

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

DISSERTATION

**Elektrophysiologische Veränderungen des Netzwerkverhaltens im
MK-801 Tiermodell**

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor rerum medicarum (Dr. rer. medic.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Colin Arndt Kehrer
geb. in Hattingen

Gutachter: 1. Priv.-Doz. Dr. T. Gloveli

2. Prof. Dr. med. J. Dreier

3. Prof. Dr. J. Meier

Datum der Promotion: 16.05.2010

Inhaltsangabe

Zusammenfassung

Anteilerklärung

Publikation 1:

Effects of phencyclidines on signal transfer from the entorhinal cortex to the hippocampus in rats

Publikation 2:

Increased inhibitory input to CA1 pyramidal cells alters hippocampal gamma frequency oscillations in the MK-801 model of acute psychosis

Publikation 3:

Met carriers of BDNF Val66Met genotype show increased N-acetylaspartate concentration in the anterior cingulate cortex

Publikation 4:

Altered Excitatory-Inhibitory Balance in the NMDA-Hypofunction Model of Schizophrenia

Lebenslauf

Komplette Publikationsliste

Selbstständigkeitserklärung

Danksagung

Zusammenfassung

Abstrakt

Eine Vielzahl von experimentellen und klinischen Hinweisen deutet auf pathophysiologische Veränderungen des Glutamat-Systems, insbesondere des NMDA Rezeptors, in der Schizophrenie hin. Die NMDA-Hypofunktionstheorie der Schizophrenie ist ein theoretisches und empirisches Erklärungsmodell, welches Veränderungen dieses glutamatergen Rezeptorsubtyps mit ätiologischen und entwicklungsrelevanten Aspekten der Schizophrenieforschung theoretisch verbindet und experimentell überprüfbar macht. In der vorliegenden Arbeit wurden Ratten und Mäuse systemisch mit dem NMDA-Rezeptor Antagonisten MK-801 vorbehandelt und im Zustand der so induzierten, akuten NMDA-Hypofunktion elektrophysiologisch untersucht. Kombinierte Entorhinalkortex/Hippokampus-Hirnschnittpräparate wurden entnommen und *in vitro* auf pathologische Veränderungen auf zellulärer und Netzwerkebene untersucht. Hierbei konnten eine Reihe von signifikanten und charakteristischen Veränderungen im MK-801-Pychosemodell festgestellt werden:

a) Der hochfrequente Signaltransfer (Gamma-Frequenzbereich) vom Entorhinalkortex zum Hippokampus wird im MK-801 vorbehandelten Tier geringer unterdrückt als im Kontrolltier; b) Kainat-induzierte Gamma-Oszillationen weisen eine höhere Amplitude und geringere Frequenz auf ; c) Die Ruhemembranpotentiale der Pyramidenzellen sind signifikant erhöht und d) Die Amplituden der mit Mikroelektroden abgeleiteten inhibitorischen, postsynaptischen Potentiale (IPSPs) sind signifikant vergrößert. Die Abweichungen auf zellulärer Ebene wirken sich auf die Erregungsfähigkeit verschiedener Zelltypen und somit auf das Netzwerkverhalten im MK-801 Tier insgesamt aus. Das hier beschriebene pathologische Netzwerkverhalten des Hippokampus ließ sich experimentell auf Veränderungen in der Aktivität der intrazellulären Natrium-Kalium Pumpe zurückführen. In einem weiteren, klinischen Teil wurde die Auswirkung der Val66Met Allele auf die Konzentrationen von N-acetylaspartate (NAA), Kreatin und Phosphokreatin in verschiedenen Hirnregionen gesunder Kontrollpersonen untersucht. Da diese körpereigenen Proteine in einer Vielzahl von psychiatrischen Erkrankungen in

einzelnen Hirnregionen deutlich verringert sind, ist eine positive und protektive Wirkung der erhöhten Transkription durch Val66Met anzunehmen. Tatsächlich ließ sich experimentell feststellen, dass Kontrollpersonen mit Val66Met Genom gegenüber Kontrollpersonen ohne diese genetische Ausprägung signifikant erhöhte NAA-Konzentrationen im anterioren Cingulum aufwiesen, im Hippokampus jedoch geringere Konzentrationen von Kreatin und Phosphokreatin auftraten.

