooper DC, Baker LK, White FJ. Impulse activity of midbrain dopamine neurons modulates drug-seeking behavior. *Psychopharmacology (Berl)* 2003; 168(1-2):84-98.
- Marinelli M, White FJ. Enhanced vulnerability to cocaine self-administration is associated with elevated impulse activity of midbrain dopamine neurons. *J Neurosci* 2000; 20(23):8876-8885.
- Markram H, Tsodyks M. Redistribution of synaptic efficacy between neocortical pyramidal neurons [see comments]. *Nature* 1996; 382:807-810.
- Martin SJ, Grimwood PD, Morris RG. Synaptic plasticity and memory: an evaluation of the hypothesis. *Annu Rev Neurosci* 2000; 23:649-711.
- Martres MP, Bouthenet ML, Sales N, Sokoloff P, Schwartz J-C. Widespread distribution of brain dopamine receptors evidenced with [¹²⁵I]iodosulpride, a highly selective ligand. *Science* 1985; 228:752-755.
- Mason A. Electrophysiology and burst-firing of rat subicular pyramidal neurons in vitro: A comparison with area CA1. *Brain Res* 1993; 600:174-178.
- Matsuzaki M, Honkura N, Ellis-Davies GC, Kasai H. Structural basis of long-term potentiation in single dendritic spines. *Nature* 2004; 429(6993):761-766.
- Mattia D, Kawasaki H, Avoli M. In vitro electrophysiology of rat subicular bursting neurons. *Hippocampus* 1997; 7:48-57.
- Maurice N, Tkatch T, Meisler M, Sprunger LK, Surmeier DJ. D1/D5 dopamine receptor activation differentially modulates rapidly inactivating and persistent sodium currents in prefrontal cortex pyramidal neurons. *J Neurosci* 2001; 21(7):2268-2277.
- McClelland JL, McNaughton BL, O'Reilly RC. Why there are complementary learning systems in the hippocampus and neocortex: insights from the successes and failures of connectionist models of learning and memory. *Psychol Rev* 1995; 102(3):419-457.
- McLean SL, Idris NF, Woolley ML, Neill JC. D(1)-like receptor activation improves PCP-induced cognitive deficits in animal models: Implications for mechanisms of improved cognitive function in schizophrenia. *Eur Neuropsychopharmacol* 2009; 19(6):440-450.
- Meador-Woodruff JH, Grandy DK, Van-Tol HH, Damask SP, Little KY, Civelli O, Watson SJ. Dopamine receptor gene expression in the human medial temporal lobe. *Neuropsychopharmacology* 1994; 10:239-248.
- Mellor J, Nicoll RA, Schmitz D. Mediation of hippocampal mossy fiber long-term potentiation by presynaptic Ih channels. *Science* 2002; 295(5552):143-147.

