

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

DISSERTATION

„Das Verhalten platzspezifischer hippocampaler CA1-
Pyramidenzellen und deren Modulation im Schlaf nach
Exposition zu einer neuen Umgebung“

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Tilman Andreas Lüdert

aus Heidelberg

Gutachter: 1. Prof. U. Heinemann
2. Prof. Heiko Luhmann
3. Prof. Dietmar Schmitz

Datum der Promotion: 3. September 2010

Meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis.....	4
Zusammenfassung	6
Abstract	8
1. Einleitung	10
1.1. Lernen und Gedächtnis	10
1.1.1. Definition Gedächtnis	10
1.1.2. Deklaratives Gedächtnis	11
1.2. Hippokampus	12
1.2.1. Anatomie - Makroskopie	12
1.2.2. Anatomie - Mikroskopie	13
1.2.3. Platzzellen.....	14
1.2.4. Eine Virtuelle Karte (<i>Spatial map</i>).....	16
1.2.5. Entstehung der <i>Spatial map</i>	17
1.2.6. Aktionspotentiale.....	19
1.3. Hippokampale Netzwerkoszillationen.....	21
1.3.1. Thetarhythmus	21
1.3.2. Gammarrhythmus	21
1.3.3. Deltarhythmus.....	22
1.4. Fragestellung.....	23
2. Methodik.....	24
2.1. <i>Unitrecording</i>	24
2.1.1. Überblick Technik „ <i>Unitrecording</i> “	24
2.1.2. Überblick System	25
2.1.3. Tetroden.....	27
2.1.4. Elektrodenhalterung („ <i>Microdrive</i> “)	28
2.1.4.1. Vorbereitung eines <i>Microdrives</i>	28
2.1.4.2. Präparation eines <i>Microdrives</i>	30
2.1.5. Kopfverstärker.....	32
2.1.6. Kommutator	32
2.1.7. Verstärkung und Filter.....	33
2.2. Versuchstiere und Haltung	34
2.3. Implantation.....	34
2.4. Versuchsraum	38
2.5. Spikesorting.....	39
2.6. Statistische Auswertung	41
2.6.1. Grafische Darstellung	41
2.7. Mehrfache Ableitung einer Zelle.....	41
2.8. Analyse der Platzfelder	42
2.8.1. Räumliche Kohärenz.....	42
2.8.2. Informationsrate	42
2.8.3. „ <i>Sparsity</i> “.....	43
2.8.4. Korrelationen der Flächenraten	44
2.8.4.1. Glättung der Flächenrate	44
2.9. Analyse der Entladungsraten nach Segmenten	44
2.10. Rotationsanalyse.....	45
2.11. Elektroenzephalogramm	45
2.12. Transkardiale Perfusionsfixierung.....	45
2.13. Histologie.....	46

3. Ergebnisse	47
3.1. Versuchstiere	47
3.2. Trainingsphase.....	47
3.2.1. Signalsichtung (<i>Screening</i>).....	48
3.3. Versuchsablauf.....	48
3.4. Aufzeichnungsunterbrechungen.....	51
3.5. Reflektionen des Infrarotsignals	52
3.6. Mehrfache Ableitung einer Zelle.....	53
3.7. Zellzahl	53
3.7.1. Zellselektion	53
3.7.2. Komplexzellen (<i>Complex Spike Cells</i>).....	54
3.8. Platzfeldanalyse	57
3.8.1. Platzfeldzahl nach Segmenten	57
3.8.2. Korrelationsanalyse	59
3.9. Dynamik der Platzzellen und Platzfelder.....	62
3.10. Formierung neuer Platzfelder innerhalb eines Versuchsabschnittes	64
3.11. Rotationsanalyse.....	68
3.12. Lokales Feldpotential	69
3.13. Histologie.....	70
4. Diskussion	71
4.1. Platzzellreaktion auf eine neue Umgebung.....	71
4.1.1. Anzahl der <i>Complex Spike cells</i>	73
4.1.2. Entladungsraten.....	74
4.1.3. Kodierung der räumlichen Umgebung	75
4.1.4. Platzfeldgröße.....	75
4.1.5. Dynamik der Kodierung der räumlichen Umgebung	76
4.1.6. EEG	78
4.1.7. Remapping.....	79
4.2. Rückschlüsse auf die Gedächtniskonsolidierung.....	80
4.2.1. Anwendbarkeit auf den Menschen.....	81
4.2.2. Limitationen.....	81
4.3. Zusammenfassung.....	82
5. Abkürzungsverzeichnis	83
6. Literaturverzeichnis	84
7. Danksagung	91
8. Lebenslauf	92
9. Erklärung	93

Zusammenfassung

Der Hippokampus ist wichtiger Bestandteil zur Bildung des deklarativen Langzeitgedächtnisses und insbesondere zur Bildung des räumlichen Gedächtnisses [47]. Platzzellen sind Pyramidenzellen im Hippokampus der Ratte, welche die Position des Tieres im Raum kodieren [60]. Ihre Entdeckung hat das Verständnis für das Gedächtnis und die Gedächtnisbildung entschieden voran gebracht. Diese Arbeit untersucht, wie hippokampale *CA1-Pyramidenzellen* zu Platzzellen werden, wenn eine Ratte eine bisher unbekannte Umgebung erkundet.

Bei sechs *Lister hooded*-Ratten wurden Tetroden in die *CA1*-Schicht des Hippokampus implantiert.

Nach der Operation wurden diese Versuchstiere mindestens eine Woche lang so trainiert, dass sie für eine Belohnung Zuckerwasser Runden auf einem ringförmigen Versuchstisch rennen. Sobald die Tiere mit dem Versuchsablauf und der Umgebung (*F*=familiär) vertraut waren, wurde ihnen gestattet, einen zweiten ringförmigen Versuchstisch (*N*=neu) zu erkunden. Dieser konnte über eine Brücke erreicht werden. Extrazelluläre Ableitungen wurden während der Expositionen zu *F* und *N* sowie dazwischen, während zu erwartender Schlafphasen in einer *Box* aufgezeichnet.

Während der ersten Erkundung in *N* entwickelten einige Zellen bereits in der ersten Umrundung ein stabiles Platzfeld, andere jedoch erst nach einigen Runden. Es wurden zwei bedeutende Veränderungen im Aktivitätsmuster der *CA1-Pyramidenzellen* beobachtet, die sich beide nach mehreren Expositionen zu *N* ausglich: so stieg die Anzahl der abgeleiteten Komplexzellen, „*Complex Spike*“ Zellen (*CSC*), an, während die Anzahl der *CSC* mit einem klaren Platzfeld in *N* im Vergleich zu Versuchsabschnitten in *F* abnahm. Die Einführung einer neuen Umgebung hatte auch Auswirkungen auf die Platzzeleigenschaften in der bekannten Umgebung. Außerdem hatte nur ein kleiner Anteil (34 %) der *CSC* mit einem Platzfeld in *F* auch ein Platzfeld in *N*. Jedoch hatte ein weitaus größerer Anteil (52 %) der *CSC* mit einem Platzfeld in *N* auch ein Platzfeld in *F*.

Diese neuen Ergebnisse legen nahe, dass die zuvor inaktiven Platzzellen beim Eintritt in eine neue Umgebung aktiviert werden. Außerdem wird deutlich, dass weniger Zellen diese neue Umgebung repräsentieren als die bekannte Umgebung.

Von denjenigen Zellen, die ein klares Platzfeld haben, hat auch ein großer Anteil ein Platzfeld in einer bekannten Umgebung. Die Veränderungen beeinflussen die neuronale Repräsentation der bereits bekannten Umgebung. Bei den weiteren Expositionen stabilisiert sich die Platzzellaktivität in N und erreicht Werte die statistisch mit denen von F vergleichbar sind.

Abstract

The hippocampus plays an important role in the formation of long-term declarative memories [47], in particular spatial memory. The discovery in the rodent hippocampus of place cells, pyramidal cells that encode the animal's spatial location [60], provided a way to understand the role of the hippocampus in memory and its formation. Here we study how rat hippocampal *CA1* pyramidal cells become place cells as the animal explores a novel environment.

Six male *Lister hooded* rats were implanted with 8 tetrodes each targeting the *CA1* layer. After surgery the animals were trained to run laps in a ring-shaped maze for a water reward for at least a week. Once rats were familiar with this environment – the familiar environment *F* - they were also allowed to explore a different ring-shaped maze located in a different environment – the novel environment *N*. Data was collected while rats run in the *F* and *N* environments and during putative sleep episodes in between maze sessions.

During the first exploration of the *N* some cells developed a stable spatial bias (field) within the first lap around the maze while others required several laps before establishing a field. Upon quantification, two main changes were detected in the pattern of activity of *CA1* pyramidal cells, both of which resumed and reached levels similar to those in the *F* upon successive exposures: the number of recorded complex spike cells (*CSC*) increased and, in contrast, the number of *CSC* with fields (location coding) in the *N* decreased. As for interactions between the familiar and novel environments, the changes that took place upon exposure the novel environment often carried over to the next exposure to the *F*. Finally, only a small fraction (34%) of *CSC* with fields in the *F* encoded also for space in the *N*, whereas a higher percentage (52%) of *CSC* with a field in the *N* had also a field in the *F*.

The results suggest that upon entering a new environment cells that were previously inactive become active but, at the same time, less of these cells encode location than in a familiar environment. Of those that do, a big proportion also encodes location in the familiar environment. The changes spill over to the next exposure to the *F*. Over

successive exposures the activity of cells stabilizes and reaches statistics similar to those found in the F before exposure to the N .

Keywords: spatial; learning; memory; place cell; formation; hippocampus

1. Einleitung

1.1. Lernen und Gedächtnis

1.1.1. Definition Gedächtnis

„Gedächtnis: Einheit von Merkfähigkeit und Erinnerung; Als Merkfähigkeit wird die Bildung von Engrammen (sogenannte Gedächtnisspuren) zur Speicherung von Wahrnehmungen und Erfahrungen bezeichnet; Engramme ermöglichen den Vorgang der Erinnerung (Ekphorie). Als Langzeitgedächtnis wird das Gedächtnis für langfristige Speicherung von Wahrnehmungen mit Konsolidierung von Engrammen bezeichnet. Das Kurzzeitgedächtnis speichert Informationen für wenige Sekunden. Das Altgedächtnis speichert lange zurückliegende, das Neugedächtnis unmittelbare Erfahrungen und Wahrnehmungen. Bei einer Gedächtnisstörung ist vor allem das Neugedächtnis betroffen. Das Gedächtnis ist eine kortikale Funktion. An der Bildung von Engrammen ist wahrscheinlich das limbische System beteiligt, die Ekphorie ist wahrscheinlich nicht an eine bestimmte Gehirnstruktur gebunden.“ [66]

Als Gedächtnis wird also die Funktion des zentralen Nervensystems bezeichnet, Informationen zu speichern und zu einem späteren Zeitpunkt wieder abzurufen. Als Lernen wird das Übertragen von Informationen in das Gedächtnis bezeichnet.

Die Unterteilung des Gedächtnisses erfolgt nach funktionellen Gesichtspunkten. Das Gedächtnis wird in das deklarative und das non-deklarative oder auch prozedurale Gedächtnis unterteilt. Zum non-deklarativen Gedächtnis werden beispielsweise das Erlernen von motorischen Fähigkeiten, die nicht assoziative Erinnerung wie das Habituierten (zum Beispiel des Gehörs an den Straßenlärm), aber auch die klassische Konditionierung (Pavlov'sche Konditionierung) gezählt. Ihm gegenüber steht das deklarative Gedächtnis. Dieses wird in semantisches und episodisches Gedächtnis unterteilt, wobei unter semantischem Gedächtnis das Wissen von Fakten und unter episodischem Gedächtnis das Erinnern an einzelne Ereignisse verstanden wird. Dem entsprechend kann man das deklarative Gedächtnis auch als das Gedächtnis bezeichnen, dessen Inhalt erzählt und beschrieben werden kann (deklarativ) [79].

1.1.2. Deklaratives Gedächtnis

Unter deklarativem Gedächtnis wird das neuronale Speichern von Fakten verstanden, an die sich der Mensch bewusst erinnern kann und die verbal wiedergegeben werden können [16]. Dies steht in Kontrast zum non-deklarativen Gedächtnis [40].

Unterteilt wird das deklarative Gedächtnis in ein episodisches Gedächtnis und ein semantisches Gedächtnis [80], [81]. Beim semantischen Gedächtnis handelt es sich um die Speicherung von Fakten unabhängig vom Zeitpunkt und Ort ihres Erlangens. Das episodische Gedächtnis bezieht sich auf das bewusste Gedächtnis für persönlich erlebte Ereignisse und Erfahrungen, die zu einer bestimmten Zeit an einem bestimmten Ort stattfinden [1]. Nach einer weiteren Definition besteht das episodische Gedächtnis aus Informationen, die mit dem Ort und dem Zeitpunkt des Erlangens verbunden sind. Diese können in mentalen Zeitreisen wieder neu erlebt werden [15]. Das episodische Gedächtnis beinhaltet, neben der faktischen Information, den Ort des Geschehens und einen Zeitpunkt des eigenen Erlebens. Eine ausführliche Beschreibung des episodischen Gedächtnisses findet sich bei E Tulving [86].

Als verantwortlich für die neuronale Repräsentation für beide Formen des deklarativen Gedächtnisses wird der Hippokampus angesehen. Für das episodische Gedächtnis ist des Weiteren der Frontallappen essentiell [33], [86]. Patienten mit einem hippokampalen Funktionsverlust sind weder in der Lage, sich an faktisches Wissen noch an Ereignisse zu erinnern. Patienten mit einem zusätzlichen Funktionsverlust des Frontallappens haben einen ausgedehnteren Verlust an episodischem Gedächtnis [26]. Unter der Voraussetzung, dass jedes deklarative Wissen primär mit einem Ereignis verknüpft wird (die nachhallende Stimme des Lehrers, das emotionale Ende eines Buches oder ein erklärender Gedanke in einer Vorlesung), kann episodisches Erleben als Eintrittspforte zum semantischen Gedächtnis und zum Langzeitgedächtnis gesehen werden [33], [81].

Ein Verlust des Gedächtnisses wird allgemein als Amnesie bezeichnet. Eine retrograde Amnesie beschreibt die Unfähigkeit, sich an Informationen zu erinnern, die zeitlich vor einem auslösenden Ereignis lagen. Eine anterograde Amnesie

bezeichnet die Unfähigkeit, Informationen zu speichern, die zeitlich nach dem auslösenden Ereignis liegen. Ein Verlust eines Großteils des episodischen Gedächtnisses kann als bedeutender Funktionsverlust bei einer Amnesie gewertet werden. Er geht mit dem Erlangen einer anterograden Amnesie einher. Patienten mit einer Läsion des medialen Temporallappens haben sowohl eine eingeschränkte retrograde als auch eine schwerwiegende anterograde Amnesie. Diese Amnesie beschränkt sich auf Gebiete, die dem deklarativen Gedächtnis zugeordnet werden [32].

Prominenteste Struktur des medialen Temporallappens ist der Hippokampus. Neben dem Hippokampus selbst werden der angrenzende perirhinale, der entorhinale und der parahippokampale Kortex als funktionelle Einheit gewertet. Zusammen ermöglichen diese wichtige Funktionen des deklarativen Gedächtnisses und spielen eine große Rolle bei der Bildung des Langzeitgedächtnisses [82]. Eine Blockade (pharmakologisch) der hippokampalen Funktionen schränkt die Fähigkeit, einen Versuchsablauf (Episoden) beim ersten Versuch aufzufassen und zu lernen ein [13], [51].

Der Hippokampus spielt ebenso eine Rolle in der Genese einiger pathophysiologischer Ereignisse. Besonders zu erwähnen seien hier anfallsartige Erkrankungen wie fokalen, bzw. primär-fokalen Epilepsien, Depressionen, Schizophrenien, neurodegenerative Erkrankungen, wie Morbus Alzheimer und Amnesien [41], [78].

1.2. Hippokampus

1.2.1. Anatomie - Makroskopie

Der Hippokampus verdankt seinen Namen der Ähnlichkeit eines Horizontalschnittes mit einem Seepferdchen (von gr. hippo: Pferd und gr. campos: Seeungeheuer)¹. Der Hippokampus ist eine paarig angelegte Struktur des Telencephalon und ist dem Allokortex, einem entwicklungsgeschichtlich älteren Teil des Telencephalons, zugeordnet [89]. Der hippokampale Komplex besteht aus dem *Cornu ammonis* (CA),

¹ www.wikipedia.de, Zugriff am 21.05.2009

dem Subikulum und dem Gyrus dentatus. Durch das Größenwachstum des menschlichen Telencephalon in der Ontogenese bekommt der Hippokampus seine charakteristische Form. Er liegt länglich im medialen Temporallappen. Die Ausdehnung von dem am meisten rostral gelegenen zu dem am meisten temporal gelegenen Ende des Hippokampus wird als die longitudinale Achse bezeichnet. Er erstreckt sich vom dorsal des Corpus calosum gelegenen Gyrus cinguli beginnend nach dorsokaudal und lateromedial entlang der Seitenhörner des ersten und zweiten Ventrikels. Im medialen Temporallappen erreicht er seine größte Ausdehnung im Querschnitt. Hier verläuft er nach ventral und rostral. Der Hippokampus der Ratte liegt - ähnlich der Lage des menschlichen Hippokampus - bogenförmig in dorsorostraler und ventrolateraler Ausdehnung. Er hat jedoch relativ zur restlichen Hirnrinde mehr Volumen. Eine ausführliche Beschreibung der makroskopischen Anatomie des Hippokampus findet sich bei G Paxinos [64].

1.2.2. Anatomie - Mikroskopie

Mikroskopisch gesehen, wird der Transversalschnitt des Hippokampus vom Ammonshorn, *Cornu ammonis* (CA), geprägt. Diese Kortexformation hat entwicklungsgeschichtlich bedingt eine charakteristische (und namensgebende) Form. Sie besteht (von medial nach lateral) aus folgenden Schichten:

- Stratum oriens
- Stratum pyramidale
- Stratum radiatum
- Stratum lacunosum-moleculare

Im Stratum pyramidale befinden sich die Prinzipalzellen des Hippokampus: die Pyramidenzellen. Diese werden nach ihren anatomischen Verbindungen in drei Untergruppen unterteilt, CA1 bis CA3.