Einleitung

Der Hippokampus ist die anatomisch am einfachsten aufgebaute kortikale Hirnstruktur, da sie aus nur 4 Schichten besteht und in einer davon, dem Stratum pyramidale, sämtliche Zellkörper der dort vorhandenen Pyramidenzellen dicht beieinander angeordnet sind. Der Hippokampus erhält die meisten seiner Inputs vom angrenzenden Entorhinalen Kortex (EK) über den Tractus perforans, der von den oberen Schichten des EK zu den Granularzellen des Gyrus Dentatus führt. Neben diesem Eingang existiert überdies noch eine direkte Verbindung vom EK zur CA1 Region des Hippokampus über den Temporo-ammonischen Trakt. Der Hippokampus spielt eine integrale Rolle bei Prozessen der räumlichen Orientierung (Bures et al., 1997; Jefferey et al., 2004) und bei der Formation neuer episodischer Erinnerungen (Rolls, 1996; Desgranges et al., 1998; Smith and Mizumori, 2006). Die zellulären Netzwerke des Hippokampus zeigen verhaltensabhängige EEG-Muster, Oszillationen genannt, die von der synchronen und rhythmischen Aktivität von Nervenzellen gekennzeichnet sind (Leung, 1998). Einige Autoren gehen davon aus, dass durch die synchrone Aktivierung während Gamma Oszillationen (30-80 Hz), getrennt voneinander repräsentierte sensorische Aspekte zu einem kognitiven Ganzen gefügt werden (Gray and Singer, 1988; Roelfsema et al., 1994; Singer and Gray, 1995). Überdies werden Gamma Oszillationen mit der Berechnung und Weiterleitung sensorischer Informationen, der Abstimmung komplexer Bewegungsabläufe und der Bildung assoziativer Lernprozesse in Verbindung gebracht (Murthy and Fetz, 1996; Miltner et al., 1999). Es existieren eine Reihe experimenteller Hinweise darauf, dass Gamma Oszillationen in schizophrenen Patienten pathologisch verändert sind und es in verschiedenen Hirnregionen zu verringerter oder erhöhter synchroner

Gammaaktivität, ebenso wie einem Verlust der zeitlichen Präzision der synchronen Feuermuster führt (Lee, 2003). Aufgrund der anzunehmenden Bedeutung der hippocampalen Gamma-Aktivität für den Ablauf komplexer kognitiver Prozesse hilft die Erforschung pathophysiologischer Veränderungen des hippocampalen Gamma-Rhythmus im Tiermodell dabei, die Verbindung zwischen Pathophysiologie auf zellulärer und Netzwerkebene und dem Auftreten charakteristischer kognitiver Defizite in Schizophrenie zu verstehen.

Die physiologische Auslösung und Aufrechterhaltung von Gamma Oszillationen im Hippokampus beruht auf einem Wechselspiel zwischen Hemmung und Aktivierung im Netzwerk (Mann et al., 2005). Die Funktionalität dieses Prozesses ist abhängig von der Integrität glutamaterger und GABAerger Zellsysteme im Hippokampus. In der Schizophrenie sind diese geschädigt (Harrison, 2004; Heckers, 2004). Die NMDA-Hypofunktionstheorie der Schizophrenie bietet hier einen theoretischen und empirischen Ansatz um die charakteristischen Symptome und den Krankheitsverlauf auf der Systemebene zu beschreiben (Olney und Faber, 1995). Durch die systemische Applikation von NMDA-Antagonisten wie Ketamin und MK-801 kann experimentell der Status der NMDA-Hypofunktion im Tierversuch induziert werden (Abi-Saab et al., 1998; Buck et al., 2006; Mouri et al., 2007; Kehrer et al., 2008). In der vorliegenden Arbeit wurden Mäuse mit MK-801 vorbehandelt und Hirnschnitte auf physiologische Veränderungen des Netzwerkverhaltens getestet. In einem weiteren Schritt untersuchten wir die Verbindung zwischen dem Val66Met Genotyp und der Konzentration von N-acetylaspartat (NAA), Kreatin und Phosphokreatin in Kontrollpersonen. In dieser klinischen Studie untersuchten wir, ob eine variable Abhängigkeit der Metabolitkonzentration in verschiedenen Hirnregionen des Val66Met Genotyp vorhanden ist. Die Beantwortung dieser Frage kann erste Hinweise auf eine mögliche protektive Wirkung der Proteinexpression dieses Genotyps auf die Genese der Schizophrenie und somit wichtige Schritte in Richtung neuer Behandlungsansätze und Prävention liefern.

Zielsetzung

Konkrete Fragen, die wir in dieser experimentellen Arbeit zu beantworten suchten, waren:

- 1.) Kommt es zu Veränderungen der hochfrequenten Signaltransduktion, vor allem im Gamma-Frequenzbereich, zwischen dem entorhinalen Kortex und Hippokampus im MK-801 Tier?
- 2.) Treten im MK-801 Modell Veränderungen der Kainat-induzierten Gamma Oszillation auf?
- 3.) Welche zellulären Veränderungen begleiten Abweichungen im Netzwerkverhalten?

Mit dieser Vorgehensweise können am Psychose-Modell elektrophysiologische Veränderungen auf der zellulären Ebene und die daraus resultierenden Veränderungen des Netzwerkverhaltens untersucht werden und somit die Konsequenzen der NMDA-Hypofunktion auf verschiedenen System-Ebenen *in vitro* nachvollzogen werden. Die daraus gewonnenen Erkenntnisse geben Hinweise auf mögliche Zusammenhänge zwischen Veränderungen des elektrophysiologischen, hippocampalen Netzwerkverhaltens und der psychotischen Positivsymptomatik der Schizophrenie (Ban et al., 1984).