- Menendez dIP, Suarez F, Pozo MA. Electrophysiological and morphological diversity of neurons from the rat subicular complex in vitro. *Hippocampus* 2003; 13(6):728-744.
- Miles R, Wong RKS. Inhibitory control of local excitatory circuits in the guinea-pig hippocampus. *J Physiol (Lond)* 1987; 388:611-629.
- Mirenowicz J, Schultz W. Importance of unpredictability for reward responses in primate dopamine neurons. *J Neurophysiol* 1994; 72(2):1024-1027.
- Missale C, Nash SR, Robinson SW, Jaber M, Caron MG. Dopamine receptors: From structure to function. *Physiol Rev* 1998; 78:189-225.
- Mockett BG, Brooks WM, Tate WP, Abraham WC. Dopamine D1/D5 receptor activation fails to initiate an activity-independent late-phase LTP in rat hippocampus. *Brain Res* 2004; 1021(1):92-100.
- Mons N, Harry A, Dubourg P, Premont RT, Iyengar R, Cooper DM. Immunohistochemical localization of adenylyl cyclase in rat brain indicates a highly selective concentration at synapses. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995; 92(18):8473-8477.
- Mulkey RM, Malenka RC. Mechanisms underlying induction of homosynaptic long-term depression in area CA1 of the hippocampus. *Neuron* 1992; 9:967-975.
- Müller U, Von Cramon DY, Pollmann S. D1-versus D2-receptor modulation of visuospatial working memory in humans. *J Neurosci* 1998; 18:2720-2728.
- Muzzio IA, Kentros C, Kandel E. What is remembered? Role of attention on the encoding and retrieval of hippocampal representations. *J Physiol* 2009; 587(Pt 12):2837-2854.
- Naber PA, Witter MP, Lopes Silva FH. Networks of the hippocampal memory system of the rat. The pivotal role of the subiculum. *Ann N Y Acad Sci* 2000; 911:392-403.
- Nagerl UV, Eberhorn N, Cambridge SB, Bonhoeffer T. Bidirectional activity-dependent morphological plasticity in hippocampal neurons. *Neuron* 2004; 44(5):759-767.
- Nicholls JG, Martin AR, Wallace BG. Vom Neuron zum Gehirn - Zum Verständnis der zellulären und molekularen Funktion des Nervensystems. Stuttgart: Gustav Fischer Verlag, 1995.
- Nicholls JG, Purves D. Monosynaptic chemical and electrical connexions between sensory and motor cells in the central nervous system of the leech. *J Physiol* 1970; 209(3):647-667.
- Nicoll RA, Malenka RC. Contrasting properties of two forms of long-term potentiation in the hippocampus. *Nature* 1995; 377:115-118.
- Nicoll RA, Schmitz D. Synaptic plasticity at hippocampal mossy fibre synapses. *Nat Rev Neurosci* 2005; 6(11):863-876.
- Nikonenko I, Jourdain P, Alberi S, Toni N, Muller D. Activity-induced changes of spine morphology. *Hippocampus* 2002; 12(5):585-591.
- Nisenbaum ES, Berger TW, Grace AA. Presynaptic modulation by GABA_B receptors of glutamatergic excitation and GABAergic inhibition of neostriatal neurons. *J Neurophysiol* 1992; 67:477-481.
- O'Mara S. The subiculum: what it does, what it might do, and what neuroanatomy has yet to tell us. *J Anat* 2005; 207(3):271-282.

- O'Mara SM, Commins S, Anderson M, Gigg J. The subiculum: a review of form, physiology and function. *Prog Neurobiol* 2001; 64(2):129-155.
- Oliet SH, Malenka RC, Nicoll RA. Two distinct forms of long-term depression coexist in CA1 hippocampal pyramidal cells. *Neuron* 1997; 18(6):969-982.
- Olney JW, Newcomer JW, Farber NB. NMDA receptor hypofunction model of schizophrenia. *J Psychiatr Res* 1999; 33(6):523-533.
- Otmakhova NA, Lisman JE. D1/D5 dopamine receptor activation increases the magnitude of early long-term potentiation at CA1 hippocampal synapses. *J Neurosci* 1996; 16:7478-7486.
- Pastalkova E, Serrano P, Pinkhasova D, Wallace E, Fenton AA, Sacktor TC. Storage of spatial information by the maintenance mechanism of LTP. *Science* 2006; 313(5790):1141-1144.
- Pike FG, Meredith RM, Olding AW, Paulsen O. Rapid report: postsynaptic bursting is essential for 'Hebbian' induction of associative long-term potentiation at excitatory synapses in rat hippocampus. *J Physiol* 1999; 518 (Pt 2):571-576.
- Pittenger C, Kandel ER. In search of general mechanisms for long-lasting plasticity: Aplysia and the hippocampus. *Philos Trans R Soc Lond [Biol]* 2003; 358(1432):757-763.
- Poo MM. Neurotrophins as synaptic modulators. *Nat Rev Neurosci* 2001; 2(1):24-32.
- Price CJ, Kim P, Raymond LA. D1 dopamine receptor-induced cyclic AMP-dependent protein kinase phosphorylation and potentiation of striatal glutamate receptors. *J Neurochem* 1999; 73(6):2441-2446.
- Price DL, Sisodia SS, Borchelt DR. Genetic neurodegenerative diseases: the human illness and transgenic models. *Science* 1998; 282(5391):1079-1083.
- Quinlan EM, Philpot BD, Haganir RL, Bear MF. Rapid, experience-dependent expression of synaptic NMDA receptors in visual cortex *in vivo*. *Nature Neurosci* 1999; 2:352-357.
- Raman IM, Tong G, Jahr CE. b-adrenergic regulation of synaptic NMDA receptors by cAMP-dependent protein kinase. *Neuron* 1996; 16:415-421.
- Regehr WG, Tank DW. Selective fura-2 loading of presynaptic terminals and nerve cell processes by local perfusion in mammalian brain slice. *J Neurosci Methods* 1991; 37:111-119.
- Reinagel P, Godwin D, Sherman SM, Koch C. Encoding of visual information by LGN bursts. *J Neurophysiol* 1999; 81(5):2558-2569.
- Richards CD. The preparation of brain tissue slices for electrophysiological studies. In: *Electrophysiology of isolated mammalian CNS preparations*. (Kerkut GA, Wheal HV eds). Academic Press London 1981:107-132. London.
- Riout-Pedotti MS, Friedman D, Donoghue JP. Learning-induced LTP in neocortex. *Science* 2000; 290(5491):533-536.
- Roberts L, Greene JR. Post-weaning social isolation of rats leads to a diminution of LTP in the CA1 to subiculum pathway. *Brain Res* 2003; 991(1-2):271-273.