Mediokaudal an das *Cornu ammonis* angrenzend, stellt der ebenfalls dreischichtige Gyrus dentatus einen weiteren Teil des Hippokampus dar [52], [84]. Die Hauptzellen des Gyrus dentatus sind glutamaterge Körnerzellen im Stratum granulare. Diese entsenden ihre Dendriten in das Stratum moleculare. In der Lamina multiforme befinden sich deren Axone, die Moosfasern, sowie einige GABAerge Interneuronklassen. Faserverbindungen bestehen zwischen vielen Zellgebieten,

sowohl innerhalb des Hippokampus als auch vom Hippokampus mit anderen kortikalen Strukturen. Als wichtigste afferente Verbindungen sollten genannt werden

- der Tractus perforans, Projektion entorhinaler Zellen zum Gyrus dentatus [95] und
- die Moosfasern, Projektionen der Körnerzellen des Gyrus dentatus zu CA3

Dabei lassen sich Unterschiede in den Teilen des Hippokampus ausmachen. Der dorsale und der intermediäre Teil des Hippokampus sind zum größten Teil über die dorsolateralen und intermediären Faserverbindungen des entorhinalen Kortex mit dem visuellen und somatosensorischen Kortex verbunden. Dies unterstreicht seine Bedeutung für die räumliche Orientierung und Navigation. Selektive Läsionen des dorsalen Hippokampus verursachen signifikante Beeinträchtigungen im räumlichen Gedächtnis und der Orientierung [14], [28]. Der ventrale Teil unterhält ausgeprägte Verbindungen zu bestimmten Gebieten des lateralen Septumbereiches, der Amygdala und des Hypothalamus. Diese sind auch untereinander verknüpft. Teilweise erreichen Faserverbindungen den Hippokampus direkt, zum anderen auch indirekt über die Moosfaser des ventromedialen entorhinalen Kortex [93]. Selektive Läsionen des ventralen Hippokampus beeinträchtigen nicht die räumliche Navigation, jedoch das affektive und defensive Verhalten [28].

1.2.3. Platzzellen

1971 berichteten O'Keefe und Dostrovsky [60] erstmals über hippokampale Pyramidenzellen, deren Aktivität von der Position und Ausrichtung eines Versuchstieres im Raum abhing. Die Platzzellen, *place cells*, sind definiert als hippokampale Pyramidenzellen, deren Aktivität ansteigt, wenn sich das Versuchstier in einer bestimmten Position im Raum befindet [15]. Diese Zellen sind aktiv, unabhängig von der Richtung in die sich das Versuchstier bewegt und ebenso unabhängig von dem, was es gerade tut [58]. Bereits 1978 zeigten O'Keefe und Nadel, dass Platzzellen mehrere Platzfelder haben können [61]. Die Theorie, die neuronale Repräsentation der Umgebung gleiche einer virtuellen Karte, hat sich seither etabliert [37]. Diese virtuelle Karte wird auch als *spatial map* (1.2.4) bezeichnet.

Platzzellen speichern die räumlichen Verhältnisse in einer Umgebung über einen längeren Zeitraum. So konnten Thompson und Best eine Stabilität der Platzfelder einzelner hippocampaler Pyramidenzellen von bis zu 153 Tagen nachweisen [83]. Ein solches Verhalten von Platzzellen bleibt jedoch, nicht zuletzt wegen der schwierigen Umsetzung solcher Versuche, eine Ausnahmeerscheinung in der Literatur.

Als „Platz“ wird hier eine durch Orientierungspunkten (*Cues*) definierte Position im Raum angesehen. Die neuronale Repräsentation einer Zelle wird als Platzfeld (*place field*) bezeichnet. Dieses Platzfeld kann unterschiedliche Ausmaße annehmen [27]. So haben Platzzellen im septalen Teil des Hippokampus kleinere Platzfelder als Zellen im temporalen Teil [14], [28]. Platzzellen, abgeleitet in anderen Teilen des Hippokampus, unterscheiden sich auch in der Form der Platzfelder von den hippocampalen CA1-Platzzellen. Platzzellen sind nicht somatotop, das heißt Platzzellen benachbarter Platzfelder liegen nicht organisiert nebeneinander [91].

Die Platzzellen des Hippokampus scheinen mit den 1973 bei Rank beschriebenen *Complex Spike*-Zellen übereinzustimmen [25]. Hippokampale CA1-Pyramidenzellen sind generell in einer eher niedrigen Frequenz aktiv, können jedoch in Salven (*bursts*) mit einer Frequenz von bis zu 10 Hz in Erscheinung treten [68], Diese Zellen werden daher als Komplexzellen, „*Complex Spike Cells*“ (CSC), bezeichnet.

Platzzellen konnten in allen Subregionen des Hippokampus nachgewiesen werden. Die Platzzellen der einzelnen Subregionen unterscheiden sich in ihrer Dynamik. Lee et al. wiesen nach, dass bei gleichzeitiger Ableitung von Platzzellen der CA1- und der CA3-Region letztere schneller auf Veränderungen von Orientierungspunkten reagieren. Diese Ergebnisse führten zu der Hypothese, dass Platzzellen der CA3-Region eine wichtigere Rolle für die schnellere Verarbeitung der näheren Umgebung und dortiger Veränderungen spielten. Dabei sei die CA1-Region dafür verantwortlich, diese Informationen mit gespeicherten Informationen zu vergleichen [2], [35].

Hippokampale Platzzellen wurden nicht nur, wie in den bisher beschriebenen Versuchen, bei Ratten entdeckt, sondern auch bei Primaten. Hier scheinen die Platzzellen jedoch wesentlich mehr durch visuelle Eindrücke beeinflusst zu sein [69]. Zellen mit einem platzzellähnlichen Aktivitätsmuster wurden inzwischen auch in anderen hippocampalen Strukturen entdeckt. Sie wurden zum Beispiel im entorhinalen Kortex aber auch im Gyrus dentatus nachgewiesen [20], [84].

Zur Darstellung der räumlichen Aktivität haben sich farbkodierte und autoskalierte Darstellungen der Entladungsrate etabliert [55]. Diese Darstellungen werden in der Fachliteratur und im Folgenden als *Ratemap* bezeichnet. Bei linearem Versuchsaufbau kann aber auch die zweidimensionale Darstellung der Aktivität über der Position angewandt werden [21]. Eine ausführliche Beschreibung von Platzzellen findet sich bei Robert Muller, "A quarter of a century of place cells" [57].

1.2.4. Eine Virtuelle Karte (*Spatial map*)

Nach Thompson und Best sind etwa 90 % der im Hippokampus abgeleiteten Pyramidenzellen Platzzellen [83]. Nicht alle im Hippokampus abgeleitete Zellen tragen allein räumliche Informationen. Es konnte nachgewiesen werden, dass auch weitere Informationen durch diese Zellen kodiert werden [18], [96]. Diese Informationen sind jedoch mit der räumlichen Information verknüpft und von der Platzzellaktivität abhängig [37]. 1971 formulierten O'Keefe und Nadel ihre Theorie, dass die Funktion des Hippokampus von der räumlichen Orientierung des Versuchstieres abhängig sei. Ihre Hypothese besagt, dass es die Funktion des Hippokampus sei, eine virtuelle, allozentrische Karte der Umgebung neuronal zu repräsentieren, die sogenannte Virtuelle Karte (*spatial map*) [60]. Diese erlaube es dem Versuchstier, sich in der Umgebung zu orientieren und neue Informationen in diese Virtuelle Karte einzubetten. Diese Theorie basierte auf der Entdeckung von Platzzellen. Nach der Definition von Lynn Nadel sind Platzzellen Teil einer kartesischen, zweidimensionalen Karte, welche die Position eines Individuums an einem bestimmten Koordinatenpunkt in einem umschriebenen Raum darstellt [58].

Viele Studien haben nachgewiesen, dass ein intakter Hippokampus für die Entwicklung der räumlichen Orientierung und des räumlichen Gedächtnisses erforderlich ist. So konnte bei Nagetieren mit beschädigtem Hippokampus eine Einschränkung bei Versuchen gezeigt werden, die auf eine räumliche Orientierung angewiesen waren [49]. In Folge dieser Versuche hat sich auch das („Morris-“) Wasserlabyrinth (*Watermaze*) als Standardversuch mit Nagetieren etabliert [50], [73]. Dabei handelt es sich um ein etwa 2 m durchmessendes Wasserbassin, bei dem das Versuchstier auf seine räumliche Orientierung angewiesen ist, um eine Plattform zu erreichen, die sich knapp unter der Wasseroberfläche befindet. Die Bedeutung des

Hippokampus für die räumliche Orientierung von Primaten wurde unter anderem von Rolls und O'Mara 1995 nachgewiesen [69].

1.2.5. Entstehung der *Spatial map*

In den Anfängen der Platzzellforschung wurden die Versuchstiere meist in einer Umgebung untersucht, die dem Tier vertraut war [55]. Expositionen zu einer neuen Umgebung zeigten, dass Platzzellen bereits bei der ersten Exposition in einem Platzfeld aktiv werden und dass sich dieses Aktivitätsmuster innerhalb der ersten 10 min stabilisiert [25]. Hippokampale Zellen sollten nach ungefähr 10 min eine akkurate und stabile *spatial map* formen [91].

Jedoch wurden in mehreren Studien Änderungen im hippokampalen Aktivitätsmuster von Platzzellen festgestellt, nachdem Veränderungen an Orientierungspunkten oder der Begrenzung der Versuchsplattform durchgeführt wurden [15], [19], [31]. Diese Veränderungen im Aktivitätsmuster können allerdings nur sichtbar gemacht werden, wenn das Versuchstier das Platzfeld ein zweites Mal komplett passiert. Änderungen in einem kleineren Zeitfenster können mit den bei diesen Versuchen angewandten Methoden nicht dargestellt werden. Durch rechnerische Modelle und Schätzungen wurden 2004 erstmals Veränderungen im Millisekundenbereich von Frank et al. beschrieben [21].

Frank et al. legten dar, dass die Zahl der aktiven Platzzellen in den ersten beiden Tagen einer Exposition zu einer neuen Umgebung signifikant höher ist als in den darauf folgenden Tagen. Bei dieser Exposition ändert sich die Anzahl an Platzfeldern in der neuen Umgebung im Vergleich zu einer bereits bekannten Umgebung. Von Beginn an in der neuen Umgebung bestehende Platzfelder hingegen können sich bezüglich der Ausdehnung und Polarität ändern [21].

In einem linearen Versuchsaufbau können Platzfelder eine Polarität besitzen, d.h. einige Platzzellen sind nur aktiv, wenn sich das Versuchstier in eine von zwei möglichen Richtungen bewegt [22], [42].

Die Entladung von Aktionspotentialen (s.u.) wird auch als „feuern“ bezeichnet. Muller und Kubie haben 1989 gezeigt, dass hippokampale Platzzellen für Platzfelder

kodieren, indem sie etwa 119 ms vor dem Erreichen des eigentlichen Feldes feuern. Für diese Versuche wurde das Auftreten von extrazellulär abgeleiteten Potentialen dem zeitlichen und räumlichen Verhalten der Versuchstiere um 1 Sekunde vor bzw. zurück versetzt. Bei diesen Versuchen wurden folgende Analysemethoden eingeführt:

- eine Analyse des Aktivitätsfeldes (*Firing Area*), als Platzfeld mit der geringsten Anzahl an Bildpunkten (*Pixel*)
- die Berechnung „*Patchiness*“ als Zusammenhängendes Feld an Bildpunkten ähnlicher Frequenz des extrazellulär abgeleiteten Potentials und
- eine Analyse der räumlichen Kohärenz (*Spatial Coherence*). Dies ist die Z-Transformation der Korrelation der acht angrenzenden Bildpunkte mit dem in der Mitte liegenden Bildpunkt (2.8.1).

Die Ergebnisse zeigten, dass ein Großteil der Platzzellen die optimale Auflösung etwa 119 ms vor dem Erreichen des eigentlichen Feldes aufwiesen. Die Ergebnisse lassen darauf schließen, dass ein Platzfeld einen Ort graduell kodiert und die Aktivität einer Platzzelle kontinuierlich mit der Entfernung vom Zentrum des Feldes abnimmt. Muller und Kubie lassen offen, ob sich der Hippokampus als ein rein sensorisches Element oder als in den motorischen Prozess eingegliedertes Element betätigt [56].

Wills et al. zeigten 2005, dass die Exposition eines Versuchstieres in eine quadratisch oder kreisförmig umrandete Umgebung die Ausbildung hippokampaler Repräsentationen für beide Formen bewirkt [90]. Sie legten außerdem dar, dass viele Platzzellen ihre Aktivität schlagartig und simultan ändern, wenn die Wände der Umgebung kontinuierlich von der einen Form in die andere überführt wurden. Diese Versuche sollten die Attraktor-Theorie unterstützen. Diese Theorie besagt, dass die Aktivität von einzelnen Platzzellen im Zellverband gesteuert sei; eine virtuelle Karte also durch einzelne Veränderungen der Umwelt komplett aktiviert bzw. inaktiviert werden könne [3], [71].

Weiterhin scheint auch das Alter eines Versuchstieres Einfluss auf das Verhalten von Platzzellen zu nehmen. Sobald junge Ratten in eine neue Umgebung kommen, sind die Platzzellen nach sehr kurzer Zeit durch Veränderung der neuen Orientierungspunkte beeinflussbar [44], [91]. Ratten, älter als 24 Monate, zeigten - verglichen mit jüngeren Tieren - eine verzögerte Umstellung auf neue Orientierungspunkte, d.h. sie sind länger von der intrinsischen Navigation abhängig [50], [73], [92].

Des Weiteren wurde eine gewisse Plastizität hippocampaler Pyramidenzellen nachgewiesen. Platzzellen können beispielsweise ihr Platzfeld auch in einer schon lange Zeit bekannten Umgebung verschieben bzw. dessen Form verändern [35], [46]. Die Veränderung externer Orientierungspunkte führt ebenso zu Veränderungen der Platzfelder [55]. Bei diesen Versuchen sind die Orientierungspunkte weit außerhalb des Versuchstisches, jedoch sichtbar für das Versuchstier.

Ortspezifische Aktivität von Nervenzellen wurde in mehreren Arealen des zentralen Nervensystems nachgewiesen [27]. 2005 entdeckten Hafting et al. Zellen im entorhinalen Kortex, deren Aktivität ansteigt, wenn sich das Versuchstier am Knotenpunkt eines virtuellen Gitters befindet. Diese Zellen wurden daraufhin als Gitterzellen (*grid cells*) bezeichnet [24], [54]. Auch die Größenausdehnung und der Abstand der Platzfelder der Gitterzellen ändern sich entlang der dorsoventralen Ausrichtung des entorhinalen Kortex. Benachbarte Gitterzellen sind zueinander phasenverschoben. Die entorhinalen Platzfelder sind stabil und auch bei der Exposition in eine neue Umgebung bereits vorhanden, ohne ihre Eigenschaften zu verändern. Hafting et al. postulieren, dass die Gitterzellen eine intrinsische Navigation ermöglichen, die nicht von *cues* abhängig ist. Nach dem Model von Solstad et al. können hippocampale Platzzellen, die etwa 10-50 Gitterzellen nachgeschaltet sind definierte Platzfelder bilden [77].

1.2.6. Aktionspotentiale

Eine Nervenzelle hat wie jede menschliche Zelle eine Zellmembran. Diese Membran ist wasserdurchlässig. Ionen können eine solche Zellmembran nur durch bestimmte, ionenspezifische Membranproteine, Ionenkanäle, passieren. So ist diese Membran für K⁺ Ionen eher durchlässig. Andere Ionen, z.B. Na⁺-Ionen können diese Membran im Ruhezustand nur sehr begrenzt passieren.

Die Nernst-Gleichung beschreibt das Gleichgewichtspotential für die verschiedenen in diesem Milieu vorliegenden Ionen in ideeller Weise (angenommen die Membran sei selektiv für dieses Ion durchlässig). Dieses beruht auf zwei wesentlichen Effekten

- dem Ausgleich von Konzentrationen durch Diffusion und
- der Elektrizität, der Anziehung bzw. Abstoßung von Ionen aufgrund von elektrischen Ladungen.

Neben reinen Ionenkanälen gibt es Membranproteine, welche Ionen unter Energieverbrauch entgegen einem Ionenkonzentrationsgradienten durch die Zellmembran schleusen. Die Goldman-Gleichung beschreibt die Berechnung des Ruhemembranpotentials unter Berücksichtigung der relativen Durchlässigkeiten der Zellmembranen für die einzelnen Ionen. Unter Berücksichtigung von Na^+ und K^+ kommt diese Gleichung auf einen Wert von -65 mV . Dieser Wert ist stark dem Gleichgewichtspotential für K^+ ($E_{\text{K}} = -80 \text{ mV}$) angenähert. Dies liegt daran, dass die Membran für K^+ etwa 40-mal durchlässiger ist als für Na^+ .

Beim Aktionspotential kehrt sich dieser Ladungsunterschied zwischen Zytosol und Extrazellularraum um. Aktionspotentiale werden durch eine Depolarisation der Zellmembran über einen kritischen Wert, den Schwellenwert, ausgelöst. Durch das Öffnen von spannungsabhängigen Na^+ -Kanälen beim Erreichen des Schwellenwertes wird ein schneller Ionenfluß (I_{Na}) entlang des Konzentrationsgradient für Na^+ ($E_{\text{Na}} = 62 \text{ mV}$) und der negativen Ladung des Zytosols ermöglicht. Es kommt nun zu einem Schließen der o.g. spannungsabhängigen Na^+ -Kanäle. Diese spannungsabhängigen Na^+ -Kanäle sind danach für einige Millisekunden inaktivierbar. Durch den K^+ -Ionenfluß (I_{K}) nach Extrazellulär kommt es dabei zur Repolarisation. Dadurch, dass ein Teil der spannungsabhängigen Na^+ -Kanälen inaktivierbar ist, zeigt sich kurzzeitige Hyperpolarisation [4].

Die Ladungsänderungen während eines Aktionspotentials können extrazellulär gegen eine Referenzelektrode gemessen werden. Dieses Phänomen wird auch bei der Technik „*Unitrecording*“ genutzt (s.u.).

1.3. Hippokampale Netzwerkoszillationen

1.3.1. Thetarhythmus

Als Thetarhythmus bezeichnet man eine prominente Oszillation großer Amplitude im Elektroenzephalogramm (EEG). Der Thetarhythmus (Theta) tritt mit einer Frequenz von 6-7 Hz auf [88]. Die Bezeichnung erfolgte nach Anlehnung an den humanen Thetarhythmus (4-7 Hz), wurde jedoch beim Tier auch auf höhere und tiefere Frequenzen ausgedehnt. Diese treten bei Bewegung und dem Explorieren einer Umgebung sowie unter Urethan-Anästhesie auf. 1993 konnten O'Keefe et al. zeigen, dass Komplexzellen in einer konstanten Phase der Theta-Oszillation feuern. Während der Durchquerung eines Platzfeldes verschob sich diese Kopplung schrittweise zu einer früheren Phase (bis zu 355°) [62]. Diese Phasenverschiebung (*phase precession*) beginnt bereits beim Eintreten in ein Platzfeld. Hier sind CA1-Platzzellen bereits um 90° bis 120° im Vergleich zur übrigen Pyramidenzellpopulation phasenverschoben [76].