In einem weiteren Schritt untersuchen wir die Auswirkung der Val66Met Allele auf die Konzentration dreier Proteinfaktoren in verschiedenen Hirnregionen. Eine protektive Wirkung dieser Proteinfaktoren auf die Genese von Schizophrenie und anderen psychiatrischen Störungsbildern wird angenommen, darum stellt dieser klinische Teil der Arbeit einen ersten Schritt in Richtung der Prävention der Schizophrenie und anderer psychiatrischer Erkrankungen dar.

Methoden

In diesem Abschnitt erfolgt ein übersichtlicher Abriss der eingesetzten Methoden, ohne dabei spezifische Informationen, wie beispielsweise konkrete Mengenangaben, zu berücksichtigen. Diese werden in den relevanten Publikationen detailliert beschrieben und können daraus nachvollzogen werden.

Ratten (Wistar) oder Mäusen (C57/Bl6) wurde MK-801 oder in selteneren Fällen Ketamin in die Bauchdecke injiziert. Dies resultiert in einem Psychosenahen Modellzustand mit charakteristischem Verhaltensmuster und einem NMDA-Hypofunktionsstatus. 4 Stunden nach der Injektion wurden die Tiere dekapitiert

und kombinierte Entorhinalkortex/Hippokampus-Hirnschnittpräparate entnommen. Diese wurden in einer Infusionskammer mit Nährlösung gelagert.

Der Signaltransfer wurde mithilfe von Reizmustern untersucht, indem spezifische Stimulationsprogramme in variablen Frequenzen Aktionspotentiale in den stimulierten Zellen auslösten und deren Weiterleitung mit Ableitungselektroden aufgezeichnet wurde. Die Stimulationselektroden bestanden aus zwei parallel in Glaselektroden laufenden Platindrähten, deren Spitzen außerhalb des zweikammerigen Glases auf der Höhe verschiedener Strata in den Hirnschnitt eingeführt werden konnten.

Gamma Oszillationen wurden mithilfe des glutamatergen Rezeptor-Agonisten Kainat, welcher über die Nährlösung direkt in die Kammer appliziert wurde, ausgelöst (Gloveli, 2005 a, b). Die Netzwerkoszillationen wurden mithilfe von Ableitelektroden im CA1 Stratum Radiatum aufgenommen, der Power und die Frequenz der Oszillation digital errechnet und schließlich statistisch mit den Kainat-induzierten Gammaoszillationen in Kontrolltieren verglichen. Die intrazellulären Ableitungen wurden mit scharfen Mikroelektroden durchgeführt. In manchen Fällen wurde der Natrium-Kanal Blocker QX-314 intrazellulär appliziert, um Aktionspotentiale zu blockieren. Dies geschah in jenen Experimenten, in denen die Substanz Ouabaine in die Lösung eingebracht wurde, die das Ruhemembranpotential der Zellen über den Schwellwert anhebt. So wurde dem Verlust der aufgenommenen Zellen vorgebeugt. In allen Fällen wurde das Ruhemembranpotential der Zellen ermittelt, indem das verbleibende Potential an der Spitze der Mikroelektrode nach Verlassen des Zellinnenraumes vom Potential während der intrazellulären Ableitung subtrahiert wurde. Eine Vielzahl intrazellulärer Parameter wurde ermittelt, die dabei eingesetzte Vorgehensweise ist in der Publikation näher beschrieben.

Am klinischen Teil der vorliegenden Arbeit nahmen 82 menschliche Probanden teil, deren physische und psychische Gesundheit mithilfe standardisierter Tests festgestellt wurde und die nach einer genauen Erklärung der Studie schriftlich ihr Einverständnis erteilten. Die Messung der neurometabolischen Signale erfolgte mittels Kernspintomografie in einem 3-Tesla Scanner mit einer zirkularpolarisierten Kopfspule. Die Quantifikation der N-Acetyl-Aspartate-(NAA), Kreatin- und Phosphokreatin-Konzentrationen im Hippokampus und dem anterioren Cingulum erfolgte mithilfe einer Methode die bei Schubert et al. (2004)

ausführlich beschrieben ist. Zur Genanalyse wurde DNS aus venösen, antikoagulierten Blutproben mithilfe von Salzen extrahiert (Miller et al., 1988). Die Genotypisierung erfolgte mit einem Taqman Exonuclease Assay (Gallinat et al., 2003). Die Auswirkung des Genotyps auf die Konzentration der Metaboliten wurde statistisch mit einer multiplen Varianzanalyse (MANOVA) ermittelt.

Ergebnisse

Die konkreten Ergebnisse der vorliegenden Arbeiten beziehen sich einerseits auf elektrophysiologische Veränderungen im entorhinalen Kortex und Hippokampus MK-801 vorbehandelter Tiere, andererseits im klinischen Teil, auf den Zusammenhang zwischen der genetischen Val66Met Sequenz und der Konzentration protektiver Proteinfaktoren im anterioren Cingulum und im Hippokampus.