- Rotaru DC, Lewis DA, Gonzalez-Burgos G. Dopamine D1 receptor activation regulates sodium channel-dependent EPSP amplification in rat prefrontal cortex pyramidal neurons. *J Physiol* 2007; 581(Pt 3):981-1000.
- Saal D, Dong Y, Bonci A, Malenka RC. Drugs of abuse and stress trigger a common synaptic adaptation in dopamine neurons. *Neuron* 2003; 37(4):577-582.
- Salin PA, Malenka RC, Nicoll RA. Cyclic AMP mediates a presynaptic form of LTP at cerebellar parallel fiber synapses. *Neuron* 1996; 16:797-803.
- Sarnthein J, Petsche H, Rappelsberger P, Shaw GL, von Stein A. Synchronization between prefrontal and posterior association cortex during human working memory. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95(12):7092-7096.
- Scatton B, Simon H, Le Moal M, Bischoff S. Origin of dopaminergic innervation of the rat hippocampal formation. *Neurosci Lett* 1980; 18(2):125-131.
- Scharfman HE, Witter MP, Schwarcz R. The parahippocampal region. Implications for neurological and psychiatric diseases. Introduction. *Ann N Y Acad Sci* 2000; 911:ix-xiii.
- Schmitz D, Mellor J, Breustedt J, Nicoll RA. Presynaptic kainate receptors impart an associative property to hippocampal mossy fiber long-term potentiation. *Nat Neurosci* 2003; 6(10):1058-1063.
- Schmitz D, Mellor J, Nicoll RA. Presynaptic kainate receptor mediation of frequency facilitation at hippocampal mossy fiber synapses. *Science* 2001; 291(5510):1972-1976.
- Schott BH, Sellner DB, Lauer CJ et al. Activation of midbrain structures by associative novelty and the formation of explicit memory in humans. *Learn Mem* 2004; 11(4):383-387.
- Schultz W. Predictive reward signal of dopamine neurons. *J Neurophysiol* 1998; 80(1):1-27.
- Schultz W, Dickinson A. Neuronal coding of prediction errors. *Annu Rev Neurosci* 2000; 23:473-500.
- Schuman EM, Madison DV. A requirement for the intercellular messenger nitric oxide in long-term potentiation. *Science* 1991; 254:1503-1506.
- Schünke M, Schulte E, Schumacher U, Voll M, Wesker K. Prometheus. Lernasatlas der Neuroanatomie. Kopf und Neuroanatomie. Thieme Verlag 2006.:204. Stuttgart.
- Scoville WB, Milner B. Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. *Neurol Neurosurg Psychiatr* 1957; 20:11-21.
- Seamans JK, Durstewitz D, Christie BR, Stevens CF, Sejnowski TJ. Dopamine D1/D5 receptor modulation of excitatory synaptic inputs to layer V prefrontal cortex neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98(1):301-306.
- Seeman P, Tallerico T. Link between dopamine D1 and D2 receptors in rat and human striatal tissues. *Synapse* 2003; 47(4):250-254.
- Selig DK, Nicoll RA, Malenka RC. Hippocampal long-term potentiation preserves the fidelity of postsynaptic responses to presynaptic bursts. *J Neurosci* 1999; 19(4):1236-1246.
- Selig DK, Segal MR, Liao D et al. Examination of the role of cGMP in long-term potentiation in the CA1 region of the hippocampus. *Learn Mem* 1996; 3(1):42-48.