1.3.2. Gamma rhythmus

Als Gamma-Oszillation wird eine 36-200 Hz Oszillation bezeichnet. Diese tritt häufig eingebettet in eine Theta-Oszillation auf. Es konnten Platzzellen gezeigt werden, deren Aktivität an der Gamma-Oszillation ausgerichtet ist. Senior et al. stellten zwei verschiedene Klassen an Platzzellen dar, die an verschiedene Phasen des Gamma-Rhythmus gekoppelt waren (-90° bis 90° und 90° bis 180°). Dies waren nicht alle abgeleiteten Platzzellen. Jedoch behielten die an die Gamma-Oszillation gekoppelten Zellen ihre gekoppelte Aktivität bei. Dies geschah sowohl im Platzfeld als auch außerhalb und zudem teilweise auch innerhalb einer Salve. Die Pyramidenzellen, die an Gamma gekoppelt waren, behielten dies auch während der Exploration in einer neuen Umgebung bei [72].

1.3.3. Deltarhythmus

Als Delta-Oszillation wird eine langsame Oszillation, „*Slow wave*“ (SW), von 0-5 Hz bezeichnet. Während dieser Oszillationen sind hippokampale Pyramidenzellen hoch synchron [8]. Da diese Oszillation zumeist im Schlaf auftritt, wird sie auch als Delta-Schlaf oder *slow wave sleep*, SWS, bezeichnet. In diesen Schlafphasen werden Platzzellen reaktiviert, die in der dem Schlaf voran gegangenen Wachphase aktiv waren [34], [92].

1.4. Fragestellung

Da das episodische Gedächtnis vom Rahmen der Virtuellen Karte abhängig ist, welche die Netzwerke im Hippokampus bilden, ist es wichtig zu verstehen, wie diese Netzwerke entstehen und auch wie hippokampale Pyramidenzellen zu Platzzellen werden.

Die meisten Versuche zu Platzzellen wurden jedoch in Umgebungen durchgeführt, die dem Versuchstier bereits durch früheres Erkunden vertraut waren. Daher ist wenig über die neuronale Aktivität im Hippokampus während der ersten Exposition in eine neue Umgebung bekannt. Es konnte gezeigt werden, dass die Aktivität hippokampaler Platzzellen bei der Exposition zu einer neuen Umgebung starken Schwankungen unterliegt [21]. Wilson et al. wiesen nach, dass Platzzellen bereits nach 10 min Exposition zu einer neuen Umgebung ein stabiles Platzfeld entwickeln [91]. Es ist jedoch bekannt, dass Inhalte des episodischen Gedächtnisses selbst nach sehr kurzer Dauer für lange Zeit abgerufen werden können und, dass der Hippokampus eine entscheidende Rolle bei der Formierung episodischer Gedächtnisinhalte spielt [85]. Es muss also eine Möglichkeit geben, Ereignisse, die in einer neuen Umgebung stattfinden, selbst nach kurzer Zeit stabil und für einen langen Zeitraum im Gedächtnis abspeichern zu können. Die vorliegende Arbeit basiert auf der Hypothese, dass hippokampale Platzzellen, bei der Erkundung einer neuen Umgebung diese durch die Repräsentation einer bereits bekannten Umgebung kodieren. Dieses Phänomen sollte nachlassen, je familiärer die neue Umgebung wird, also im Laufe weiterer Expositionen in diese Umgebung.

2. Methodik

2.1. *Unitrecording*

2.1.1. Überblick Technik „*Unitrecording*“

Das hier angewandte Verfahren „*Unitrecording*“ beruht auf der Möglichkeit, die Aktivität (Aktionspotentiale) einzelnen Zellen aufgrund mehrerer, zeitgleich abgeleiteter extrazellulärer, elektrischer Signale zuordnen zu können [23].

Diese elektrischen Signale entstehen durch Ladungsänderungen an Zellmembranen. Um sie messen zu können, werden Elektroden benötigt. Beim „*Unitrecording*“ versucht man, mehrere Elektroden zu bündeln. Im vorgenommenen Versuchsaufbau wurden jeweils vier Elektroden zu einem Bündel (*Array*) zusammengefasst. Auf diese Weise entsteht eine Tetrode (Abbildung 3).

Mithilfe einer Tetrode können nun elektrische Potentialschwankungen im Bereich von wenigen mV gemessen werden. Die Messbarkeit einer Ladung nimmt aufgrund des elektrischen Widerstandes des leitenden Gewebes mit dem Abstand zu der messenden Elektrode ab.

Aufgrund des Abstandes der Einzelelektroden innerhalb einer Tetrode, der minimal der Dicke einer Einzelelektrode (17 μm) entspricht, stellt sich ein Aktionspotential in den unterschiedlichen Einzelelektroden der Tetrode unterschiedlich dar (Abbildung 6 B).

Es entsteht ein Muster, welches für eine Zelle spezifisch ist. Auf diese Weise kann man nun die in den jeweiligen Elektroden gemessenen Signale einzelnen Zellen zuordnen. Eine gute Beschreibung des „*Unitrecordings*“ findet sich bei Gray et al. [23].

Die Aufnahme des Signals erfolgte nicht kontinuierlich. War ein zuvor festgelegter Schwellenwert erreicht, wurde das Signal 200 μs vor und 800 μs nach dem Erreichen des Schwellenwertes aufgezeichnet.

2.1.2. Überblick System

Die im Folgenden beschriebenen, technischen Geräte wurden von der Firma Axona Ltd.² bezogen. Für die hier beschriebenen Versuche wurde das dacq Recording System verwendet. Es besteht aus folgenden Komponenten:

Microdrive, Verstärker Modul, Preamplifier Modul, Filter/Verstärker Modul, 4-Kanal Prozessor-Karte („*Digital Signal Processor*“, *DSP*) und einen PC

Zusätzliche Komponenten:

- Lautsprecher: geben ein akustisches Signal
- Bildschirm: zur Beobachtung des Versuchsraumes

Komponenten des Systems, die nicht von Axona Ltd. bezogen wurden:

- Kamera, zur Positionsbestimmung
- Kommutator („*Commutator*“), der eine ungestörte Übertragung des Signals bei Rotation des Versuchstieres gewährleistet

2 <http://www.axona.com>, Zugriff am 10.01.2009

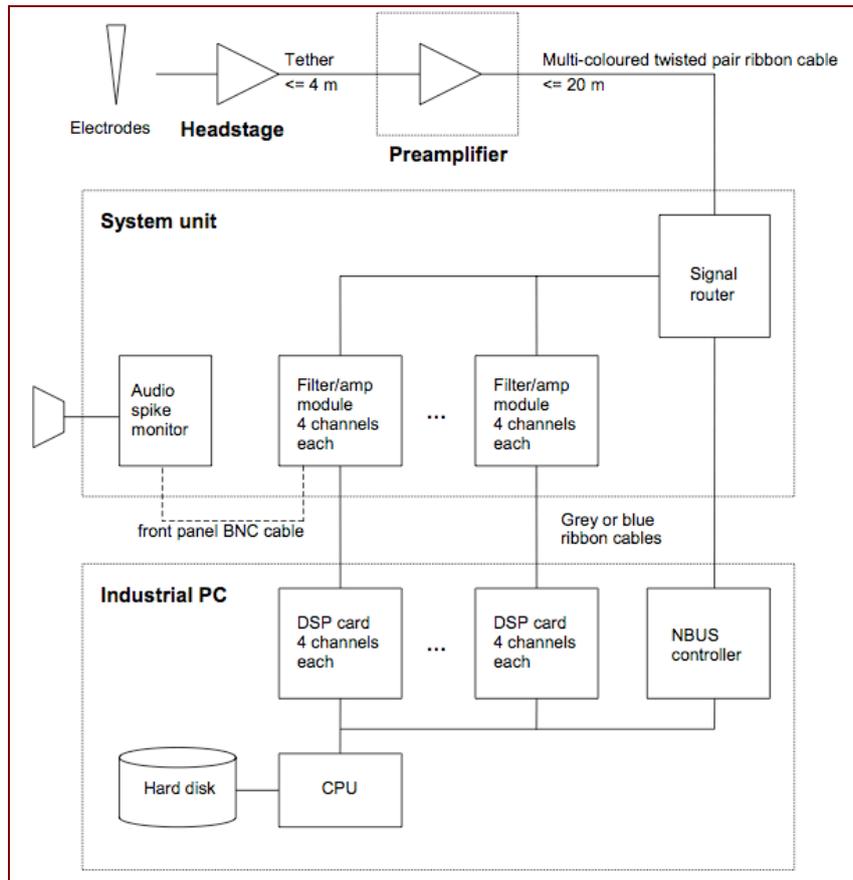


Abbildung 1: Überblick über das Recording System. [12]

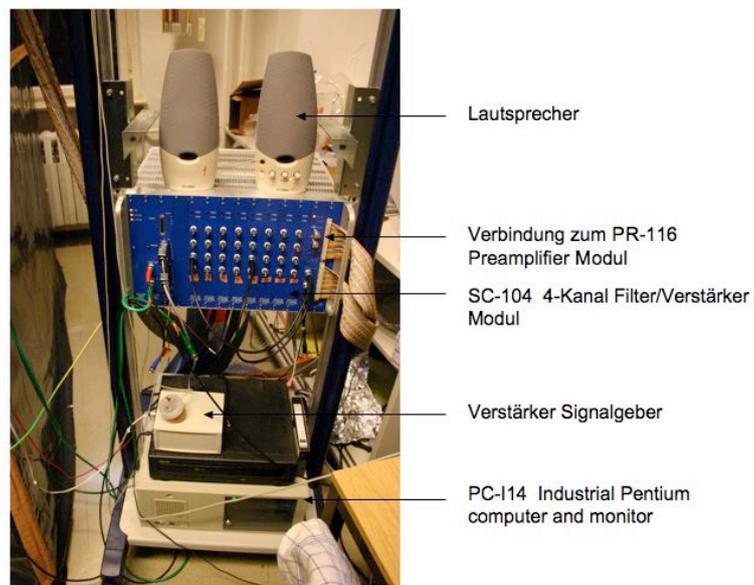


Abbildung 2: Überblick System

2.1.3. Tetroden

Tetroden werden wie oben beschrieben benötigt, um die gemessene elektrische Aktivität einzelnen Zellen zuordnen zu können. Eine Tetrode besteht aus 4 einzelnen Elektroden. Diese bestehen aus 17 µm starkem Draht, einer Legierung aus 90 % Platin und 10 % Iridium. Als Isolation ist dieser Draht mit einer Schicht Polyimid bedampft³.

Um eine ausreichende mechanische Stabilität der Tetroden zu gewährleisten, werden die einzelnen Drähte in sich verdrillt. Hierbei hat sich eine Anzahl von 50 Windungen /cm bewährt. Bei geringerem Abstand brechen die Elektroden, bei einem größeren Abstand zwischen den Windungen ist eine ausreichende mechanische Stabilität nicht mehr gewährleistet. Die Enden der Drähte spreizen sich in diesem Fall auseinander oder die ganze Tetrode verbiegt sich. Um die Tetroden herzustellen, wurden die Enden eines 20 cm langen Stückes des beschriebenen Drahtes mit einem 2,5 mm breiten und 10 mm langen hitzebeständigen Klebeband miteinander zu einem Kreis verbunden. Etwa 20 cm über einem Magnetrührgerät wurde ein Kreuz befestigt. Dieses bestand aus geschliffenem Aluminium. Drei der Enden des Kreuzes waren 10 mm lang, eines war 200 mm lang und diente der Befestigung. Die Enden besaßen eine Stärke von 5 x 5 mm. Die angefertigte Drahtschlinge wurde nun mit dem, dem Klebestreifen gegenüberliegenden Ende quer über das Kreuz gelegt, sodass das durch den Klebestreifen leicht beschwerte Ende über dem Magnetrührer hing. Mit einer anatomischen Pinzette⁴ wurde die Drahtschlinge am Klebeband gegriffen und einmal um sich selbst gedreht, sodass die Drahtschlinge eine „8“ beschrieb. Durch die beiden so entstandenen Öffnungen der „8“ wurde ein handelsüblicher Schraubhaken mit einem Durchmesser von 5 mm und einer Länge von 17 mm geführt und gleichzeitig das gegriffene Ende der Drahtschlinge wiederum quer über das Kreuz gelegt. Auf diese Weise entstanden vier nebeneinander hängende, gleich lange Stücke einer in sich gewundenen Drahtschlinge. Der Schraubhaken wurde nun mit einem handelsüblichen Heftclip gegriffen, an dem ein Magnetstab hing.

³ Material Nummer: 100167, California Fine Wire

⁴ Dumont #5, Fine Science Tools

Um den angestrebten Abstand zwischen den Windungen zu erzielen, wurde nun der Magnetprüher langsam auf 200 Umdrehungen /min eingestellt und so lange betrieben, bis der Scheitelpunkt der Drähte sich etwa bis 7 mm unterhalb des Kreuzes gewunden hatte.

Mit einer Heiluftpistole⁵ wurde die Isolierung nun für 2 min auf etwa 200 C erhitzt und zum Schmelzen gebracht. Dies führte dazu, dass die einzelnen Drähte der Tetrode aneinander und in der Windung fixiert wurden.

Nachdem sich die Tetrode ausgependelt hatte, wurde die Hand unter den Magneten geführt und die Tetrode kurz über der Stelle abgeschnitten, an der sich der Draht um den Schraubenhaken spreizt. Hierzu wurde eine Sklerenschere (*Fine Science Tools*) verwendet. Mit dieser Schere wurden auch die Enden der Drähte über dem Kreuz abgeschnitten. Die vier langen Enden der Drähte an der Basis der Tetrode wurden nun im selben Arbeitsschritt auf den Rand der Petrischale gelegt und in die Flamme eines handelsüblichen Feuerzeugs gehalten, bis sie rot aufzuglhen begannen. Dadurch konnte die Polyimidisolierung an diesen Enden komplett abisoliert werden, um eine Verbindung mit der Elektrodenhalterung zu ermöglichen.

2.1.4. Elektrodenhalterung („*Microdrive*“)

2.1.4.1. Vorbereitung eines *Microdrives*

Die Elektrodenhalterung (*Microdrive*) soll eine Verbindung der empfindlichen Tetroden mit dem Kopfverstärker (*Headstage*) gewährleisten und eine vertikale Bewegung der Tetroden ermöglichen, um diese bis in die gewünschte Schicht zu bewegen. In diesem Versuch wurden ausschließlich *Microdrives* der Firma Axona Ltd. verwendet, diese sind etwa 1,5 g leicht, um von den Tieren getragen werden zu können. Eine bereits mit Tetroden bestückte Elektrodenhalterung ist in Abbildung 3 dargestellt.

Herzstück dieser Elektrodenhalterung, wie es in der firmeneigenen Beschreibung heißt, ist eine Przisionsschraube mit einer Gewindeweite von 200 m. Diese ermöglicht eine Auf- und Abbewegung der Elektroden um 25 m. Befestigt an dieser

⁵ Steinel HL 1610 S

Präzisionsschraube sind die 4 mal 4 Kontaktierstifte (*Pins*) die später mit je einer Elektrode der Tetroden verbunden werden sollen, sowie ein freier Kontaktierstift um eine Erdung anzuschließen. Ein solches *Microdrive* ermöglicht die Ableitung von 16 Einzelkanälen, also 4 Tetroden. Die in Abbildung 3 dargestellte schwarze Struktur auf der rechten Seite des Bildes fixiert die 17 Kontaktierstifte und gewährleistet die spätere Verbindung mit dem Headstage. Die Kontaktierstifte gehen am anderen Ende in 17 Drähte über, von denen jeweils vier in den Farben rot, blau, grün und weiß isoliert sind und einer, die spätere Erdung, in der Farbe schwarz. Zwischen den Drähten der vier Tetroden befindet sich eine Kanüle, die zur Führung der Tetroden dient.

Um *Microdrives* mit den Tetroden bestücken zu können, mussten sie vorbereitet werden. Die Füße, die man am unteren Ende in Abbildung 3 sehen kann, wurden von 6 mm auf etwa 3mm gekürzt, um die Implantation von zwei *Microdrives* pro Versuchstier zu ermöglichen.

Eine Kanüle (8 G) wurde mit Hilfe eines Dremels⁶ auf 12 mm geschnitten. Eine zweite Kanüle (16 G) auf etwa 6 mm. Die längere, innere Kanüle wurde nun mittels einer dritten Hand⁷, und mittels eines durch die Kanüle gezogenen Drahtes zwischen den langen Enden der isolierten Drähte so fixiert, dass das Ende der Kanüle mit dem oberen Ende der Drähte bündig war. In dieser Position wurde die Kanüle mit Paladur® Zahnzement⁸ fixiert. Nach dem Aushärten des Zahnzements konnte die Vorbereitung fortgesetzt werden. Die isolierten Drähte wurden mit einem Skalpell und der Pinzette unter einem Auflichtmikroskop⁹ auf 2,5 mm abisoliert. Über die innere Kanüle, die zur Führung der Tetroden dient, wurde nun die kürzere äußere Kanüle geschoben und mit etwas Knetmasse am ausgehärteten Zahnzement fixiert. Diese soll nach Implantation an der Schädeldecke fixiert werden und der inneren Kanüle als Führung dienen (Abbildung 4).

Ein 40 mm langer, isolierter Kupferdraht wurde an beiden Enden mit Hilfe eines Skalpells abisoliert und mit einem Tröpfchen Löt-Zinn¹⁰ am *Microdrive* befestigt.

6 <http://www.dremeurope.com>, Zugriff am 13.02.2008

7 Dritte Hand, Conrad Electronic SE

8 Heraeus Kulzer Laboratory

9 Stemi SV 6 Auflichtmikroskop, Zeiss

10 Stannol® – Lötendraht HS 10, Kolophonium, #535251

2.1.4.2. Präparation eines *Microdrives*

Vor der Implantation eines *Microdrives*, muss dieses mit den Tetroden verbunden werden. Da diese sehr dünn (17 μm) sind und die Isolierung sehr fragil ist, wurde der Großteil der nachfolgend beschriebenen Tätigkeiten unter dem Auflichtmikroskop durchgeführt. Die Tetroden wurden nacheinander mit einer gummierten Pinzette durch die innere Kanüle geleitet. Die vier Enden der Tetrodenbasis wurden nun jeweils mit der spitzen Pinzette gegriffen und von der gummierten Pinzette unter den isolierten Drähten hindurch geleitet. Sie wurden mit mindestens 3 Windungen um die abisolierten Enden der Drähte gewickelt. Nachdem eine Tetrode auf diese Weise mit dem *Microdrive* verbunden worden war, wurden die isolierten Drähte mit einer Pinzette möglichst dicht an den Zahnzement gebogen. Eine elektrische Verbindung der Einzelelektroden wurde durch einen Vergleich der Widerstände, gemessen mit einem Widerstandsmesser¹¹, kontrolliert. Tetroden, bei denen ein Widerstand, $R < 100 \text{ M}\Omega$, zwischen den einzelnen Pins, gemessen wurde, wurden auf das eventuelle Vorliegen einer Verbindung im Bereich der abisolierten Drähte kontrolliert. Sofern dies nicht der Fall war entfernt und verworfen. Die äußere Reihe der abisolierten Drähte wurde entsprechend der inneren mit den Tetrodenenden verbunden. Danach wurden die Tetrodenenden zwischen der inneren und äußeren Reihe isolierter Drähte hindurchgeführt.