Die Ergebnisse der einfließenden Arbeiten können wie folgt zusammengefasst werden:

1) Die Feldableitungen nach Einzelstimulation des Tractus perforans (TP) und des lateralen Entorhinalkortex (EK) im Stratum lacunosum moleculare der CA1 Region zeigten, dass diese im MK-801 Tier gegenüber Kontrollen signifikant vergrößert waren (**MK-801 lateraler EK:** 0.43 ± 0.02 mV, n=19; **TP:** 0.85 ± 0.1 mV, n=9; **Kontrolle lateraler EK:** 0.27 ± 0.04 mV, n=30; **TP:** 0.49 ± 0.04 mV, n=30) [siehe Publikation 1]

2) Die Unterdrückung des hochfrequenten (40Hz, Gamma Frequenzbereich), aber nicht niederfrequenten (3Hz, Theta Frequenzbereich) Signaltransfers vom EK zum Hippokampus war im MK-801 Tier signifikant verringert, so dass das 20ste Feldpotential, das im Zuge eines tetanischen, hochfrequenten Stimulationsprotokolls ausgelöst wurde, im MK-801 Tier signifikant größer war als die Amplitude dieses Feldpotentials im Kontrolltier (**MK-801 Amplitude infolge 20ster Stimulation:** 0.70 ± 0.10 mV (n = 23) **Kontrolle Amplitude infolge 20ster Stimulation:** 0.37 ± 0.04 (n = 28) [siehe Publikation 1]

3) Die durch Kainat-Applikation induzierten Gamma Oszillationen hatten in den Schnitten des MK-801-vorbehandelten Tier einen signifikant höheren Power und

eine signifikant geringere Frequenz als Kainat-induzierte Gamma Oszillationen in Hirnschnittpräparaten von Kontrolltieren (**MK-801** *Power*: $0.71 \pm 0.1 \text{ mV s}^{-1}$, $n=38$; *Frequenz*: $32.1 \pm 0.8 \text{ Hz}$, $n=31$; **Kontrolle** *Power*: $0.36 \pm 0.1 \text{ mV s}^{-1}$, $n=26$, $p<0.001$; *Frequenz*: $35.6 \pm 0.6 \text{ Hz}$, $n=26$, $p<0.05$). Dieselben Veränderungen ließen sich auch mit dem weniger potenten NMDA-Blocker Ketamin nachweisen. [siehe Publikation 2]

4) Mithilfe intrazellulärer Ableitungen wurden eine Reihe zellulärer Eigenschaften im MK-801 Tier ermittelt und mit den Eigenschaften der Pyramidenzellen in Kontrolltieren verglichen. Diese waren weitestgehend vergleichbar, lediglich das Ruhemembranpotential der CA1 Pyramidenzellen im MK-801 vorbehandelten Tier war signifikant verringert, die Zellen also näher am Schwellenpotential (**MK-801** *Ruhemembranpotential*: $-59.14 \pm 1.9 \text{ mV}$ $n=21$; **Kontrolle** *Ruhemembranpotential*: $-66.56 \pm 1.7 \text{ mV}$ $n=22$, $p= 0.0067$). Diese erhöhte Erregbarkeit drückte sich auch in einer erhöhten Anzahl von Aktionspotentialen in Folge schrittweiser, depolarisierender Strominjektion aus (bei $>600\text{pA}$ Stromzufuhr **MK-801** *Aktionspotentiale*: 13.5 ± 1.0 , $n=8$; **Kontrolle** *Aktionspotentiale*: 8.18 ± 1.6 , $n=11$). [siehe Publikation 2]

5) Die inhibitorischen postsynaptischen Potentialantworten (IPSPs), die nach monosynaptischer Stimulation in Pyramidenzellen bei gleichzeitiger Blockade der glutamatergen Transmission abgeleitet wurden, sind im MK-801 Tier im Vergleich zu Kontrollen signifikant höher in ihrer Amplitude und zeigten überdies Veränderungen in ihrer Kinetik (**MK-801** *Signalanstiegszeit*: $4.9 \pm 0.4 \text{ ms}$; **Kontrolle** *Signalanstiegszeit*: $3.25 \pm 0.2 \text{ ms}$; **MK-801** *Signalabfallszeit*: $23.1 \pm 1.9 \text{ ms}$; **Kontrolle** *Signalabfallszeit*: $18.1 \pm 1.3 \text{ ms}$) [siehe Publikation 2]

6) Die durch die Blockade der $\text{Na}^+\text{-K}^+$ -Pumpe ausgelöste Depolarisation war signifikant geringer in den Pyramidenzellen von MK-801 Tieren als in den Pyramidenzellen von Kontrolltieren (**MK-801** *Depolarisation*: $0.57 \pm 1.7 \text{ mV}$, $n=7$; **Kontrolle** *Depolarisation*: $4.62 \pm 0.58 \text{ mV}$, $n=9$). Ein interessanter Nebenbefund war die Tatsache, dass die Ausbildung pathologischer, epileptiformer Entladungsmuster in den Kontrollzellen weitaus häufiger verzeichnet wurde (5/9) als in MK-801 Zellen (0/7). [siehe Publikation 2]

7) In der klinischen Studie zeigte sich, dass Träger des Val66Met Genotypus im Vergleich zu Trägern der Val/Val Allele signifikant höhere NAA-Konzentrationen im anterioren Cingulum ($F=5.216$, $df=1$, $p=0.025$) und

verringerte Creatin Werte im Hippokampus ($F=4.913$, $df=1$, $p=0.030$) aufwiesen. [siehe Publikation 3]