- Serulle Y, Zhang S, Ninan I et al. A GluR1-cGKII interaction regulates AMPA receptor trafficking. *Neuron* 2007; 56(4):670-688.
- Shibata H. Direct projections from the entorhinal area to the anteroventral and laterodorsal thalamic nuclei in the rat. *Neurosci Res* 1996; 26:83-87.
- Silva AJ, Kogan JH, Frankland PW, Kida S. CREB and memory. *Annu Rev Neurosci* 1998; 21:127-148.
- Sjoestrom PJ, Turrigiano GG, Nelson SB. Neocortical LTD via coincident activation of presynaptic NMDA and cannabinoid receptors. *Neuron* 2003; 39(4):641-654.
- Smith WB, Starck SR, Roberts RW, Schuman EM. Dopaminergic stimulation of local protein synthesis enhances surface expression of GluR1 and synaptic transmission in hippocampal neurons. *Neuron* 2005; 45(5):765-779.
- Snyder EM, Nong Y, Almeida CG et al. Regulation of NMDA receptor trafficking by amyloid-beta. *Nat Neurosci* 2005; 8(8):1051-1058.
- Snyder GL, Allen PB, Fienberg AA. Regulation of phosphorylation of the GluR1 AMPA receptor in the neostriatum by dopamine and psychostimulants in vivo. *J Neurosci* 2000; 20(12):4480-4488.
- Snyder GL, Fienberg AA, Huganir RL, Greengard P. A dopamine/D1 receptor/protein kinase A/dopamine- and cAMP-regulated phosphoprotein (Mr 32 kDa)/protein phosphatase-1 pathway regulates dephosphorylation of the NMDA receptor. *J Neurosci* 1998; 18(24):10297-10303.
- Snyder SH. The dopamine hypothesis of schizophrenia: focus on the dopamine receptor. *Am J Psychiatry* 1976; 133(2):197-202.
- Soderling TR, Derkach VA. Postsynaptic protein phosphorylation and LTP. *Trends Neurosci* 2000; 23(2):75-80.
- Son H, Hawkins RD, Martin K et al. Long-term potentiation is reduced in mice that are doubly mutant in endothelial and neuronal nitric oxide synthase. *Cell* 1996; 87(6):1015-1023.
- Song I, Huganir RL. Regulation of AMPA receptors during synaptic plasticity. *Trends Neurosci* 2002; 25(11):578-588.
- Song WJ, Surmeier DJ. Voltage-dependent facilitation of calcium channels in rat neostriatal neurons. *J Neurophysiol* 1996; 76(4):2290-2306.
- Sorensen KE. Projections of the entorhinal area to the striatum, nucleus accumbens, and cerebral cortex in the guinea pig. *J Comp Neurol* 1985;(238):308-322.
- Squire LR, Alvarez P. Retrograde amnesia and memory consolidation: a neurobiological perspective. *Curr Opin Neurobiol* 1995; 5(2):169-177.
- Squire LR, Stark CE, Clark RE. The medial temporal lobe. *Annu Rev Neurosci* 2004; 27:279-306.
- Squire LR, Zola-Morgan SM. The medial temporal lobe memory system. *Science* 1991; 253:1380-1386.