11 Impedance Check, FHC, USA

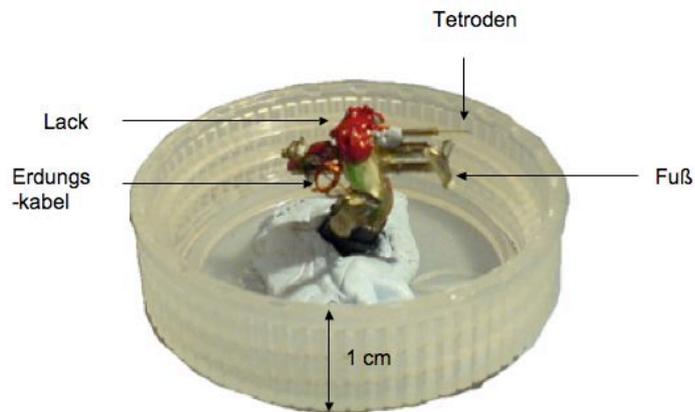


Abbildung 3: Elektrodenhalterung (*Microdrive*) vor Implantation

Diese elektrische Verbindung wurde nun mit einem Tropfen Silberleitlack¹² verbessert und auch mechanisch stabilisiert.

Der Gesamtwiderstand von Tetroden und den Kontaktierstiften wurde gemessen. Eine Verbindung mit dem unteren Ende der Tetroden wurde durch das Eintauchen der Tetrodenspitzen in ein 25 ml Glas gewährleistet, das mit Artifizierter Cerebrospinaler Flüssigkeit, (*ACSF*¹³), gefüllt war.

Um zu überprüfen, ob die Isolationsschicht der Tetroden durch das Erhitzen beim Tetrodenbau beschädigt worden ist, wurden die Tetroden soweit in die *ACSF* getaucht, bis sich die innere Kanüle kurz über dem Flüssigkeitsspiegel befand. Der positive Pol einer 9 V Batterie wurde mit den Pins, der negative mit der *ACSF* verbunden. An den Spitzen der Tetroden sowie an Stellen, an denen die Polyimidisolationsschicht zerstört war, bildeten sich kleine Bläschen, als Zeichen einer Gasentwicklung, die durch das Auflichtmikroskop beobachtet werden konnten.

¹² Silberleitlack, Busch GmbH

¹³ *ACSF*: 129 mM Natriumchlorid, 1,25 mM Natriumdihydrogenphosphat, 10,0 mM Glukose, 1,8 mM Magnesiumsulfat, 3,0 mM Kaliumchlorid, 1,6 mM Calciumchlorid, 21,0 mM Natriumhydrogencarbonat

Um nun die Widerstände der Tetroden zu verbessern und auf ein möglichst einheitliches Niveau einzustellen, wurden deren Spitzen mit einer Platinumlösung¹⁴ beschichtet.

Zum mechanischen Schutz der Tetroden und des *Microdrives* wurde die Verbindung, wie in Abbildung 3 dargestellt, mit nichtleitendem Lack¹⁵ überzogen.

2.1.5. Kopfverstärker

Das HS-132/HS-116/HS-108 16-Kanal Kopf-Verstärker-Modul (*Headstage*) ermöglichte während des Versuches eine Verbindung mit dem *Microdrive* und verstärkt gleichzeitig das gewonnene Signal um den Faktor 1000. Der Kopfverstärker war über ein bis zu 3 m langes flexibles und isoliertes Kabel mit dem Kommutator verbunden. Eine Infrarot Leuchtdiode wurde mit dem Kopfverstärker verbunden. Das Infrarotlicht konnte von der Kamera aufgenommen werden und war für die Versuchstiere nicht sichtbar. Der sichtbare Spektralbereich der Ratte (*Long-Evans hooded*) endet oberhalb von 620 nm, es kann davon ausgegangen werden [6], [67], dass Licht im infraroten Teil des Spektrums für die *Lister hooded*-Ratte (s.u.) ebenfalls nicht sichtbar ist.

2.1.6. Kommutator

Für die durchgeführten Versuche wurde der „42-Kanal slip-ring Kommutator“ der Firma Neuralynx verwendet. Dieser ermöglicht, dass sich das flexible Kabel zwischen Kopfverstärker und Vorverstärker beliebig oft um sich selbst drehen kann. Dies wurde bei leichter Rotation durch einen geräuscharmen Elektromotor unterstützt. Der Kommutator war auf ein Schienensystem montiert und konnte zwischen den Versuchsräumen bewegt werden, ohne das *Microdrive* zu diskonnektieren.

14 Eine 5 % Dihydrogen hexachlorplatinat hexahydrat Lösung wird hierzu mit eine 0,17 % Gelatinelösung (1:1) gemischt. Nach vollständiger Lösung auf 60 °C erhitzt und gefiltert.

15 Satin Spice, Boots Nottingham, England

2.1.7. Verstärkung und Filter

Das PR-116 16-Kanal-Vorverstärker-Modul (*Preamplifier*) verstärkt das gewonnene Signal um den Faktor 1000, sodass eine Verbindung mit dem Filter/Verstärker-Modul erfolgen kann.

Im SC-104 4-Kanal Filter/Verstärker Modul wird das gemessene Signal variabel um den Faktor 0,25 bis 64 verstärkt und hoch- und tiefpassgefiltert. Die einzelnen Elektrodenkanäle wurden unanhängig voneinander verstärkt und gefiltert, um möglichst viele Units ableiten zu können. Bei den hier beschriebenen Versuchen wurden ein digitaler Hochpassfilter von 600 Hz und ein digitaler Tiefpassfilter von 6000 Hz eingesetzt. Das Signal wurde hier noch einmal zwischen 10000- und 25000fach verstärkt.

Der PC ist mit einer Datenerfassungssoftware ausgerüstet, die Daten während eines Versuches in Echtzeit auf einer Festplatte speichert und anzeigt. Die Aufnahme der Daten der Spikes erfolgte mit einer Frequenz von 48000 Hz. Die Aufnahme der EEG-Daten erfolgte mit einer Frequenz von 250 Hz. Die Position des Versuchstieres im Raum wurde mit einer Frequenz von 50 Hz aufgezeichnet.

Die Aufnahme des Videosignals erfolgte mit einer Kamera¹⁶. Das Objektiv wurde manuell fokussiert und die Vergrößerung anhand von Markierungen auf dem Monitor eingestellt. Durch die Fixierung einer Kamera an jeder Decke eines Versuchsaumes und über der Box (s.u.) musste diese Einstellung nur beim ersten Anschließen einer Kamera vorgenommen werden. Die Einstellungen der Ausdehnung des aufgenommenen Fensters, des Kontrastes, der Helligkeit sowie der Empfindlichkeit für das aufzuzeichnende Infrarotsignal wurden digital vorgenommen.

Der im dacq-System enthaltene „Videotracker“ erkannte anhand starker Kontraste des durch die Kamera aufgenommenen Videosignals das Infrarotlicht und damit die Position des Versuchstieres.

¹⁶ Bosch CCD-Kamera

2.2. Versuchstiere und Haltung

Die Versuchreihe unterlag den Richtlinien für die Durchführung von Tierversuchen nach § 2 und §8 des Tierschutzgesetzes. Die Versuche wurden vom Landesamt für Gesundheit und Soziales in Berlin genehmigt (Bearbeitungsnummer G 0186/04). Die Versuchstiere wurden von Charles River¹⁷ bezogen. *Microdrives* wurden 39 männlichen *Lister hooded*-Ratten implantiert. Das Gewicht der Tiere zum Zeitpunkt der Implantation lag zwischen 250 g und 300 g. Die Versuchstiere waren vor der Implantation in Gruppen zu je vier Tieren untergebracht. Die Umgebung der Tiere wurde durch die Zugabe einer 12 cm durchmessenden Plastikröhre unterschiedlicher Länge angereichert [97]. Nach der Implantation erfolgte eine Einzelhaltung in Haltungsboxen (40 cm x 25 cm x 23 cm). Die Ratten wurden einem künstlichen Tag/Nachtrythmus von je 12 Stunden ausgesetzt. Die Haltung erfolgte im Laminar Air Flow Schrankregal (*LAF*) bei einer Raumtemperatur von 21 °C und einer relativen Luftfeuchtigkeit von 74 %. Die Tiere hatten vor der Operation freien Zugang zu Wasser und Standardtierfutter¹⁸ und wurden vier Wochen vor Implantation durch individuelle Fütterung auf 80 % ihrer natürlichen Gewichtszunahme gehalten. Nach der Implantation hatten die Tiere für einige Tag freien Zugang zu Wasser und Futter. In den Versuchsperioden wurde den Tieren der Zugang zu Wasser nur zwei Stunden nach den jeweiligen Versuchen gewährt. Sämtliche Tiere wurden zwei Wochen vor Implantation schrittweise an den Versucher und den Versuchsraum gewöhnt.

2.3. Implantation

Die Tiere wurden mit Avertin (Tribromethylalkohol) narkotisiert. Hierzu wurde 1 ml Avertin pro 100 g Körpergewicht intraperitoneal injiziert. Sobald die Tiere anästhesiert waren, wurde die Kopfhaut rasiert. Die Ratten wurden danach zur Fixierung in einen Stereotaxierahmen eingespannt (Abbildung 4 C). Um eine Auskühlung zu verhindern, wurden die Tiere mit Zellstoff unterlegt und umwickelt. Mit

17 Charles River Wiga GmbH

18 V 1535-000, ssniff Spezialdiäten GmbH

einem Skalpell wurde die Kopfhaut median eingeschnitten (ca. 1,5 cm) und der Schädelknochen durch Abschaben des Periosts freigelegt, um einen besseren Überblick über die Knochennähte zu erhalten. Die im Folgenden genannten Koordinaten beziehen sich auf die dargestellten Suturen Bregma und Lambda (Abbildung 4 A). Sie wurden aus dem Atlas „The Rat Brain“ [65] bestimmt. Die Kopfhaut wurde durch Nadelhalter gespreizt gehalten. Der Schädelknochen wurde mit einem Skalpell eingeritzt. Zwei verschiedene Arten von Schrauben kamen zum Einsatz, wobei die einen allein der Fixierung, die anderen sowohl zur Fixierung als auch als elektrische Verbindung für die Erdung dienten. Über den Koordinaten für die Fixationsschrauben wurde die Schädeldecke mit einem elektrischen Zahnbohrer etwa 1,5 mm tief und 1 mm breit angebohrt und die sterilen Schrauben darin fixiert. Dabei handelte es sich um 2 mm lange Schlitzschrauben mit einem 1,5 mm breiten Kopf. Bei den seitlichen Fixationsschrauben musste zuvor der Schläfenmuskel (Muskulus temporalis) mit dem Skalpell abgelöst werden. Die Erdungsschrauben wurden in gleicher Weise implantiert; jeweils eine in jeder Hemisphäre. Dabei handelte es sich um 4 mm lange Kreuzschlitzschrauben mit einem 1 mm breiten Kopf. Die Fixationsschrauben wurden 15 mm dorsal und 20 mm lateral von Bregma fixiert.

Über den Implantationskoordinaten (anteroposterior, 3.5; lateral, 3) wurde mit einem elektrischen Zahnbohrer unter Kontrolle eines Auflichtmikroskopes die Schädeldecke eröffnet. Dies geschah unter Erhaltung der harten Hirnhaut. Die entstandene Öffnung hatte einen Durchmesser von etwa 1 mm.

Waren die Schrauben befestigt, wurde die Dura mater eröffnet und ein präpariertes *Microdrive* in der gewünschten Position fixiert. Unter dem Auflichtmikroskop wurde das entstandene Schädelfenster um die Tetroden herum mit Silikonmasse ausgefüllt. Die äußere Kanüle wurde gelöst, sodass sie mit der Schädeldecke bündig schloss (Abbildung 4 B). Das Erdungskabel des *Microdrives* wurde nun mit der Erdungsschraube der entsprechenden Hemisphäre durch mehrfaches Umwickeln des Schraubenkopfes und das Auftragen eines Tropfens Silberleitlack verbunden. War dieser Silberleitlack getrocknet, wurde die entsprechende Hemisphäre mit einer 3 mm dicken Schicht Zahnzement¹⁹ bedeckt. Diese Schicht bedeckte und fixierte

¹⁹ Paladur, Heraeus GmbH, Wehrheim/Ts, D

sowohl die äußere Kanüle als auch den Fuß des *Microdrives*.

Der Operationssitus wurde abschließend mit Wasserstoffperoxid desinfiziert.

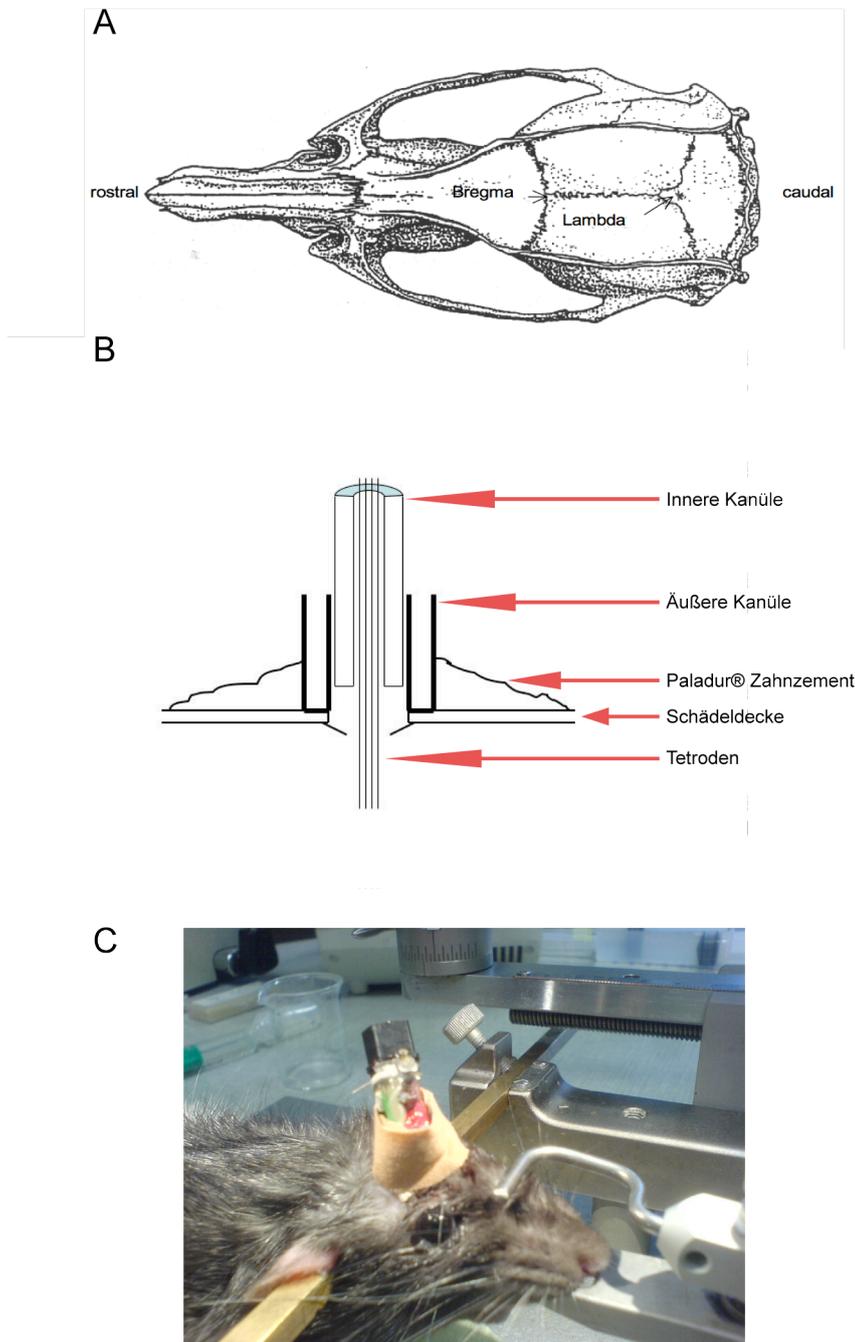


Abbildung 4: A stellt Aufsicht des Schädels einer adulten Ratte nach George Paxinos und Charles Watson 1998 mit Darstellung von Bregma und Lambda dar [65] **B** zeigt schematisch die Implantation, die vier Tetroden werden durch die innere Kanüle geleitet. Die äußere Kanüle dichtet bis zur Schädeldecke ab und ist mit dieser durch Zahnzement fest verbunden. **C** zeigt ein Versuchstier kurz nach der Implantation eines bestückten *Microdrives* noch im Stereotaxierrahmen.

2.4. Versuchsraum

Die Versuche wurden in einem 8 m mal 5 m großen Raum durchgeführt. In diesem befanden sich zwei 2,5 m mal 2,5 m große Versuchsräume (Raum 1 und Raum 2), die jeweils durch lichtundurchlässige Folie abgedunkelt waren. An den Decken jedes Versuchsraumes war ein schwarzer Leinenvorhang kreisförmig mit einem Durchmesser von 2 m aufgehängt. In jedem der Versuchsräume befand sich ein schwarz lackierter, kreisförmiger Versuchstisch (*Maze*) mit einem inneren Radius von 0,25 m und einem äußeren Radius von 0,35 m (Abbildung 5). Der Versuchstisch war auf drei jeweils 1 m hohen Füßen befestigt. An der Unterseite des Versuchstisches waren diese Füße durch Leinenvorhänge, die bis zum Boden reichten, verkleidet. In den Boden des Versuchstisches waren im Abstand von 15,7 cm konische Senken eingefräßt, in die über eine auf der Unterseite befindliche Kanüle Flüssigkeiten auf den Versuchstisch gegeben werden konnten. Beide Versuchstische konnten über eine 2 m lange Brücke aus Metall verbunden werden.

An den äußeren Vorhängen befanden sich 8 Schnüre, an denen visuelle Orientierungshilfen (*cues*) befestigt werden konnten. Je drei bis vier Orientierungspunkte aus unterschiedlichen Materialien und in unterschiedlichen Formen wurden genutzt, um die Versuchsräume voneinander zu unterscheiden.

Zwischen den beiden Räumen befand sich die Box, eine 50 cm x 50 cm x 40 cm hohe, oben und unten offene Abtrennung. Drei Wände der Box bestanden aus Aluminium und waren geerdet. Die vierte Wand bestand aus transparentem Acrylglas.