Diskussion

In den vorliegenden Arbeiten konnten wir eine Reihe elektrophysiologischer Veränderungen im Signaltransfer und Netzwerkverhalten des Hippokampus im MK-801 vorbehandelten Tier nachweisen. Weitere entscheidende Veränderungen fanden wir auch in den zellulären Eigenschaften der Pyramidenzellen der CA1 Region, nämlich eine erhöhte Erregbarkeit der Pyramidenzellen. Diese schlägt sich im erhöhten Ruhemembranpotential und im veränderten Feuermustern der einzelnen Pyramidenzelle nieder. Inwieweit diese zellulären Veränderungen als einzige Faktoren für die Veränderungen im Netzwerkverhalten, vor allem der vergrößerten Amplitude und verlangsamten Frequenz der Kainat-induzierten Gamma-Oszillationen verantwortlich sind, können jedoch erst weitere Studien zweifelsfrei klären. Die vorliegende Arbeit stellt jedoch einen ersten Schritt im Verständnis der elektrophysiologischen Funktionsveränderungen infolge des NMDA-Hypofunktionsstatus dar.

Eine Reihe von zellulären Veränderungen kann zu einer Erhöhung des Ruhemembranpotentials führen. Die Tatsache, dass die Pyramidenzellen in beiden Gruppen die gleichen Eingangswiderstände und dasselbe charakteristische Hyperdepolarisationsverhalten aufwiesen, spricht gegen einen Einfluss des non-spezifischen, durch Hyperpolarisation aktivierten Stromes I_h (Maccaferri and McBain, 1996). Wie gezeigt wurde, führen Veränderungen der Neurotransmitterkonzentrationen in der Schizophrenie zu einer erhöhten intrazellulären Produktion des Na^+K^+ -Pumpen Blockers Digoxin (Kurup und Kurup, 2003), was diesen Mechanismus nahe legt. Wir konnten die Annäherung an das Schwellenpotential im MK-801-Modell tatsächlich auf Veränderungen in der Aktivität der Na^+K^+ -Pumpe zurückführen. Dies zeigte sich darin, dass MK-801 Zellen mit signifikant geringeren Depolarisationen auf den Na^+K^+ -Blocker Ouabaine reagierten als Kontrollzellen.

Auch die Inhibition ist im Psychosemodell maßgeblich verändert. In Bezug auf den Signaltransfer findet eine frequenzabhängige Reduktion der Signalunterdrückung vom entorhinalen Kortex zum Hippokampus statt. Auch

dieser Befund deutet auf eine erhöhte Erregbarkeit des Hippokampus hin, die sich in der Aktivierung durch kortikale Inputs über den temporo-ammonischen Trakt niederschlägt.

Überdies zeigen unsere Ergebnisse, dass die monosynaptischen, inhibitorischen Potentiale, gemessen in den abgeleiteten Pyramidenzellen, im MK-801 Tier erhöht sind. Dieser Effekt beruht teilweise auf dem verringerten Ruhemembranpotential der Pyramidenzellen, auf das ein gegebener, inhibitorischer Strom stärker einwirkt. Doch auch der Vergleich der inhibitorischen Signale am gleichen Membranpotential zeigte eine statistisch signifikante Vergrößerung der monosynaptischen, GABAergen Transmission. Die erhöhte Erregbarkeit der Pyramidenzellen wirkt sich mit hoher Wahrscheinlichkeit auch auf eine erhöhte Erregbarkeit der Interneurone im MK-801 Modell aus. Dies hat verschiedene Gründe: Einerseits führt das verringerte Ruhemembranpotential zu einer Verstärkung der vorwärtsgerichteten, erregenden Signaltransmission, die sich wiederum auf spezifische Interneuronpopulationen mit vielen glutamatergen Eingängen, wie beispielsweise die Gruppe der axo-axonischen Interneurone, besonders stark auswirken könnte (Galarreta und Hestrin, 1999). Kainatrezeptoren sind überdies auf den Zellkörpern von Interneuronen besonders zahlreich vorhanden (Semyanov und Kullman, 2001; Lerma, 2003) und somit führt das hier verwendete Gamma-Induktionsprotokoll zu deren weiteren Depolarisation. Überdies kommt hinzu, dass die vorwiegend inhibitorischen Signaleingänge auf den Apikaldendriten der CA1 Zellen (Empson und Heinemann, 1995) im Gamma-Frequenzbereich im MK-801 Tier weniger stark unterdrückt werden als in Kontrollen (Dugladze et al., 2004). Somit ergibt sich in unserem Modell neben der erhöhten Erregbarkeit der Pyramidenzellen auch eine Potenzierung der inhibitorischen Aktivität des Netzwerks. Ob das veränderte Profil der Gamma-Oszillationen auf diese Veränderungen der inhibitorischen Transmission zurückzuführen ist, wie theoretische und empirische Studien nahe legen, muss experimentell in zukünftigen Studien jedoch weiter abgeklärt werden (Whittington et al., 2000; Nusser et al., 2001). Der vergrößerte Power der Gamma-Oszillation, den wir im Psychosemodell nachweisen konnten, steht in Übereinstimmung mit Beobachtungen, dass MK-801 zu spontan auftretenden, vergrößerten Gamma-Oszillationen im lebenden Tier führt (Ma und Leung, 2000).