- Staff NP, Jung HY, Thiagarajan T, Yao M, Spruston N. Resting and active properties of pyramidal neurons in subiculum and CA1 of rat hippocampus. *J Neurophysiol* 2000; 84(5):2398-2408.
- Stanford IM, Traub RD, Jefferys JG. Limbic gamma rhythms. II. Synaptic and intrinsic mechanisms underlying spike doublets in oscillating subicular neurons. *J Neurophysiol* 1998; 80(1):162-171.
- Stevens CF. Quantal release of neurotransmitter and long-term potentiation. *Neuron* 1993; 10(Suppl.):55-63.
- Stewart M. Antidromic and orthodromic responses by subicular neurons in rat brain slices. *Brain Res* 1997; 769:71-85.
- Stewart M, Wong RK. Intrinsic properties and evoked responses of guinea pig subicular neurons in vitro. *J Neurophysiol* 1993; 70:232-245.
- Sun W, Rebec GV. Lidocaine inactivation of ventral subiculum attenuates cocaine-seeking behavior in rats. *J Neurosci* 2003; 23(32):10258-10264.
- Sunahara RK, Guan HC, O'Dowd BF et al. Cloning of the gene for a human dopamine D5 receptor with higher affinity for dopamine than D1. *Nature* 1991; 350(6319):614-619.
- Surmeier DJ, Bargas J, Hemmings HC, Jr., Nairn AC, Greengard P. Modulation of calcium currents by a D₁ dopaminergic protein kinase/phosphatase cascade in rat neostriatal neurons. *Neuron* 1995; 14:385-397.
- Surmeier DJ, Kitai ST. D1 and D2 dopamine receptor modulation of sodium and potassium currents in rat neostriatal neurons. *Prog Brain Res* 1993; 99:309-324.
- Swanson L, Köhler C, Bjorklund A. The limbic region. I: The septohippocampal system. In: Bjorklund A, Hokfelt T, Swanson L, editors. *Integrated systems of the CNS*. New York: Elsevier Science, 1987: 125-269.
- Swanson LW, Cowan WM. An autoradiographic study of the organization of the efferent connections of the hippocampal formation in the rat. *J Comp Neurol* 1977; 172:49-84.
- Swanson-Park JL, Coussens CM, Mason-Parker SE et al. A double dissociation within the hippocampus of dopamine D1/D5 receptor and beta-adrenergic receptor contributions to the persistence of long-term potentiation. *Neuroscience* 1999; 92(2):485-497.
- Taepavarapruk P, Floresco SB, Phillips AG. Hyperlocomotion and increased dopamine efflux in the rat nucleus accumbens evoked by electrical stimulation of the ventral subiculum: role of ionotropic glutamate and dopamine D1 receptors. *Psychopharmacology (Berl)* 2000; 151(2-3):242-251.
- Taepavarapruk P, Phillips AG. Neurochemical correlates of relapse to d-amphetamine self-administration by rats induced by stimulation of the ventral subiculum. *Psychopharmacology (Berl)* 2003; 168(1-2):99-108.
- Tamamaki N, Nojyo Y. Disposition of the slab-like modules formed by axon branches originating from single CA1 pyramidal neurons in the rat hippocampus. *J Comp Neurol* 1990; 291:509-519.
- Tamminga C. Glutamatergic aspects of schizophrenia. *Br J Psychiatry Suppl* 1999;(37):12-15.

- Tang J, Dani JA. Dopamine enables in vivo synaptic plasticity associated with the addictive drug nicotine. *Neuron* 2009; 63(5):673-682.
- Tang Y-P, Shimizu E, Dube GR et al. Genetic enhancement of learning and memory in mice. *Nature* 1999; 401:63-69.
- Taube JS. Electrophysiological properties of neurons in the rat subiculum in vitro. *Exp Brain Res* 1993; 96:304-318.
- Thierry AM, Gioanni Y, Degenetais E, Glowinski J. Hippocampo-prefrontal cortex pathway: anatomical and electrophysiological characteristics. *Hippocampus* 2000; 10(4):411-419.
- Thompson AM, Swant J, Gosnell BA, Wagner JJ. Modulation of long-term potentiation in the rat hippocampus following cocaine self-administration. *Neuroscience* 2004; 127(1):177-185.
- Tran AH, Uwano T, Kimura T et al. Dopamine D1 receptor modulates hippocampal representation plasticity to spatial novelty. *J Neurosci* 2008; 28(50):13390-13400.
- Turrigiano GG, Leslie KR, Desai NS, Rutherford LC, Nelson SB. Activity-dependent scaling of quantal amplitude in neocortical neurons. *Nature* 1998; 391:892-896.
- Ungless MA, Whistler JL, Malenka RC, Bonci A. Single cocaine exposure in vivo induces long-term potentiation in dopamine neurons. *Nature* 2001; 411(6837):583-587.
- Vallone D, Picetti R, Borrelli E. Structure and function of dopamine receptors. *Neurosci Biobehav Rev* 2000; 24(1):125-132.
- van Rossum JM. The effect of psychostimulants on the central and autonomic nervous system. *Schweiz Z Sportmed* 1967; 15(1):26-40.
- van Welie I, Remme MW, van Hooft JA, Wadman WJ. Different levels of Ih determine distinct temporal integration in bursting and regular-spiking neurons in rat subiculum. *J Physiol* 2006; 576(Pt 1):203-214.
- Villacres EC, Wong ST, Chavkin C, Storm DR. Type I adenylyl cyclase mutant mice have impaired mossy fiber long-term potentiation. *J Neurosci* 1998; 18(9):3186-3194.
- Vorel SR, Liu X, Hayes RJ, Spector JA, Gardner EL. Relapse to cocaine-seeking after hippocampal theta burst stimulation. *Science* 2001; 292(5519):1175-1178.
- Voronin LL. On the quantal analysis of hippocampal long-term potentiation and related phenomena of synaptic plasticity. *Neuroscience* 1993; 56(2):275-304.
- Wang J, O'Donnell P. D(1) dopamine receptors potentiate nmda-mediated excitability increase in layer V prefrontal cortical pyramidal neurons. *Cereb Cortex* 2001; 11(5):452-462.
- Weisskopf MG, Castillo PE, Zalutsky RA, Nicoll RA. Mediation of hippocampal mossy fiber long-term potentiation by cyclic AMP. *Science* 1994; 265(5180):1878-1882.
- Wellmer J, Su H, Beck H, Yaari Y. Long-lasting modification of intrinsic discharge properties in subicular neurons following status epilepticus. *Eur J Neurosci* 2002; 16(2):259-266.
- Whitlock JR, Heynen AJ, Shuler MG, Bear MF. Learning induces long-term potentiation in the hippocampus. *Science* 2006; 313(5790):1093-1097.