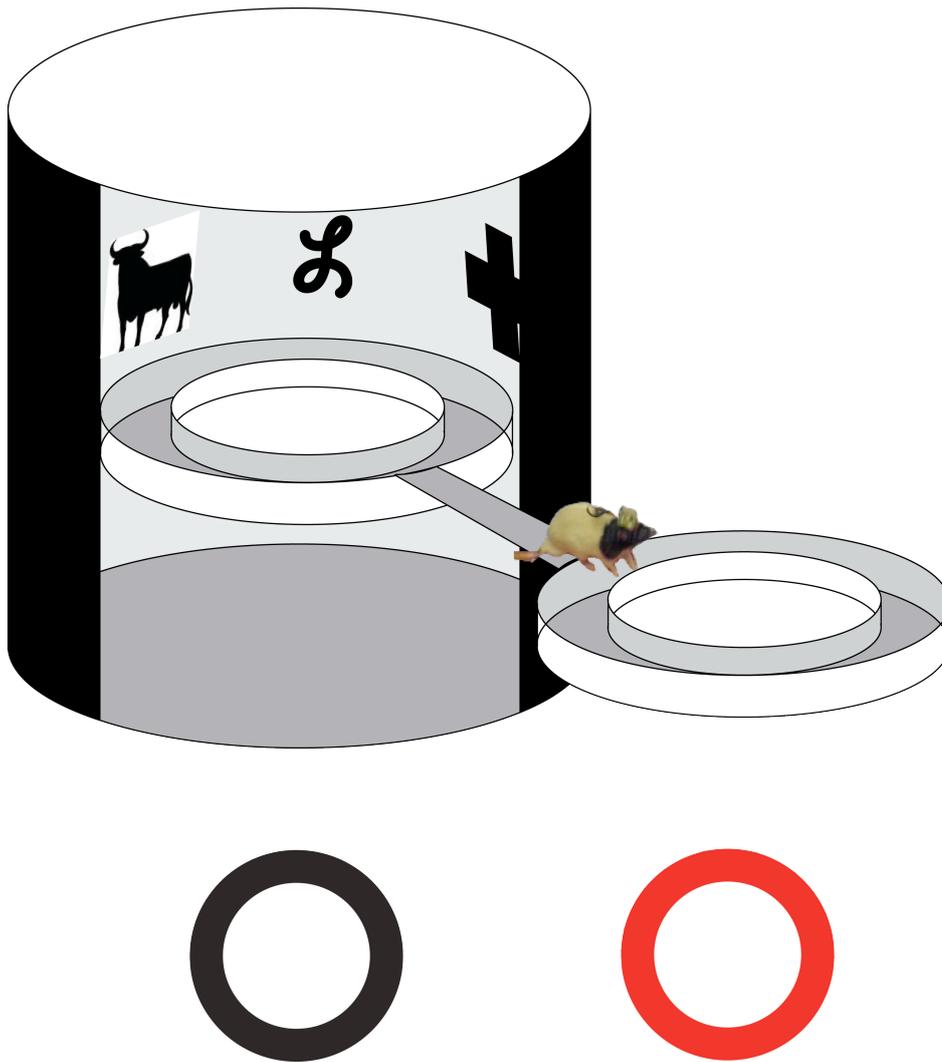


Abbildung 5: Schematische Darstellung des Versuchsraumes. Beide ringförmigen Versuchstische waren hinter schwarzen Vorhängen vom Rest des Raumes getrennt und konnten durch eine Brücke verbunden werden. In den weiteren Abbildungen wird die bekannte Umgebung durch einen schwarzen Ring, die neue Umgebung durch einen roten Ring stilisiert.

2.5. Spikesorting

Die abgeleiteten extrazellulären Potentiale mussten einzelnen Zellen zugeordnet werden. Zum Sortieren (*Spikesorting*) wurde die von Axona Ltd. zur Verfügung gestellte Software Tint verwendet. Eine gute Beschreibung des *Spikesortings* mit Hilfe dieser Software findet sich bei Leutgeb et al. [36]. Näheres siehe Abbildung 6.

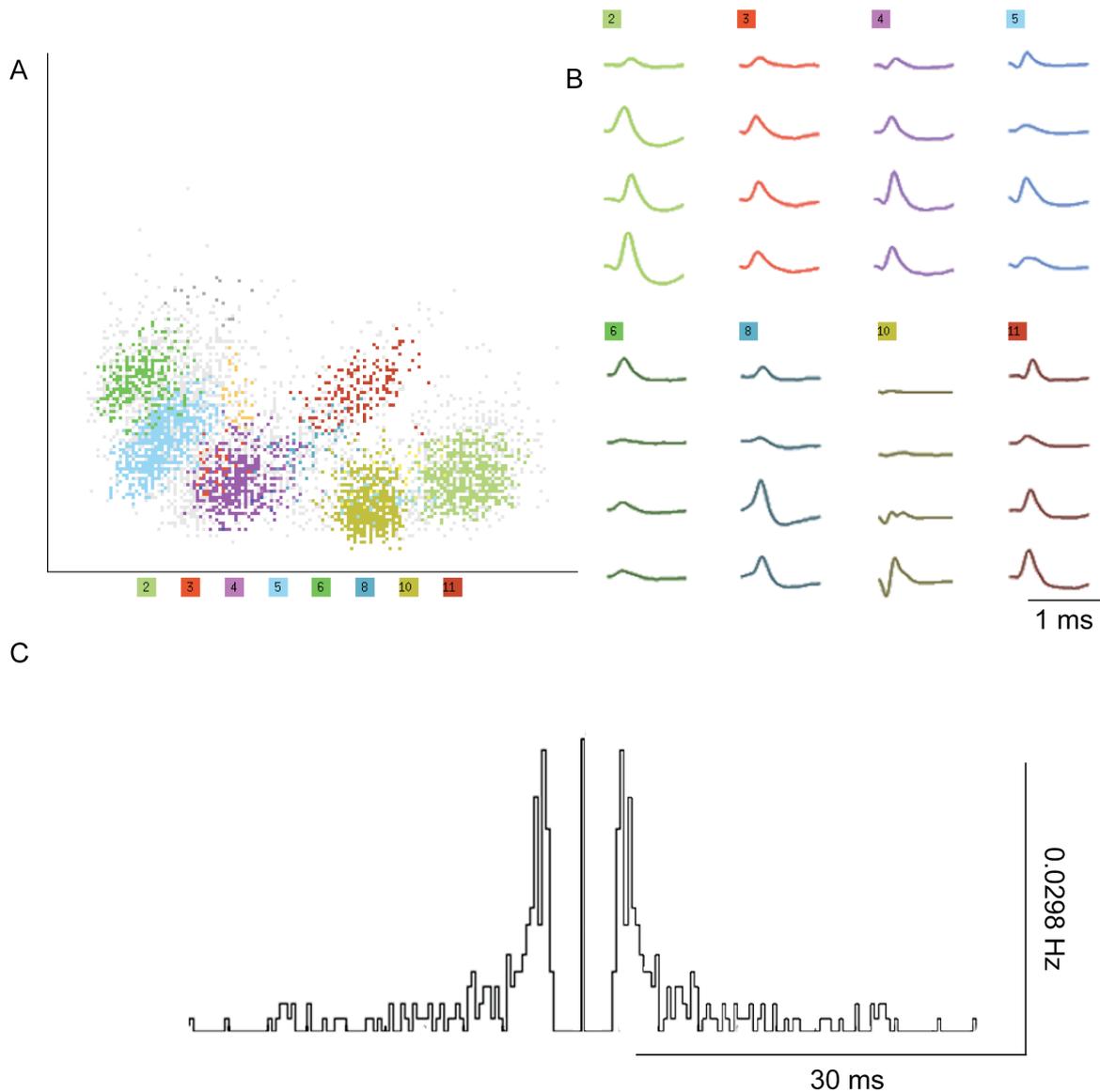


Abbildung 6: **A** zeigt die Darstellung aller während einer *Versuchseinheit* in einer Tetrode aufgenommenen extrazellulären Potentiale. Diese wurden nach der Amplitude in zwei Tetrodenkanälen aufgetragen. Jeder farbige Punkt stellt einen *Spike* dar. Diese können nun anhand ähnlicher Eigenschaften den jeweiligen Zellen zugeordnet werden. Die Zellen 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10 und 11 sind in den dazugehörigen, farblich markierten Quadraten dargestellt. **B** zeigt die für diese Zellen gemittelte *Spike*-Form, abgeleitet in allen vier Kanälen einer Tetrode. **C** stellt die Autokorrelation aller *Spikes* und deren Zeitpunkt des Auftretens von Zelle 2 dar. Das Maximum bei 0 ms entspricht 0.644 Hz. Das häufige Auftreten von Intervallen zwischen 3 und 5 ms, zeigt an, dass es sich um eine Komplexzelle handelt.

2.6. Statistische Auswertung

Das von Axona zur Verfügung gestellte Programm FRate v2.4 erstellte Tabellen der durch Tint bearbeiteten Rohdatensätze. Diese Tabellen wurden im *txt*-Format gespeichert. Die statistische Auswertung erfolgte mit dem Programm *Matlab*²⁰.

Für die univariate Varianzanalyse von mehr als zwei Mengen wurde eine *analysis of variance* (ANOVA) durchgeführt. Der Wilcoxon-Rangsummentest wurde für die Testung der Übereinstimmung von Verteilungen verwendet. Zur Testung der Einheit einer normalverteilten Grundgesamtheit kam der gepaarte T-Test zum Einsatz. Die deskriptiven Statistiken für absolute und relative Häufigkeiten sind als Mittelwert \pm Standardabweichung (SD) angegeben.

2.6.1. Grafische Darstellung

Alle Grafiken wurden mit dem Programm Matlab erstellt und mit dem Programm Illustrator²¹ formatiert. Abbildungen mit Photographien sowie die histologischen Abbildungen wurden mit dem Programm Photoshop²² bearbeitet.

2.7. Mehrfache Ableitung einer Zelle

Die Implantation von vier Tetroden pro Hemisphäre durch ein *Microdrive* macht es möglich, dass Zellen in mehreren unterschiedlichen Tetroden zur selben Zeit abgeleitet werden. Durch die unterschiedlichen Abstände zu den Tetroden wäre dies beim Sortieren nicht aufgefallen. Um diese Möglichkeit auszuschließen, wurde der Zeitpunkt des Auftretens jedes extrazellulär abgeleiteten Potentials einer Zelle mit dem Zeitpunkt aller anderen Zellen korreliert. Dies geschah auch mit den Zellen, die in den anderen drei Tetroden abgeleitet wurden. Die entstandenen Korrelationen wurden als Säulen in einem Diagramm mit einem Intervall von 1 ms im Bereich von

20 Matlab[®] 7, TheMathWorks Inc.

21 Adobe[®] Illustrator[®] CS3 13.0.0

22 Adobe[®] Photoshop[®] CS3 Extended Version 10.0

30 ms dargestellt (ähnlich Abbildung 6 C). Durch die Tendenz hippokampaler Pyramidenzellen in Salven zu feuern, zeigten die dargestellten Korrelationen einen exponentiellen Verlauf. Dies geschah sobald beide Zellen Signale von einer realen Zelle enthielten. Dieser Verlauf glich dem einer Autokorrelation. Entsprechende Zellen wurden von der weiteren Auswertung ausgeschlossen.

2.8. Analyse der Platzfelder

Es haben sich verschiedene Methoden zur Analyse des Platzzellverhaltens etabliert. Im Folgenden werden diese vorgestellt.

2.8.1. Räumliche Kohärenz

Die räumliche Kohärenz (*Spatial Coherence*) ist die Autokorrelation erster Ordnung der Flächenrate. Die Frequenz einer Zelle pro Bildpunkt wird dafür mit der gemittelten Frequenz dieser Zelle in den angrenzenden Bildpunkten korreliert. Die Korrelationskoeffizienten sind dabei nicht normal verteilt [2]. Um die Verteilung der Korrelationskoeffizienten approximativ zu normalisieren, wurden die errechneten Werte durch die Fischer Z-Transformation transformiert [20], [56], [70]. Damit ist die räumliche Kohärenz ein Maß für die Wahrscheinlichkeit, mit der die Frequenz in diesem Bildpunkt durch die in den benachbarten Bildpunkten vorhersagbar ist und damit ein Maß für die Selektivität einer Platzzelle für ein Platzfeld [87].

2.8.2. Informationsrate

Die Informationsrate, gemessen in bits pro Sekunde, gibt die Informationsdichte an, die ein einzelnes abgeleitetes Aktionspotential enthält.

Sie wird folgendermaßen berechnet:

$$\text{Informationsrate} = \sum p_i \lambda_i \log_2 \frac{\lambda_i}{\lambda}$$

Dabei ist λ die durchschnittliche Entladungsrate der Zelle, λ_i ist die durchschnittliche Entladungsrate einer Zelle in dem Bildpunkt i und p_i ist die Wahrscheinlichkeit, dass

ein Versuchstier sich während dem gesamten Versuchsabschnitt in diesem Bildpunkt i aufhält. Damit ist die Informationsrate ein Maß für die Spezifität einer Platzzelle für das von ihr repräsentierte Platzfeld [20]. Wenn eine Zelle über die ganze Fläche des Raumes aktiv ist, so ist die Informationsrate eines abgeleiteten Aktionspotentials dieser Zelle gleich Null; ist diese Zelle über die Hälfte des Raumes aktiv, so ist die Informationsrate gleich 1 usw. [76].

2.8.3. „Sparsity“

Seit Skaggs et al. 1996 wurde die *Sparsity*, wörtlich übersetzt als „die Seltenheit“, errechnet [76]. Diese gibt den Anteil des Raumes von dem vom Versuchstier besuchten Raum wieder, in dem eine Zelle aktiv ist. Die *Sparsity* errechnet sich folgendermaßen:

$$Sparsity = \frac{\lambda^2}{\sum p_i \lambda_i^2}$$

Dabei ist λ die durchschnittliche Frequenz der Zelle in allen Bildpunkten, λ_i die Frequenz in Bildpunkt i und p_i die Wahrscheinlichkeit, dass sich das Versuchstier an diesem Ort aufhält. Eine *Sparsity* von 0,1 bedeutet also, dass das Platzfeld dieser Zelle 1/10 der Fläche bedeckt, die das Versuchstier besucht hat.

Sowohl die *Sparsity* als auch die Informationsrate haben sich, im Gegensatz zu den reinen Flächenrate (s.u.), als verlässlichere Parameter erwiesen, da die maximale Frequenz einer Zelle, die an einem Ort vorherrscht, nicht exakt gemessen werden kann. Versuche haben ergeben, dass die *Sparsity* und die Informationsrate eine Verlässlichkeit von 20 % Genauigkeit gewähren, sofern mehr als 50 extrazelluläre Potentiale abgeleitet wurden und der Großteil des Versuchstisches vom Versuchstier durchquert worden ist [76].

2.8.4. Korrelationen der Flächenraten

Die Darstellung der Frequenz, also der Entladungsrate pro Fläche, ist die klassische Darstellung der Platzfelder. Die Rate wurde als Produkt der Gesamtzahl aller abgeleiteten Potentiale einer Zelle dividiert durch die Zeit, die das Versuchstier pro Flächeneinheit verbraucht hat, errechnet [55], [87]. Die Korrelationen der Flächenraten sind unabhängig von der Größenausdehnung des Platzfeldes [37].

2.8.4.1. Glättung der Flächenrate

Die Positionsdaten wurden zu Bildpunkten zusammengefasst. Diesen wurden die einzelnen, abgeleiteten Potentiale zugeordnet. Als Bildpunkt wurde eine quadratische Fläche mit einer Kantenlänge von 2,5 cm angesehen. Eine direkte Darstellung der Rate mit diesen Bildpunkten erscheint uneben und unnatürlich. Um eine realistischere Darstellung zu erhalten, wurden die Flächenraten geglättet [20]. Dazu wurde die Entladungsrate eines Bildpunktes aus den 8 umliegenden Bildpunkten mittels einer Gaußsche Verteilung bestimmt. Die Entladungsrate in jedem Bildpunkt errechnet sich also aus dem Mittelwert der 8 umliegenden Bildpunkte in einer Gaußschen Verteilung.

2.9. Analyse der Entladungsraten nach Segmenten

Da die Versuche auf einem ringförmigen Versuchstisch durchgeführt wurden, konnten die Frequenzen nach einzelnen Segmenten dieses Ringes, ähnlich einem Tortendiagramm, analysiert werden. Hierzu wurden die Positionsdaten in 40 Segmente eingeteilt. Die Entladungsrate der Zellen in diesen Segmenten, die sogenannten Segmentraten, wurde berechnet. Bei der Analyse nach Segmenten wurden Platzfelder definiert, als die nebeneinander liegenden Segmente, in denen die Frequenz das Dreifache der mittleren Frequenz aller Segmente übersteigt. Es wurden nur Platzfelder zugelassen, die mindestens 2 und höchstens 20 zusammenhängende Segmente einnahmen.

2.10. Rotationsanalyse

Um eine identische neuronale Repräsentation der beiden Umgebungen auszuschließen, wurde eine Rotationsanalyse vorgenommen. Dabei sollte ausgeschlossen werden, dass die Platzfelder aus Sicht des Versuchstieres, welches den Versuchstisch über die Brücke betritt, des einen Versuchstisches dem des anderen gleichen. Dafür wurden die Flächenraten um 180° gedreht und die Segmentraten um 180° verschoben.

2.11. Elektroenzephalogramm

Pro Hemisphäre wurde je eine Einzelelektrode zur Ableitung eines Massenpotentials verwendet. Das Massenpotential wurde mit einer Digitalisierungsrate von 250 Hz aufgezeichnet. Der so erhaltene Vektor wurde mit einer Analyse der Powerspektraldichte nach Welch unterzogen, um die Stärke eines Frequenzbereiches zu bestimmen. Diese Spektralanalyse wurde mit einem Zeitfenster von 1 min sowie mit einem Zeitfenster von 30 s vorgenommen. Die durch diese Zeitfensterung entstandenen Segmente überlappten sich jeweils zu 50 %.

Aus der Powerspektrumsdichte wurden Theta-, Gamma- und Delta-Oszillationen integriert und deren Maximalwerte bestimmt. Anhand der aufgezeichneten Position des Versuchstieres wurde die Geschwindigkeit, mit der sich die Ratte bewegte bestimmt. Episoden, in denen sich das Versuchstier bewegte ($v > 3$ m/s) sowie Episoden der Bewegungslosigkeit ($v < 3$ m/s) wurden für die Auswertung des Massenpotentials getrennt betrachtet. Anhand der Aufzeichnung von 250 Hz konnten keine *Sharp-wave Ripples* (s.u.) (> 200 Hz) detektiert werden.