In der klinischen Studie zeigte sich eine vom Val66Met Genotyp abhängige Erhöhung der Proteinprodukte NAA, Kreatin und Phosphokreatin im anterioren Cingulum. NAA und die mit ihnen assoziierten ZNS-spezifischen, neurotrophischen Proteinfaktoren (BDNFs) sind in Hirnregionen wie dem anterioren Cingulum und dem Hippokampus in der Schizophrenie signifikant verringert (Molina et al., 2007; Zabala et al., 2007; Aydin, 2008). Somit existiert eine negative Korrelation zwischen der NAA- und BDNF-Konzentration und psychiatrischen Krankheitsbildern wie der der Schizophrenie. Die höheren Konzentrationen dieser Proteine bei Kontrollpersonen mit diesem Genotyp legt einen Wirkmechanismus auf genetischer Ebene nahe, der sich protektiv auf die Entstehung der Schizophrenie und anderer psychiatrischer Krankheitsbilder auswirken könnte und somit einen Schritt in Richtung neuer medizinischer Behandlungsformen und Schizophrenie-Prävention darstellt.

Literaturliste

Abi-Saab W.M., D'Souza D.C., Moghaddam B., Krystal J.H. (1998). The NMDA antagonist model for schizophrenia: promise and pitfalls. *Pharmacopsychol*, 2, 104-109.

Aydin K., Uçok A., Guler J. (2008). Altered Metabolic Integrity of Corpus Callosum Among Individuals at Ultra High Risk of Schizophrenia and First-Episode Patients. *Biol Psychiatry*, 64, 750-757.

Ban T.A., Guy W., Wilson W.H. (1984). Description and distribution of the subtypes of chronic schizophrenia based on Leonhard's classification. *Psychiatr Dev*, 2, 179-199.

Buck N., Cali S., Behr J. (2006). Enhancement of long-term potentiation at CA1-subiculum synapses in MK-801-treated rats. *Neurosci Lett*, 392(1-2), 5-9.

Bures J., Fenton A.A., Kaminsky Y., Zinyuk, L. (1997). Place cells and place navigation. *Proc Natl Acad Sci U S A.*, 94, 343-350.

Desgranges B., Baron J.C., Eustache F. (1998). The functional neuroanatomy of episodic memory: the role of the frontal lobes, the hippocampal formation, and other areas. *Neuroimage*, 8, 198-213.

Dugladze T., Lepsveridze E., Breustedt J., Kehrer C., Heinemann U., Gloveli T. (2004). Effects of phencyclidines on signal transfer from the entorhinal cortex to the hippocampus in rats. *Neurosci Lett*, 354, 185-188.

Empson R.M., Heinemann U. (1995). The perforant path projection to hippocampal area CA1 in the rat hippocampal-entorhinal cortex combined slice. *J Physiol*, 484, 707-720.

Galarreta M., Hestrin S. (1999). A network of fast-spiking cells in the neocortex connected by electrical synapses. *Nature*, 402, 72-75.

Gallinat J., Bajbouj M., Sander T., Schlattmann P., Xu K., Ferro E.F. (2003). Association of the G1947A COMT (Val(108/158)Met) gene polymorphism with prefrontal P300 during information processing. *Biol Psychiatry*, 54, 40-48.

Gloveli T., Dugladze T., Rotstein H.G., Traub R.D., Monyer H., Heinemann U., Whittington M.A., Kopell N.J. (2005a). Orthogonal arrangement of rhythm-generating microcircuits in the hippocampus. *Proc Natl Acad Sci U S A.*, 102, 13295-13300.

Gloveli T., Dugladze T., Saha S., Monyer H., Heinemann U., Traub R.D., Whittington M.A., Buhl E.H. (2005b). Differential involvement of oriens/pyramidal interneurons in hippocampal network oscillations in vitro. *J Physiol*, 562, 131-147.

Gray C.M., Singer W. (1989). Stimulus-specific neuronal oscillations in orientation columns of cat visual cortex. *Proc Natl Acad Sci U S A.*, 86, 1698-1702.

Harrison P.J. (2004). The hippocampus in schizophrenia: a review of the neuropathological evidence and its pathophysiological implications. *Psychopharmacol*, 174, 151-162.

Heckers S. (2004). The hippocampus in schizophrenia. *Am J Psychiatry*, 161, 2138-2139.

Jeffery K.J., Anderson M.I., Hayman R., Chakraborty S. (2004). A proposed architecture for the neural representation of spatial context. *Neurosci Biobehav Rev*, 28, 201-218.

Kehrer C., Maziashvili N., Dugladze T., Gloveli T. (2008). Altered Excitatory-Inhibitory Balance in the NMDA-Hypofunction Model of Schizophrenia. *Front Mol Neurosci*, 1:6. Epub 2008 Apr 8.