- Williams GV, Castner SA. Under the curve: critical issues for elucidating D1 receptor function in working memory. *Neuroscience* 2006; 139(1):263-276.
- Williams JM, Guevremont D, Kennard JTT, Mason-Parker SE, Tate WP, Abraham WC. Long-term regulation of N-methyl-D-aspartate receptor subunits and associated synaptic proteins following hippocampal synaptic plasticity. *Neuroscience* 2003; 118(4):1003-1013.
- Witter MP, Groenewegen HJ. The subiculum: cytoarchitecturally a simple structure, but hodologically complex. *Prog Brain Res* 1990; 83:47-58.
- Witter MP, Naber PA, Van Haeften T et al. Cortico-hippocampal communication by way of parallel parahippocampal- subicular pathways. *Hippocampus* 2000; 10(4):398-410.
- Wittmann BC, Schott BH, Guderian S, Frey JU, Heinze HJ, Duzel E. Reward-related fMRI activation of dopaminergic midbrain is associated with enhanced hippocampus-dependent long-term memory formation. *Neuron* 2005; 45(3):459-467.
- Wolf ME, Mangiavacchi S, Sun X. Mechanisms by which dopamine receptors may influence synaptic plasticity. *Ann N Y Acad Sci* 2003; 1003:241-249.
- Wong DF, Pearlson GD, Tune LE et al. Quantification of neuroreceptors in the living human brain: IV. Effect of aging and elevations of D2-like receptors in schizophrenia and bipolar illness. *J Cereb Blood Flow Metab* 1997; 17(3):331-342.
- Wong ST, Athos J, Figueroa XA et al. Calcium-stimulated adenylyl cyclase activity is critical for hippocampus-dependent long-term memory and late phase LTP. *Neuron* 1999; 23(4):787-798.
- Wood DA, Rebec GV. Dissociation of core and shell single-unit activity in the nucleus accumbens in free-choice novelty. *Behav Brain Res* 2004; 152(1):59-66.
- Wozny C, Maier N, Fidzinski P, Breustedt J, Behr J, Schmitz D. Differential cAMP signaling at hippocampal output synapses. *J Neurosci* 2008a; 28(53):14358-14362.
- Wozny C, Maier N, Schmitz D, Behr J. Two different forms of long-term potentiation at CA1-subiculum synapses. *J Physiol* 2008b; 586(Pt 11):2725-2734.
- Wu ZL, Thomas SA, Villacres EC et al. Altered behavior and long-term potentiation in type I adenylyl cyclase mutant mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995; 92(1):220-224.
- Xia ZG, Refsdal CD, Merchant KM, Dorsa DM, Storm DR. Distribution of mRNA for the calmodulin-sensitive adenylate cyclase in rat brain: expression in areas associated with learning and memory. *Neuron* 1991; 6(3):431-443.
- Yaari Y, Beck H. "Epileptic neurons" in temporal lobe epilepsy. *Brain Pathol* 2002; 12(2):234-239.
- Yan Z, Hsieh-Wilson L, Feng J et al. Protein phosphatase 1 modulation of neostriatal AMPA channels: regulation by DARPP-32 and spinophilin. *Nat Neurosci* 1999; 2(1):13-17.
- Yang CR, Seamans JK. Dopamine D1 receptor actions in layers V-VI rat prefrontal cortex neurons in vitro: modulation of dendritic-somatic signal integration. *J Neurosci* 1996; 16(5):1922-1935.