2.12. Transkardiale Perfusionsfixierung

Zur histologischen Nachuntersuchungen der Gehirne wurden die Versuchstiere transkardial perfundiert. Die Ratten wurden hierzu kurzzeitig mit Diethylether narkotisiert. Danach wurde das Peritoneum von ventral her eröffnet und der Schnitt

bis thorakal verlängert. Es folgte die Präparation des Herzens. Die Herzspitze wurde durch einen 1 mm langen Schnitt gefenstert. Nach Einführen eines Venenverweilkatheters in den linken Ventrikel, erfolgte die Perfusion der Ratten mit 200 ml eines phosphatgepufferten 4 %igen Paraformaldehyd (*PFA*).

2.13. Histologie

Durch visuelle Kontrolle unter dem Mikroskop sollte die Position der Tetroden nach den Versuchen nachgeprüft werden, um eine etwaige Positionierung im ventralen Hippokampus auszuschließen. Dazu wurden koronare Schnitte von den unter 2.12 gewonnenen Präparaten hergestellt.

Die Präparate wurden hierzu in Eigelb eingebettet. Dieses wurde in 4 %iger *PFA*-Lösung für 24 Stunden bei 47 °C und 6 Tage bei 8 °C zum Aushärten gebracht. Anschließend wurden die Präparate auf einem Objekthalter befestigt und mit Kältemittel²³ tiefgefroren.

Dies ermöglichte, die Präparate mit einem Kryostat²⁴ bei einer Stärke von 40 µm zu schneiden und auf Objektträgern 24 Stunden luftzutrocknen. Anschließend wurden die Schnitte mittels Cresylviolett färbung gefärbt und Deckgläser über den Präparaten mit Ethylen befestigt. Nachdem dieses ausgehärtet war, wurden die angefertigten Präparate mit einem Scanner²⁵ digitalisiert.

23 KÄLTE 75 auf Basis von Tetrafluorethan, CRC Industries, Deutschland

24 JUNG CM 1800, Leica Instruments GmbH, Nußloch

25 Canon D2400U

3. Ergebnisse

3.1. Versuchstiere

39 *Lister Hooded*-Ratten wurden für die hier beschriebenen Versuche jeweils zwei *Microdrives* mit je 4 Tetroden implantiert. Auf diese Weise konnten zwischen 11 und 36 Zellen je Tier abgeleitet werden. Einige Tiere verloren vor oder während der Versuchsphase die implantierten *Microdrives*. Bei einigen Tieren wurde kein Hippokampus-spezifisches Signal nachgewiesen und keine weiteren Versuche gemacht. Für die hier beschriebenen Versuche wurden Datensätze von 6 *Lister Hooded*-Ratten analysiert. Es wurden keine vollständigen Datensätze aus den hier beschriebenen Analysen ausgeschlossen.

3.2. Trainingsphase

Die Versuchstiere wurden über mehrere Wochen durch täglichen Kontakt an den Menschen gewöhnt. Ebenso wurden die Versuchstiere vor Versuchsbeginn über mehrere Tage an den Versuchsraum und die Abläufe bei und den Vorbereitungen zu einem Versuch gewöhnt.

Die Versuchstiere wurden täglich auf einem der beiden Versuchstische, jeweils demselben, trainiert. Hierzu wurden die Ratten auf der Brücke abgesetzt und mit der Hand auf den Versuchstisch geführt. Die Richtung, die das Versuchstier bei der ersten Umrundung auf dem Versuchstisch eingeschlagen hatte, wurde durch die Gabe von 1 ml Zuckerwasser nach jeder vollendeten Runde an einem konstanten Punkt positiv verstärkt. Während der Zeit, die das Versuchstier auf dem Versuchstisch verbrachte, wurden die Vorhänge vollständig geschlossen.

Das Training erfolgte in den ersten drei Tagen für mindestens 20 min an den folgenden Tagen jedoch bis das Versuchstier 20 Runden auf dem kreisförmigen Versuchstisch gelaufen hatte, mindestens aber für 10 min und höchstens für 20 min.

3.2.1. Signalsichtung (*Screening*)

Nach Ablauf von mindestens einer Woche nach der Implantation wurden die Versuchstiere täglich an das System angeschlossen. Hierzu wurde das Versuchstier in die Box abgesetzt, in welcher es sich frei bewegen konnte, sobald es an das System angeschlossen war.

Die Tetroden wurden täglich um 24 μm gesenkt bis abgeleitete Potentiale $> 100 \mu\text{V}$ und etwa dreimal so groß waren wie Störsignale aus dem Hintergrund [87]. Das gewonnene Signal wurde auf das Auftreten von Komplexzellen hin untersucht. Im *LFP* wurde nach Theta-Rhythmus gesucht. Diese drei Merkmale wurden als Indikatoren für die CA1-Schicht des dorsalen Hippokampus bestimmt. Als sehr nützlich hat sich neben der visuellen Kontrolle des Signals am Monitor die akustische Kontrolle erwiesen. Das daqc-Recording-System ermöglicht die gleichzeitige akustische Wiedergabe von zwei Kanälen. Auf diese Weise konnten neben dem charakteristischen Theta-Rhythmus auch Komplexzellsalven oder auch einzelne abgeleitete Potentiale akustisch wiedergegeben werden.

3.3. Versuchsablauf

Sobald Indikatoren für die CA1-Schicht des Hippokampus gefunden worden und die Versuchstiere mindestens sieben Tage lang auf einem Versuchstisch trainiert waren, konnten die Versuche durchgeführt werden. Diese wurden nach folgendem Protokoll durchgeführt:

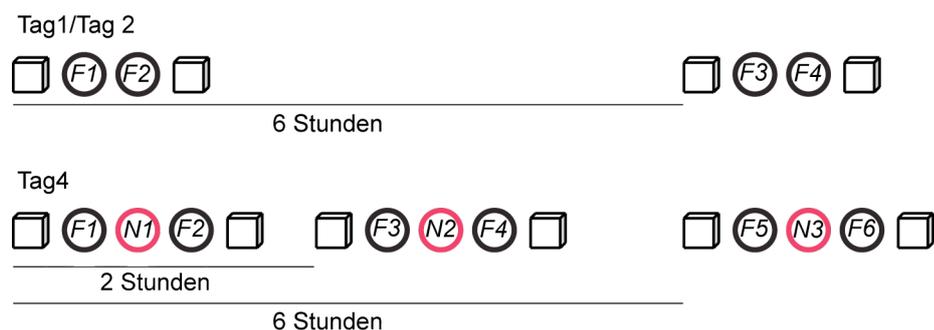


Abbildung 7: Versuchsablauf. Die Expositionen zu der bekannten Umgebung sind hier als schwarze Kreise, die zu einer neuen Umgebung als rote Kreise dargestellt. Die Bezeichnung des einzelnen Versuchsabschnittes befindet sich innerhalb des Kreises. Der Aufenthalt in der Box ist als graue Box dargestellt. Als Intervall zwischen zwei Blöcken wurden 6 Stunden, am dritten und vierten Tag je 6 Stunden und 2 Stunden veranschlagt, gemessen jeweils zu Beginn eines Blockes.

Am ersten und zweiten Tag des Versuches wurden die Versuchstiere zu ihrer gewohnten Zeit an das System angeschlossen und 20 min in der Box abgesetzt (Versuchsabschnitt B1). Danach folgte eine Exposition in den Versuchsraum, in dem auch die Trainingseinheiten stattgefunden haben (Raum 1). Das Versuchstier blieb dabei an das System angeschlossen. Raum 1 konnte das Versuchstier über die Brücke erreichen. Die Festlegung der Dauer der Exposition zu Raum 1 erfolgte nach den Kriterien analog der Trainingsphase. Nach Versuchsabschnitt F1 wurde das Versuchstier auch wieder über die Brücke aus dem Raum 1 geleitet und für kurze Zeit in der Box abgesetzt. Diese Zeit wurde für eine Säuberung des Versuchstisches mit Flächendesinfektionsmittel genutzt. Dabei wurde der Versuchstisch in zufälliger Richtung gedreht. Dem Versuchstier sollte es nicht möglich sein, sich mittels seines Geruchssinnes auf dem Versuchstisch zu orientieren. Nach der darauf folgenden erneuten Exposition zu Raum 1 (Versuchsabschnitt F2) entsprechend der zuvor genannten Kriterien erfolgte ein Absetzen in der Box für 20 min (Versuchsabschnitt B2). Die geschilderte Abfolge von Box - Versuchstisch - Versuchstisch - Box wurde als eine Einheit angesehen und als Block bezeichnet. Ein weiterer Block erfolgte am selben Tag, 6 Stunden nachdem der erste Block begonnen hatte. Am zweiten Tag wurde dieser Ablauf wiederholt. Am dritten und vierten Tag wurde das Versuchstier

zwischen den beiden Versuchsabschnitten eines Blocks in der bekannten Umgebung einer unbekanntem Umgebung ausgesetzt. Diese befand sich in Raum 2 und wurde von dem Versuchstier direkt über die Brücke erreicht. Es zeigte sich, dass alle Ratten sobald die Brücke zwischen den beiden Räumen freigegeben wurde, diese auch betraten und in den anderen Raum liefen. Die erste Exposition zu Raum 2 (Versuchsabschnitt N2) dauerte 20 min. Bei den weiteren Expositionen zu der neuen Umgebung wurde die Ratte in der Umgebung belassen, bis das Versuchstier 15 Runden gelaufen war, mindestens aber 10 min. Die Richtung, die das Versuchstier bei der ersten Exposition gewählt hatte, wurde über die weiteren Versuchsabschnitte in der neuen Umgebung weiter verstärkt.

An den Versuchstagen drei und vier wurde ein solcher Block jeweils 2 Stunden und 6 Stunden nach dem ersten Block wiederholt (Abbildung 7).

Tabelle 1: Die Tabelle zeigt die Position, an der die Belohnung gegeben wurde, sowie die jeweilige Richtung die das Versuchstier (14-36), sowohl für die bekannte Umgebung (F) als auch für die neue Umgebung (N), laufen musste. Zum Beispiel: Versuchstier 24 lief in der bekannten Umgebung entgegen dem Uhrzeigersinn, um bei 10.30 Uhr, oder Nord West, eine Belohnung zu erlangen.

	14	23	24	34	35	36
F						
N						

Die abgeleiteten Potentiale konnten nun einzelnen Zellen zugeordnet werden (2.5). Alle in einem Versuchsabschnitt aufgezeichneten Potentiale einer Tetrode wurden in einem zweidimensionalen Koordinatensystem angeordnet. Die Darstellung erfolgte

nach ihrer Spannung, ihrer Peak-to-Through-Entfernung oder nach dem Zeitpunkt des Peaks (2.5). Bei der Peak-to-Through-Entfernung handelt es sich um den Abstand vom oberen zum unteren Umschlagspunkt des Potentials.

In dieser Darstellung konnten die Potentiale zu einzelnen Gruppen (*Clustern*) mit ähnlichen Charakteristika zugeordnet werden. Dies erfolgte semiautomatisch.

3.4. Aufzeichnungsunterbrechungen

Bei einigen Versuchen wurden die Aufnahmen durch einen Systemabsturz unterbrochen. Dies geschah bei folgenden Versuchen:

Tabelle 2: Versuchsabschnitte, die aufgrund eines Systemabsturzes unterbrochen wurden.

Versuchstier	Tag	Versuchsabschnitt
14	3	<i>N1</i>
14	3	<i>N2</i>
14	3	<i>F4</i>
14	4	<i>F1</i>
23	4	<i>N1</i>
36	1	<i>F3</i>
36	3	<i>F2</i>
36	4	<i>F2</i>

3.5. Reflektionen des Infrarotsignals

Das von der Kamera aufgenommene Infrarotsignal war in einigen Versuchsabschnitten durch Reflektionen fehlerhaft. Infolgedessen wurden Positions- und elektrophysiologische Daten nicht berücksichtigt, bei denen das Tier eine Geschwindigkeit von mehr als 50 m/s hatte und die 15 cm und mehr vom Rand des Versuchstisches entfernt lagen. Abbildung 8 zeigt das Ausmaß der Signalstörung am Beispiel eines Versuchsabschnittes. Tabelle 3 listet die einzelnen Versuchsabschnitte auf, in denen das Positionssignal gestört war. Die Bewegung des Versuchstieres sowohl im Versuchstisch als auch in der Box waren variabel.

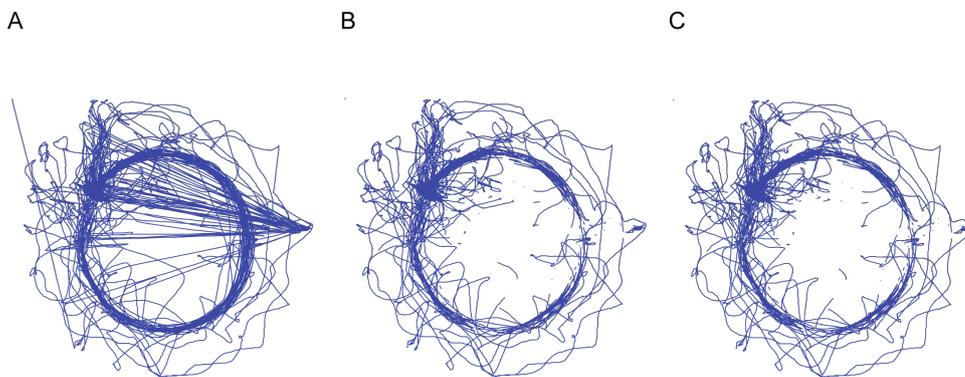


Abbildung 8: Die Abbildung zeigt den Weg, den das Versuchstier 34 am Tag 1 im Versuchstisch zurückgelegt hat. A zeigt das von der Kamera aufgenommene Signal einschließlich der Reflektionen am rechten Bildrand. Bei B wurden Geschwindigkeiten > 50 m/s nicht dargestellt. In Abbildung C wurden außerdem Positionen, die 15 cm vom Rand des Versuchstisches entfernt waren, herausgerechnet.

Für die spätere Segmentanalyse des Aktivitätsmusters der Platzzellen mussten die Potential- und Positionsdaten der bekannten und der neuen Umgebung möglichst deckungsgleich sein. Um dies zu gewährleisten, wurden die Positionsdaten jedes Versuchsabschnittes in einem Raster dargestellt und die Position und Vergrößerung manuell korrigiert.

Tabelle 3: Zeigt die Versuchsabschnitte an, bei denen das Videosignal durch Reflektionen gestört war.

Versuchstier	Tag	Versuchsabschnitt
14	3	<i>N3</i>
14	4	<i>F1</i>
24	3	<i>F5</i>
34	1	<i>F1 F2</i>
34	2	<i>F1 F2 F3</i>
34	4	<i>F1 N1 F2 F3 N2 F5 F6</i>
35	2	<i>F2</i>
35	3	<i>N2</i>
36	1	<i>F2</i>
36	3	<i>N1 N3</i>

3.6. Mehrfache Ableitung einer Zelle

In einem Fall wurde eine Zelle in zwei unterschiedlichen Tetroden abgeleitet. Da diese in einer der beiden Tetroden als einzige Zelle abgeleitet wurde, konnte diese Tetrode von der weiteren Analyse ausgeschlossen werden.

3.7. Zellzahl

Insgesamt wurden an vier Tagen 518 Zellen abgeleitet. An Tag 1 und Tag 2 wurden von jeweils fünf Versuchstieren 120 bzw. 110 Zellen abgeleitet. An Tag 3 und Tag 4 von jeweils sechs Versuchstieren 168 bzw. 120 Zellen (Tabelle 4).

3.7.1. Zellselektion

Zum Ausschluss von Störsignalen musste die Amplitude eines Aktionspotentials in mindestens einer der vier Ableitungen 100 μ V betragen.

Um bei den gewonnenen Zellen Interneurone von Pyramidenzellen zu unterscheiden, wurden nur Zellen für die weitere Analyse zugelassen, bei denen die

Dauer eines Aktionspotentials, gemessen als die Peak-to-Trough-Entfernung, mindestens 249 μ s betrug. Außerdem wurde die Anzahl der einzelnen Intervalle zwischen den Potentialen bestimmt und eine Höchstzahl von 5 Intervallen kleiner als 0,002 s zugelassen. Für die Auswertung der Platzfelder sollten die Zellen eine Mindestanzahl von 50 abgeleiteten Potentialen haben. Zellen, die dieses Kriterium nicht erfüllten, wurden von der weiteren Analyse ausgeschlossen.

3.7.2. Komplexzellen (*Complex Spike Cells*)

Nach diesen Kriterien wurden alle an einem Tag abgeleiteten Zellen sortiert. Insgesamt wurden 460 Komplexzellen abgeleitet (Tag eins, $n=100$; Tag zwei, $n=100$; Tag drei, $n=151$; Tag vier, $n=109$), d.h. diese erfüllten die o.g. Kriterien in mindestens einem Versuchsabschnitt. Diese Selektion wurde ebenfalls für einzelne Versuchsabschnitte vorgenommen. Von den dabei ausgeschlossenen Zellen ($n=1649$) wurden 68,37 % ($n=1148$) wegen einer zu geringen Anzahl an Potentialen, 12,87 % ($n=216$) wegen einer zu hohen Anzahl an ISI $> 0,002$ ms, 10,78 % ($n=181$) wegen zu geringer maximaler Spannung und 7,98 % ($n=134$) wegen zu kleiner Peak-to-Through-Entfernung ausgeschlossen. Der Mittelwert (arithmetisches Mittel), der in den einzelnen Versuchsabschnitten an Tag drei abgeleiteten Zellen lag bei 82,44 ($\pm 13,62$ SD). An Tag eins lag er bei 66 ($\pm 8,37$ SD), an Tag zwei bei 78,2 ($\pm 2,36$ SD) und an Tag vier bei 60,11 ($\pm 6,68$ SD). Die Zellzahl an Tag drei stieg während der ersten Exposition zu der neuen Umgebung auf 97 ($p=0,0015$; ungepaarter t -Test) an und fiel in Versuchsabschnitt *N2* auf 61 ($p=0,0125$). Während der dritten Exposition zu der neuen Umgebung wurden 81 Komplexzellen abgeleitet. Diese Anzahl unterschied sich nicht signifikant von den Anzahlen in den anderen Versuchsabschnitten. Während der Expositionen zur neuen Umgebung an Tag vier zeichnete sich ein ähnlicher Verlauf der Komplexzell-Zahlen wie an Tag drei ab, die Komplexzell-Zahl stieg in Versuchsabschnitt *N1* ($n=67$) ($p=0,0148$) an, fiel in Versuchsabschnitt *N2* ($n=53$) ($p=0,0127$) ab und lag in Versuchsabschnitt *N3* bei 64. Dabei unterschied sich die Anzahl der abgeleiteten Komplexzellen in Versuchsabschnitt *N3* nicht signifikant von anderen Versuchsabschnitten. Der Anteil der Komplexzellen mit einem Platzfeld in den Versuchsabschnitten in *N* (=neue

Umgebung) lag an Tag drei signifikant unterhalb des Anteils in den F-Versuchsabschnitten ($p=0,0034$, ANOVA), (Abbildung 9).