Kurup R.K., Kurup P.A. (2003). Schizoid neurochemical pathology-induced membrane Na(+)-K+ ATPase inhibition in relation to neurological disorders. *Int J Neurosci.*, 13, 705-17.

Lee K.H., Williams L.M., Breakspear M., Gordon E. (2003). Synchronous gamma activity: a review and contribution to an integrative neuroscience model of schizophrenia. *Brain Res Brain Res Rev*, 41, 57-78.

Lerma J. (2003). Roles and rules of kainate receptors in synaptic transmission. *Nat Rev Neurosci.*, 4, 481-95.

Leung L.S. (1998). Generation of theta and gamma rhythms in the hippocampus. *Neurosci Biobehav Rev*, 22, 275-290.

Ma J., Leung L.S. (2000). Relation between hippocampal gamma waves and behavioral disturbances induced by phencyclidine and methamphetamine. *Behav Brain Res*, 111, 1-11.

- Maccaferri G., McBain C.J. (1996). The hyperpolarization-activated current (I_h) and its contribution to pacemaker activity in rat CA1 hippocampal stratum oriens-alveus interneurons. *J Physiol*, 497, 119-130.
- Mann, E.O., Radcliffe, C.A., Paulsen, O. (2005). Hippocampal gamma-frequency oscillations: from interneurons to pyramidal cells, and back. *J Physiol*, 562, 55-63.
- Miller, S.A., Dykes, D.D., Plesky, H.F. (1988). A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res*, 16, 1215-1219.
- Miltner W.H., Braun C., Arnold M., Witte H., Taub E. (1999). Coherence of gamma-band EEG activity as a basis for associative learning. *Nature*, 397, 434-436.
- Molina V., Sánchez J., Sanz J., Reig S., Benito C., Leal I. (2007). Dorsolateral prefrontal N-acetyl-aspartate concentration in male patients with chronic schizophrenia and with chronic bipolar disorder. *Eur Psychiatry*, 22, 505-512.
- Mouri A., Noda Y., Enomoto T., Nabeshima T. (2007). Phencyclidine animal models of schizophrenia: Approaches from abnormality of glutamatergic neurotransmission and neurodevelopment. *Neurochem Int*, 51, 173-184.
- Murthy V.N., Fetz E.E. (1996). Synchronization of neurons during local field potential oscillations in sensorimotor cortex of awake monkeys. *J Neurophysiol*, 76, 3968-3982.
- Nusser Z., Kay L.M., Laurent G., Homanics G.E., Mody I. (2001). Disruption of GABA(A) receptors on GABAergic interneurons leads to increased oscillatory power in the olfactory bulb network. *J Neurophysiol.*, 86, 2823-2833.
- Olney J.W., Farber N.B. (1995). Glutamate receptor dysfunction and schizophrenia. *Arch Gen Psych*, 52, 998-1007.

- Roelfsema P.R., König P., Engel A.K., Sireteanu R., Singer W. (1994). Reduced synchronization in the visual cortex of cats with strabismic amblyopia. *Eur J Neurosci*, 6, 1645-1655.
- Rolls E.T. (1996). A theory of hippocampal function in memory. *Hippocampus*, 6, 601-620.
- Semyanov A., Kullman D.M. (2001). Kainate receptor-dependent axonal depolarization and action potential initiation in interneurons. *Nature Neurosci*, 4, 718-723.
- Schubert F., Gallinat J., Seifert F., Rinneberg H. (2004). Glutamate concentrations in human brain using single voxel proton magnetic resonance spectroscopy at 3 Tesla. *Neuroimage*, 21, 1762-1771.
- Singer W., Gray C.M. (1995). Visual feature integration and the temporal correlation hypothesis. *Annu Rev Neurosci*, 18, 555-586.
- Smith D.M., Mizumori S.J. (2006). Hippocampal place cells, context, and episodic memory. *Hippocampus*, 16, 716-729.
- Whittington M.A., Traub R.D., Kopell N., Ermentrout B., Buhl E.H. (2000). Inhibition-based rhythms: experimental and mathematical observations on network dynamics. *Int J Psychophysiol*, 38, 315-36.
- Zabala A., Sánchez-González, J., Parellada M., Moreno D.M., Reig S., Burdalo M.T. (2007). Findings of proton magnetic resonance spectrometry in the dorsolateral prefrontal cortex in adolescents with first episodes of psychosis. *Psychiatry Res*, 156, 33-42.

Anteiserklärung

Colin Kehrer hatte folgenden Anteil an den vorgelegten Publikationen:

Publikation 1: Dugladze T, Lepsveridze E, Breustedt J, Kehrer C, Heinemann U, Gloveli T. Effects of phencyclidines on signal transfer from the entorhinal cortex to the hippocampus in rats. *Neuroscience Letters*, 2004.

15 Prozent: Experimentelle elektrophysiologische Datenableitung, Verfassen von Textteilen.

Publikation 2: Kehrer C, Dugladze T, Maziashvili N, Wójtowicz A, Schmitz D, Heinemann U, Gloveli T. Increased inhibitory input to CA1 pyramidal cells alters hippocampal gamma frequency oscillations in the MK-801 model of acute psychosis. *Neurobiology of Disease*, 2007.