- Yang SN. Sustained enhancement of AMPA receptor- and NMDA receptor-mediated currents induced by dopamine D1/D5 receptor activation in the hippocampus: an essential role of postsynaptic Ca²⁺. *Hippocampus* 2000; 10(1):57-63.
- Yang SN, Tang YG, Zucker RS. Selective induction of LTP and LTD by postsynaptic [Ca²⁺]_i elevation. *J Neurophysiol* 1999; 81(2):781-787.
- Yasuda H, Barth AL, Stellwagen D, Malenka RC. A developmental switch in the signaling cascades for LTP induction. *Nat Neurosci* 2003; 6(1):15-16.
- Yuste R, Bonhoeffer T. Morphological changes in dendritic spines associated with long-term synaptic plasticity. *Annu Rev Neurosci* 2001; 24:1071-1089.
- Zakharenko SS, Patterson SL, Dragatsis I et al. Presynaptic BDNF required for a presynaptic but not postsynaptic component of LTP at hippocampal CA1-CA3 synapses. *Neuron* 2003; 39(6):975-990.
- Zalutsky RA, Nicoll RA. Comparison of two forms of long-term potentiation in single hippocampal neurons. *Science* 1990; 248:1619-1624.
- Zeineh MM, Engel SA, Thompson PM, Bookheimer SY. Dynamics of the hippocampus during encoding and retrieval of face-name pairs. *Science* 2003; 299(5606):577-580.
- Zhang W, Linden DJ. The other side of the engram: experience-driven changes in neuronal intrinsic excitability. *Nat Rev Neurosci* 2003; 4(11):885-900.
- Zucker RS, Regehr WG. Short-term synaptic plasticity. *Annu Rev Physiol* 2002; 64:355-405.

8 Anhang

8.1 Eidesstattliche Erklärung

Ich, Elisabeth Roggenhofer, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema „Dopaminerge Modulation synaptischer Plastizität im Subikulum“ selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die unzulässige Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.

08. Dezember 2009

8.2 Danksagung

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Herrn PD Dr. Joachim Behr für Überlassung des Themas und inhaltliche Einarbeitung. Erst hervorragende und freundschaftliche Betreuung sowie viele hilfreiche Hinweise haben die Fertigstellung der vorliegenden Arbeit ermöglicht.

Der gesamten Arbeitsgruppe möchte ich für kollegiale Atmosphäre und kompetente Unterstützung danken. Für die methodische Einarbeitung, vom Erlernen der Präparation bis zur Ableittechnik mit scharfer Mikroelektrode, bin ich Dr. Andreas Knopp dankbar. Dr. Pawel Fidzinski möchte ich für seine fortwährende Gesprächsbereitschaft und intensive Unterstützung, das Beibringen und die vielen hilfreichen Impulse insbesondere im Hinblick auf die Patch-Clamp Technik danken.

Für viele anregende, fruchtbare Diskussionen und gemeinsame Stunden danke ich herzlich Oded Shor, Dr. Nadine Buck, Michael Friedel und Dr. Christoph Behrens, für die Unterstützung in der alltäglichen Arbeit Olaf Maaßen. Herrn Prof. Dr. Uwe Heinemann danke ich ebenfalls für sein Interesse am Gelingen dieser Arbeit. Besonderer Dank gilt Dr. Oliver Schmetzer, dessen inhaltliche und formale Hinweise beim Korrekturlesen zum Entstehen dieser Arbeit beigetragen haben. Nicht zuletzt bedanke ich mich bei meiner Familie, meinen Eltern, für Ihre stete Unterstützung.

8.3 Lebenslauf

Ein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version der Arbeit nicht veröffentlicht.