Der Mittelwert der in den *Box*-Versuchsabschnitten abgeleiteten Komplexzellen war $68,75 (\pm 5,25 \text{ SD})$. Im ersten *Box*-Versuchsabschnitt, nach der ersten Exposition zu der neuen Umgebung, waren deutlich mehr Komplexzellen aktiv ($n=76$) als in den übrigen *Box*-Versuchsabschnitten. Jedoch konnte hier keine Signifikanz nachgewiesen werden ($p=0,0701$).

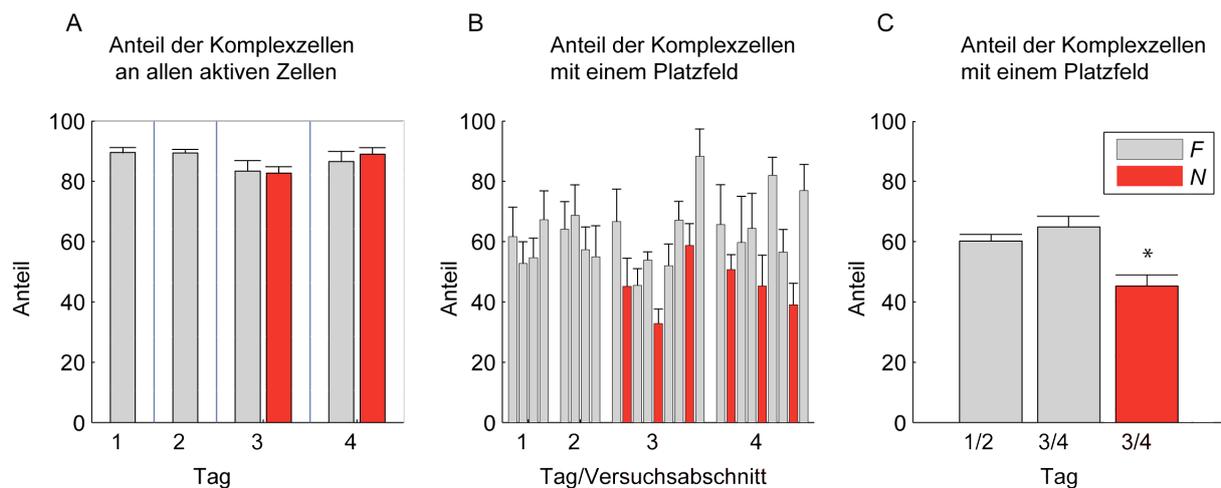


Abbildung 9: A Anteil der Komplexzellen an allen abgeleiteten Zellen pro Tag, B Anteil der Komplexzellen mit einem Platzfeld pro Versuchsabschnitt und Tag C Anteil der Komplexzellen mit einem Platzfeld pro Tag sowie F und N.

Tabelle 4: Die Tabelle zeigt die Anzahl der an einem Tag abgeleiteten Zellen pro Versuchsabschnitt vor und nach der Zellselektion für Pyramidenzellen. Die Spalte „Zellen gesamt, Versuchsabschnitt“ gibt die Anzahl der Zellen in einem Versuchsabschnitt wieder, deren Anzahl an Potentialen > als 50 war und deren Amplitudenspitze > 100 μ V war. Die Spalte „CSC“ gibt die Anzahl an Komplexzellen wieder.

Tag 1	Versuchsabschnitt	Zellen gesamt Tag	Zellen gesamt Versuchs-Abschnitt	CSC	Tag 2	Versuchsabschnitt	Zellen gesamt Tag	Zellen gesamt Versuchs-Abschnitt	CSC
	<i>F1</i>	120	82	73		<i>F1</i>	110	86	78
<i>F2</i>	120	82	72	<i>F2</i>	110	89	80		
<i>F3</i>	120	70	64	<i>F3</i>	110	85	75		
<i>F4</i>	120	61	55	<i>F4</i>	110	90	80		
Tag 3	Versuchsabschnitt	Zellen gesamt Tag	Zellen gesamt Versuchs-Abschnitt	CSC	Tag 4	Versuchsabschnitt	Zellen gesamt Tag	Zellen gesamt Versuchs-Abschnitt	CSC
	<i>F1</i>	168	82	72		<i>F1</i>	120	71	64
	<i>N1</i>	168	114	97		<i>N1</i>	120	74	67
	<i>F2</i>	168	108	93		<i>F2</i>	120	73	62
	<i>F3</i>	168	92	78		<i>F3</i>	120	65	59
	<i>N2</i>	168	72	61		<i>N2</i>	120	59	53
	<i>F4</i>	168	87	75		<i>F4</i>	120	74	61
	<i>F5</i>	168	125	105		<i>F5</i>	120	53	46
	<i>N3</i>	168	95	81		<i>N3</i>	120	74	64
<i>F6</i>	168	97	80	<i>F6</i>	120	77	65		

3.8. Platzfeldanalyse

3.8.1. Platzfeldzahl nach Segmenten

Die Anzahl an Platzfeldern wird in Tabelle 5 dargestellt. An Tag drei lag die Zahl der während der ersten Exposition zur neuen Umgebung gefundenen Platzfelder deutlich unterhalb des Mittelwertes und während Versuchsabschnitt *N2* sogar noch niedriger ($p=0,0193$ für *N1* und $p=0,0034$ für *N2*). Die Zahl der Platzfelder stieg im letzten Versuchsabschnitt von Tag drei und Tag vier stark an.

Tabelle 5: Die Tabelle zeigt die Anzahlen an Platzfeldern in den einzelnen Versuchsabschnitten und an den vier Versuchstagen. Die letzte Zeile gibt das arithmetische Mittel an den einzelnen Tagen wieder.

Versuchsabschnitt	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4
<i>F1</i>	54	61	55	57
<i>N1</i>	0	0	41	59
<i>F2</i>	43	66	75	74
<i>F3</i>	61	69	66	58
<i>N2</i>	0	0	31	47
<i>F4</i>	51	77	57	73
<i>F5</i>	0	0	97	34
<i>N3</i>	0	0	58	45
<i>F6</i>	0	0	110	80
Mittelwert	52,25	68,25	65,56	58,56

Der Mittelwert (arithmetisches Mittel) der Informationsrate lag an den beiden ersten Tagen über 2,55. Am dritten Tag sank der Mittelwert der Informationsrate auf 1,9353 ($\pm 2,88$ SD). Der Mittelwert über alle Zellen der Informationsrate an Tag drei in Versuchsabschnitt *N1* lag bei 2,1426 ($\pm 3,20$ SD), in *N2* bei 1,6085 ($\pm 2,1838$ SD) und in *N3* bei 2,1246 ($\pm 3,1589$ SD). Damit unterschied sich der Mittelwert der

Informationsrate über alle Zellen nur in *N2* signifikant von den anderen Versuchsabschnitten ($p < 0,0009$). In keinem Versuchsabschnitt an den ersten beiden Tagen lag der Mittelwert der Informationsrate unter 2,2627. Im dritten Block stieg der Mittelwert der Informationsrate in Versuchsabschnitt *N3* auf 2,1246 an.

Der Mittelwert der *Sparsity* unterschied sich in den Versuchsabschnitten in einer neuen Umgebung nicht signifikant ($p = 0,0140$) von dem Mittelwert der *Sparsity* in Versuchsabschnitten in einer bereits bekannten Umgebung ($0,0092 \pm 0,0026$ SD am ersten Tag, $0,0118 \pm 0,0035$ SD am zweiten Tag, $0,0165 \pm 0,0100$ SD am dritten Tag und $0,0153 \pm 0,0040$ SD am vierten Tag; $p = 0,5728$; ungepaarter *t*-Test).

Die *Sparsity* stieg jedoch an allen vier Versuchstagen im Mittelwert im letzten Block stark an. Während der Versuchsabschnitte in der neuen Umgebung an Tag drei fiel die *Sparsity* zunächst ab. Im letzten Block stieg die *Sparsity* wieder an.

3.8.2. Korrelationsanalyse

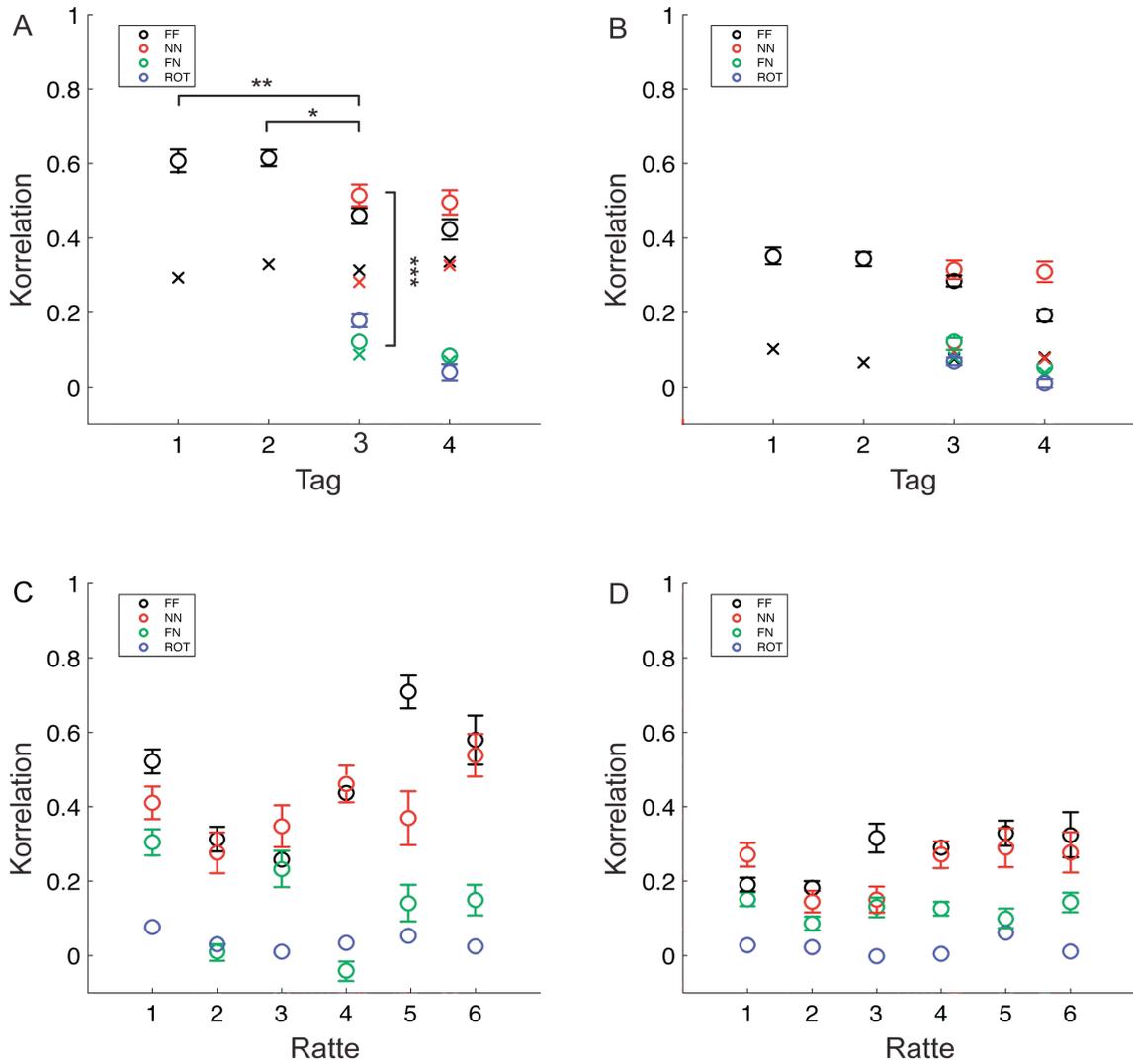


Abbildung 10: **A** zeigt Korrelationen der Segmentraten, **B** stellt die Korrelationen der Flächenraten **C** die Korrelationen der Segmentraten für jedes einzelne Versuchstier dar. **D** zeigt Korrelationen der Flächenraten für jedes einzelne Versuchstier. *FF*-Korrelationskoeffizienten werden schwarz, *NN*- rot, *FN*- grün und Korrelationskoeffizienten der Rotationsanalyse blau dargestellt.

Die Korrelationen der Segmentraten unterschiedlicher Versuchabschnitte wurden untersucht. Hierzu wurden die Segmentraten aller Zellen in bekannten Umgebungen (*FF*) und neuen Umgebungen (*NN*) miteinander korreliert. Die Korrelation von

bekanntes mit neuen Umgebungen (*FN*) wurde ebenfalls untersucht. Der hier gezeigten Korrelationsanalyse wurden folgende 15 Wertepaare (Versuchsabschnitte) zugrunde gelegt:

- *FF*: *F1* u. *F2*, *F3* u. *F4*, *F5* u. *F6*, *F1* u. *F6*, *F1* u. *F3*, *F1* u. *F5*
- *NN*: *N1* u. *N2*, *N1* u. *N3*, *N2* u. *N3*,
- *FN*: *F1* u. *N2*, *F3* u. *N2*, *F5* u. *N3*, *N2* u. *F4*, *N3* u. *F6*,

Abbildung 10 zeigt, dass an Tag eins und Tag zwei der durchschnittliche Korrelationskoeffizient der Segmentraten *FF* über 0,6 liegt. Dieser fällt an Tag drei und vier ab ($p < 0,0003$ für Tag drei und $p < 0,0002$ für Tag vier, Wilcoxon Rank Sum Test).

Die Korrelationskoeffizienten für *NN* an Tag drei und vier lagen bei 0,5 und damit etwas höher als der Korrelationskoeffizient *FF*, jedoch konnte bei diesem Unterschied keine Signifikanz nachgewiesen werden ($p = 0,3702$, Wilcoxon Rank Sum Test). Die Korrelationskoeffizienten für *FN* waren sowohl an Tag drei als auch an Tag vier bei 0,02 und lagen damit signifikant unterhalb der *NN* bzw. *FF* Korrelationen ($p < 0,0005$). Zufallskorrelationen, die einen Mittelwert der Korrelationen der Segmentraten einer Zelle mit der aller anderen Zellen darstellen, liegen für gleiche Versuchsabschnittspaare (*FF* und *NN*) im Bereich von 0,3. Für *FN* liegen diese unter 0,1. Ein ähnliches Bild zeigt sich, wenn man diesen Korrelationen die Flächenraten zugrunde legt, jedoch fallen hierbei die Korrelationskoeffizienten generell etwas geringer aus. Die Korrelationen (*FF*, *NN* und *FN*) wurden für jedes Versuchstier getrennt berechnet und für Tag drei in der Abbildung 10 dargestellt. Diese Abbildung wurde sowohl für die Flächenraten als auch für die Segmentraten dargestellt. Abbildung 11 zeigt 5 Beispiele von Platzfeldern an Tag eins, zwei und drei.

3.9. Dynamik der Platzzellen und Platzfelder

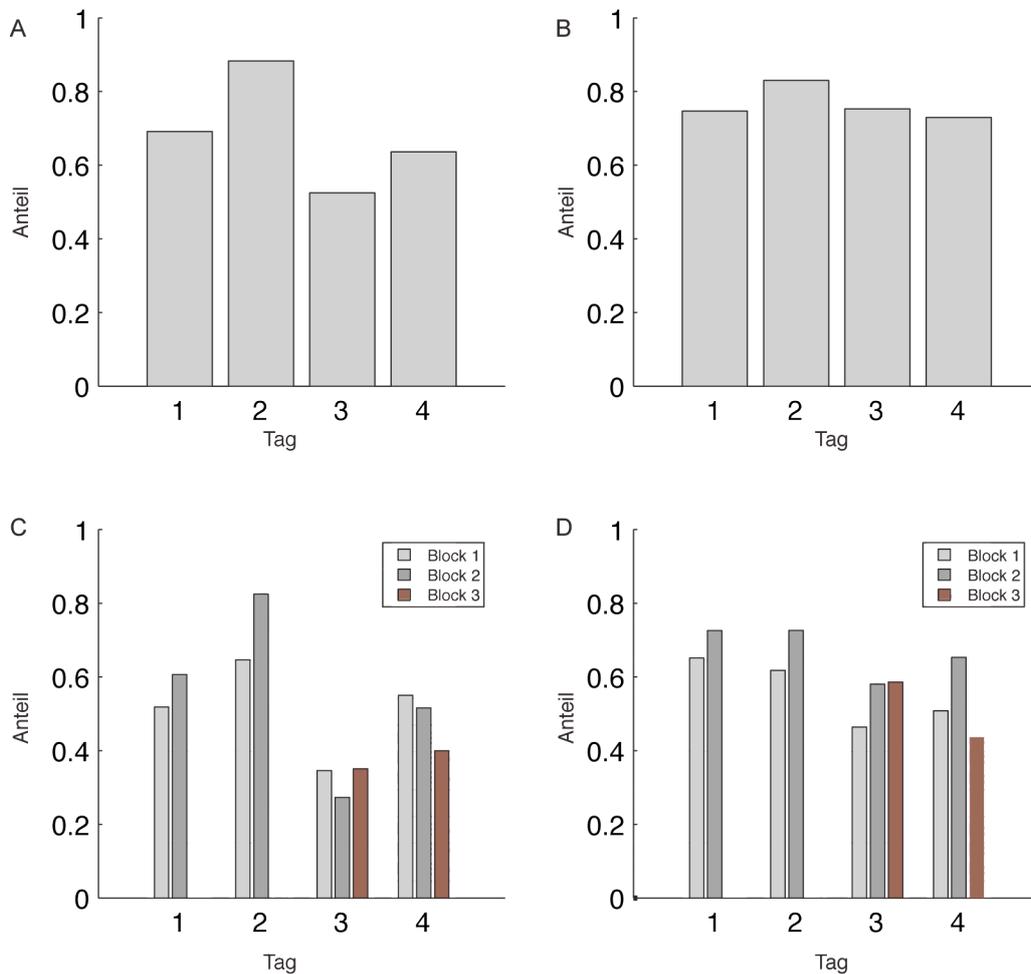


Abbildung 12: A verdeutlicht den Anteil der Platzzellen, die ein Platzfeld sowohl im ersten Versuchsabschnitt eines Blockes als auch im zweiten Versuchsabschnitt eines Blockes haben, an den Platzzellen mit einem Platzfeld im ersten Versuchsabschnitt je Block B stellt den Anteil dieser Platzzellen an den Zellen mit einem Platzfeld im zweiten Versuchsabschnitt in einem Block dar. C entspricht Abbildung A, es werden jedoch die einzelnen Blocks berücksichtigt. Ebenso entspricht Abbildung D der Abbildung B, es werden dort jedoch die einzelnen Blocks berücksichtigt.