85 Prozent: Den Großteil der experimentellen Daten erzeugt, Text und Grafiken erstellt, Statistik.

Publikation 3: Gallinat J, Schubert F, Brühl R, Hellweg R, Klär AA, Kehrer C, Wirth C, Sander T, Lang UE. Met carriers of BDNF Val66Met genotype show increased N-acetylaspartate concentration in the anterior cingulate cortex. *Neuroimage*, 2009.

10 Prozent: Hilfe bei der experimentellen Durchführung, Literaturrecherche.

Publikation 4 (nicht experimentell): Kehrer C, Maziashvili N, Dugladze T, Gloveli T. Altered Excitatory-Inhibitory Balance in the NMDA-Hypofunction Model of Schizophrenia. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 2008.

85 Prozent: Theoretische Ausarbeitung und Niederschrift.

Zugrundeliegende Veröffentlichungen

Diese werden, um Veröffentlichungsrechte nicht zu verletzen lediglich als Literaturhinweise angegeben:

Publikation 1: Dugladze T, Lepsveridze E, Breustedt J, Kehrer C, Heinemann U, Gloveli T. Effects of phencyclidines on signal transfer from the entorhinal cortex to the hippocampus in rats. *Neuroscience Letters*, 2004.

Publikation 2: Kehrer C, Dugladze T, Maziashvili N, Wójtowicz A, Schmitz D, Heinemann U, Gloveli T. Increased inhibitory input to CA1 pyramidal cells alters hippocampal gamma frequency oscillations in the MK-801 model of acute psychosis. *Neurobiology of Disease*, 2007.

Publikation 3: Gallinat J, Schubert F, Brühl R, Hellweg R, Klär AA, Kehrer C, Wirth C, Sander T, Lang UE. Met carriers of BDNF Val66Met genotype show increased N-acetylaspartate concentration in the anterior cingulate cortex. *Neuroimage*, 2009.

Publikation 4: Kehrer C, Maziashvili N, Dugladze T, Gloveli T. Altered Excitatory-Inhibitory Balance in the NMDA-Hypofunction Model of Schizophrenia. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 2008.

Lebenslauf

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

Vollständige Publikationsliste

Im Folgenden sind alle wissenschaftlichen Arbeiten des Doktoranden in Form einer vollständigen Publikationsliste aufgeführt. Diese umfasst drei Originalarbeiten und ein Review Paper. Diese Arbeiten finden allesamt in die Publikationspromotion Eingang.

Originalarbeiten:

Dugladze T, Lepsveridze E, Breustedt J, Kehrer C, Heinemann U, Gloveli T. (2004). Effects of phencyclidines on signal transfer from the entorhinal cortex to the hippocampus in rats. *Neuroscience Letters*, 354, 185-188.

Kehrer C, Dugladze T, Maziashvili N, Wójtowicz A, Schmitz D, Heinemann U, Gloveli T. (2007). Increased inhibitory input to CA1 pyramidal cells alters hippocampal gamma frequency oscillations in the MK-801 model of acute psychosis. *Neurobiology of Disease*, 25, 545-552

Gallinat J, Schubert F, Brühl R, Hellweg R, Klär AA, Kehrer C, Wirth C, Sander T, Lang UE. (2009). Met carriers of BDNF Val66Met genotype show increased N-acetylaspartate concentration in the anterior cingulate cortex. *Neuroimage*, 49, 767-771.

Review:

Kehrer C, Maziashvili N, Dugladze T, Gloveli T. (2008). Altered Excitatory-Inhibitory Balance in the NMDA-Hypofunction Model of Schizophrenia. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 1, 1-6.

Erklärung

„Ich, Colin Kehrer erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema:
**Elektrophysiologische Veränderungen des Netzwerkverhaltens im MK-801
Tiermodell** 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.“

Datum

Unterschrift

Danksagung

Ich bedanke mich bei Tengis Gloveli, meinem Doktorvater, von dem ich viel gelernt habe und der auch privat stets ein offenes und freundschaftliches Ohr für mich hatte. Ich habe mich in seiner Arbeitsgruppe und unter seinen Fittichen sehr wohl gefühlt.

Desweiteren bedanke ich mich bei Uwe Heinemann, der mir die Möglichkeit gegeben hat, in seinem Institut zu forschen in dem aufgrund seiner wissenschaftlichen und menschlichen Qualitäten eine inspirierende und befruchtende Atmosphäre herrschte.

Desweiteren bedanke ich mich bei meinen Kolleginnen und Kollegen, Tamar Dugladze, Nino Ekaterina Kipiani, Sebastian Ivens, Christoph Behrens, Robert Wöhr, Else Tolner, Patricia Aracri, Marleisje Njunting und all jenen, mit denen ich das Setup gedrückt und bei so manchem Feierabendbier über Wissenschaftliches und Nicht-Wissenschaftliches diskutiert habe.

Auch will ich mich sehr herzlich bei Jürgen Gallinat bedanken, der mich in meiner Zeit an der psychiatrischen Klinik am dortigen Forschungsgeschehen teilhaben ließ und mir gegenüber sehr großzügig und hilfsbereit war.