Um das Verhalten von vorhandenen Platzzellen zu untersuchen, wurde das weitere Aktivitätsmuster von Platzzellen mit einem Platzfeld in der bekannten Umgebung untersucht.

An den ersten beiden Versuchstagen hatten im Schnitt 78 % der Zellen ein Platzfeld in den beiden ersten Versuchsabschnitten eines Blockes. An Versuchstag drei hatten 53 % der Zellen mit einem Platzfeld in der bekannten Umgebung ein Platzfeld sowohl in der neuen als auch in der bekannten Umgebung. Während des ersten Blockes waren dies 34 % (Abbildung 12 C), im zweiten Block lag der Anteil dieser Zellen deutlich darunter, bei 27 %, und im dritten Block bei 35 %. Am Versuchstag vier waren es insgesamt 63 % dieser Zellen.

Es wurde der Anteil der Zellen, die ein Platzfeld sowohl im ersten Versuchsabschnitt als auch im zweiten Versuchsabschnitt eines Blocks hatten, an denjenigen Zellen mit einem Platzfeld im zweiten Versuchsabschnitt bestimmt. Dieser Anteil unterschied sich in den vier Tagen nicht signifikant voneinander. Bis auf den dritten Block am Tag drei, stieg dieser Anteil innerhalb eines Tages von jedem Block zum darauf folgenden an.

3.10. Formierung neuer Platzfelder innerhalb eines Versuchsabschnittes

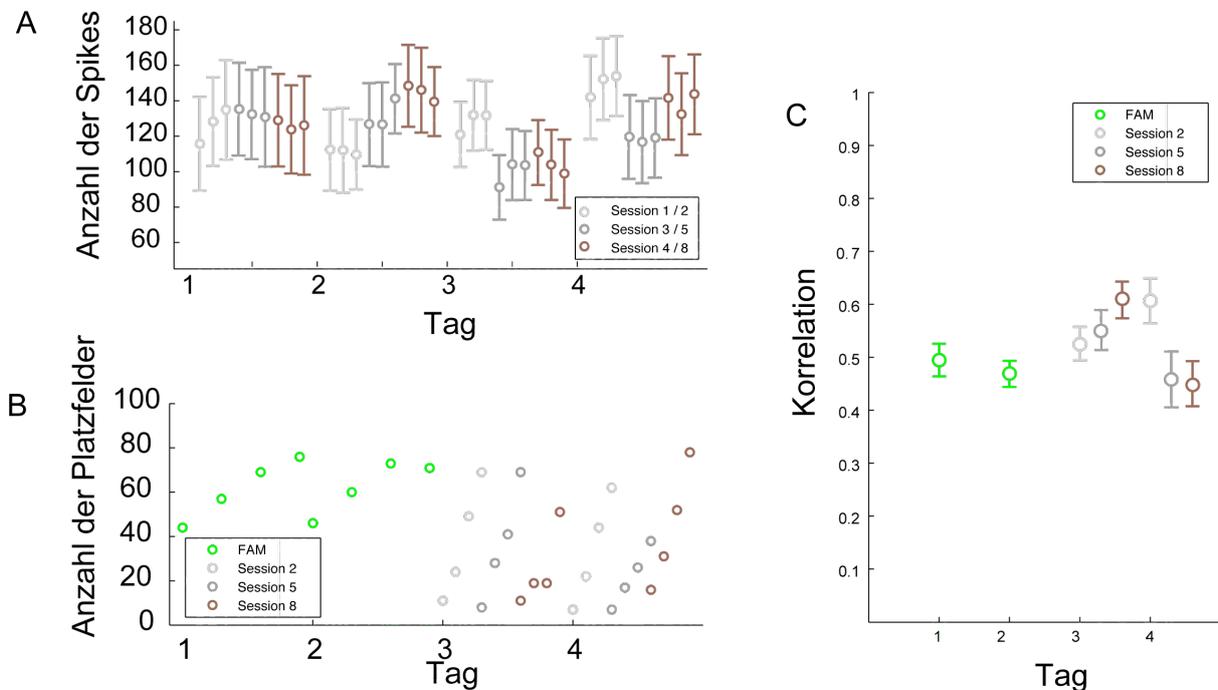


Abbildung 13: **A** zeigt die Entwicklung der Anzahl an abgeleiteten, extrazellulären Potentialen („Spikes“), die von einer Komplexzelle innerhalb von 3 min abgeleitet wurden. **B** stellt die Entwicklung der Platzfeldzahlen dar. **C** die Korrelationen der Segmentraten der ersten Hälfte eines Versuchsabschnittes („Session“) mit der zweiten Hälfte im Durchschnitt.

Um die Dynamik von Platzfeldern innerhalb eines Versuchsabschnittes zu bestimmen, wurden alle Versuchsabschnitte in vier gleich große Teile geteilt und für diese die Segmentraten berechnet.

In Versuchsabschnitt *N1* an Tag drei, der ersten Exposition zu der neuen Umgebung, hatten 15,94 % der Komplexzellen ($n=11$) von Beginn an ein Platzfeld in dieser Umgebung. Anhand von drei Beispielen (Abbildung 14) kann gezeigt werden, dass einige Zellen eine räumliche Selektivität schon beim ersten Durchqueren des Platzfeldes vorwiesen. 18,84 % der Komplexzellen ($n=13$) hatten ein Platzfeld nach dem ersten Viertel, 36,23 % erst in der zweiten Hälfte des Versuchsabschnittes

(n=25) und 28,99 % der Zellen hatten ein Platzfeld im letzten Viertel (n=20). Während *N2* hatten 11,6 % aller Komplexzellen (n=8) von Beginn an, 29 % nach dem ersten Viertel (n=20), 18,84 % nach der Hälfte (n=13) und 40,58 % (n=28) im letzten Viertel des Versuchsabschnittes ein Platzfeld. Abbildung 14 zeigt Beispiele von Komplexzellen, die erst nach mehreren Durchquerungen eines Platzfeldes in diesem zu feuern beginnen. Während Versuchsabschnitt *N3*, der dritten Exposition in der neuen Umgebung, zeigte sich folgendes Bild: 21,57 % der Komplexzellen (n=11) hatten ein Platzfeld von Beginn des Versuchsabschnittes an, 15,68 % nach dem ersten Viertel (n=8) und 62,75 % der Komplexzellen (n=32) hatten ein Platzfeld erst im letzten Viertel des Versuchsabschnittes. Nach der ersten Hälfte dieses Versuchsabschnittes wurde keine Komplexzelle aktiv.

In Abbildung 14 A wird die Anzahl (arithmetische Mittel aller Komplexzellen) der abgeleiteten Potentiale in der ersten, zweiten und dritten 3 min eines jeden Versuchsabschnittes gezeigt. In Versuchsabschnitt *N1* zeigen sich keine signifikant niedrigeren Werte, verglichen mit Expositionen in *F* (=familiäre Umgebung) während der vorangegangenen Tage. Jedoch wurde während der gesamten ersten 9 min des Versuchsabschnittes *N1* und *N3* eine niedrigere Anzahl an Komplexzellen festgestellt. Ein ähnlicher Abfall zeigt sich auch an Tag vier von *N1* auf *N2*, jedoch nicht mehr in Versuchsabschnitt *N3*.

Die Korrelationen der ersten Hälfte mit der zweiten Hälfte desselben Versuchsabschnittes stiegen an Tag drei kontinuierlich mit jedem weiteren Versuchsabschnitt in der neuen Umgebung an. Die Korrelationskoeffizienten lagen im Durchschnitt über denen von Tag eins und Tag zwei. An Tag vier wurden dieselben Korrelationen berechnet. Es zeigte sich, dass diese in *N1* bei durchschnittlich 0,6 lagen. Die durchschnittlichen Korrelationskoeffizienten fielen in *N2* und in *N3* ab und erreichten ein Niveau der durchschnittlichen Korrelationskoeffizienten von Tag eins und Tag zwei.

Abbildung 15 zeigt anhand von Beispielen, dass einige Komplexzellen bereits bei der ersten Hälfte von Versuchsabschnitt *N1*, andere erst später eine räumliche Selektivität am Ort des späteren Platzfeldes aufwiesen.



Abbildung 14: Die Abbildung A zeigt acht Plattzellen, die in der neuen Umgebung bereits bei der ersten Durchquerung des Platzfeldes feuern. Die erste Spalte zeigt den zurückgelegten Weg und den Ort des ersten abgeleiteten Potentials. Die zweite Spalte zeigt die Flächenrate und die dritte Spalte den Weg während des gesamten Versuchsabschnittes sowie die Positionen, an denen Potentiale aufgetreten sind. B zeigt Plattzellen, die erst nach mehreren Runden aktiv wurden.

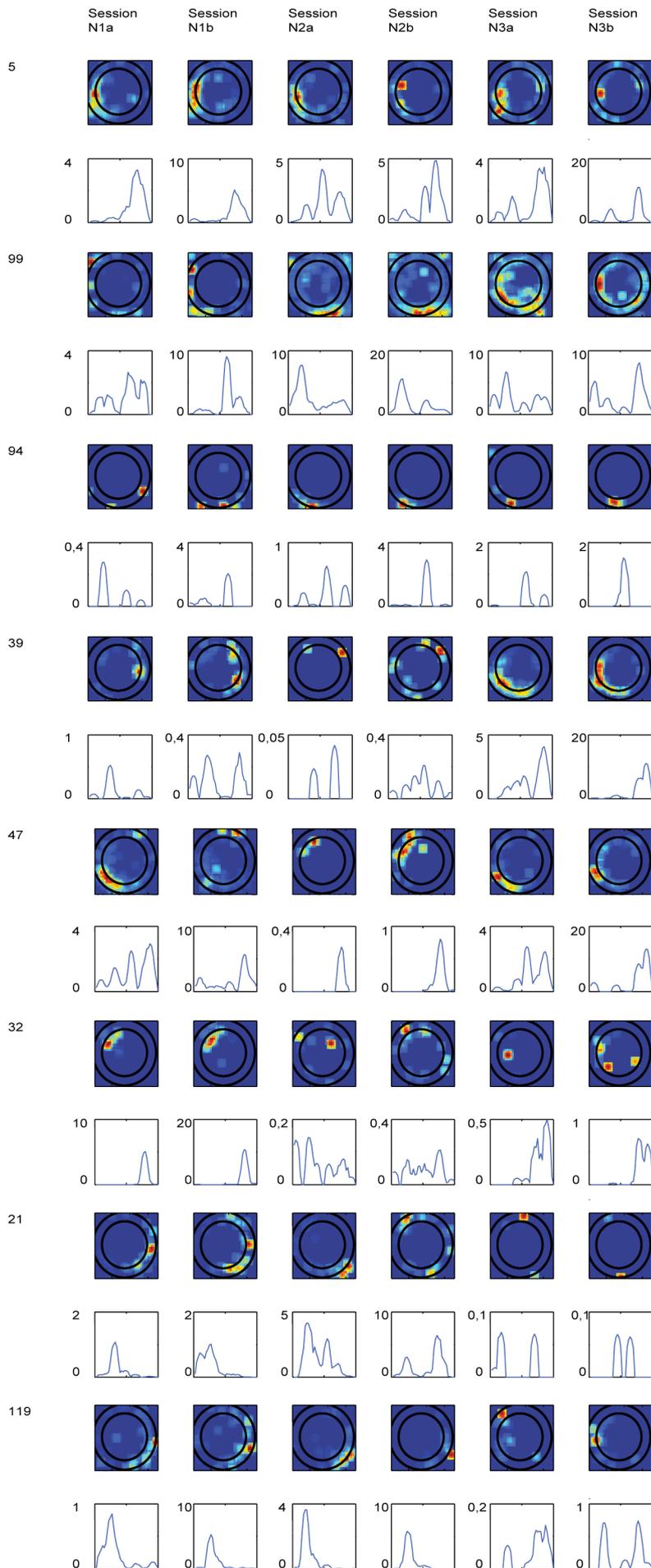


Abbildung 15: Die Abbildung zeigt beispielhaft acht Platzfelder. Dargestellt sind die Flächenraten bzw. Segmentraten während der Hälfte eines Versuchsabschnittes in der neuen Umgebung an Tag drei.

Zelle 5 hat ein stabiles Platzfeld in allen Hälften. Zelle 99 ist stabil innerhalb eines Versuchsabschnittes, jedoch nicht in den verschiedenen Blöcken. Zelle 94 hat ein stabiles Platzfeld nach dem ersten halben Versuchsabschnitt in der neuen Umgebung. Zelle 39 ist erst in Versuchsabschnitt N3 stabil. In N1a und N3 hat Zelle 47 eine stabiles Platzfeld, jedoch nicht in den Versuchsabschnitten dazwischen. Zelle 32 verliert ihre Selektivität nach N1, Zelle 21 in N2b und Zelle 119 in N3.

3.11. Rotationsanalyse

Um festzustellen, in welchem Ausmaß der Eintrittspunkt von der Brücke auf den Versuchstisch als Orientierungspunkt von den Ratten benutzt wird, wurde eine Rotationsanalyse durchgeführt. Die Segmentraten wurden um 180° verschoben und die Flächenraten um 180° gedreht. Die so rotierten Segmentraten bzw. Flächenraten wurden mit den nicht rotierten Segmentraten bzw. Flächenraten korreliert. Der Durchschnittswert für alle Zellen der *FN*-Korrelationen ist mit in Abbildung 10 dargestellt. Die Korrelationen der Segmentraten liegen an Tag 3 unter 0,2 und an Tag vier unter 0,1. Betrachtet man die Rotationsanalyse nach den Flächenraten, sind die Korrelationskoeffizienten sowohl an Tag drei als auch an Tag vier unter 0,1. Die Rotationsanalyse wurde auch für jedes individuelle Versuchstier durchgeführt. In Abbildung 10 werden die entsprechenden Ergebnisse dargestellt. Es zeigt sich, dass die Korrelationskoeffizienten der *FN*-Korrelation für die Rotationsanalyse bei allen Versuchstieren unter 0,1 liegen.

3.12. Lokales Feldpotential

Als Lokales Feld-Potential (*LFP*) wird die lokale Ableitung des Elektro-Enzephalogramms bezeichnet. Es konnte eine vermehrte Thetaaktivität während der Versuchsabschnitte in der neuen Umgebung nachgewiesen werden. Die integrierte Powerspektrumdichte im Theta-Bereich lag in Versuchsabschnitten in der neuen Umgebung signifikant über derjenigen Powerspektrumdichte in bereits bekannten Umgebungen. Gamma trat während Versuchsabschnitten in der *Box* signifikant weniger auf als während Versuchsabschnitten auf dem Versuchstisch. Dieser Effekt wurde bei allen Versuchstieren gesehen. Bei anderen *LFP*-Oszillationen konnte keine Tendenz festgestellt werden.

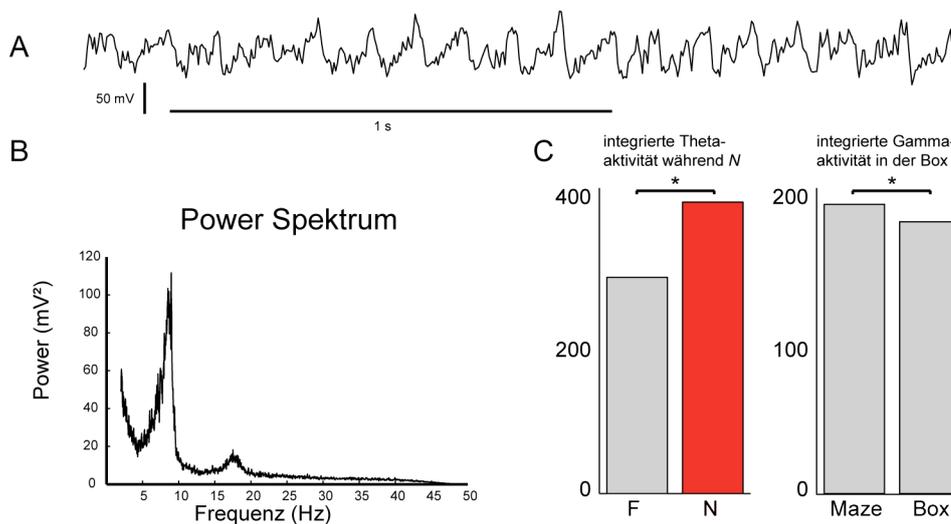


Abbildung 16: *A* zeigt einen Ausschnitt von 2 s mit deutlicher Thetaaktivität aus dem *LFP*-Kanal, *B* das Powerspektrum (Versuchsabschnitt *N1*, Versuchstier 23), *C* die integrierte Thetaaktivität Mittelwert Vergleich *F* und *N*, sowie Integrierte Gammaaktivität Vergleich Versuchstisch und *Box* an.

3.13. Histologie

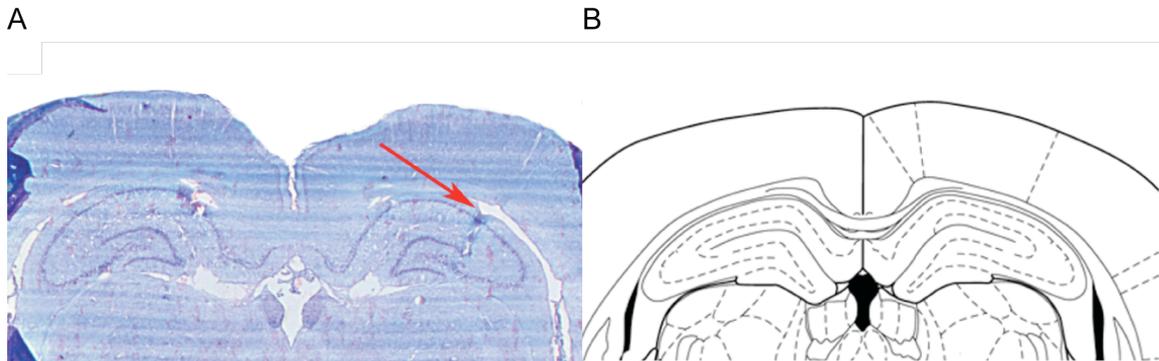


Abbildung 17: A stellt einen Histologischen Koronarschnitt von Versuchstier 24 dar, Ansicht von dorsal. Der rote Pfeil markiert den Kanal, den die Tetroden im Hippokampus der rechten Hemisphäre von CA1 bis zum Hilus hinterlassen haben. **B** zeigt eine schematische Darstellung eines Koronarschnittes Bregma -3.80; aus Paxinos and Watson, 1998 [65].

Abbildung 17 zeigt einen Kanal zerstörten Gewebes, der die CA1-Schicht des Hippokampus durchbricht. In dieser Abbildung ist weiterhin zu sehen, dass die Spur, die den Hippokampus durchbricht, bis zum Gyrus dentatus vorstößt. Dies ist darauf zurückzuführen, dass die Tetroden nach Beendigung der Versuchreihe weiter nach ventral bewegt wurden. Entsprechende Spuren wurden auch in anderen, von den weiteren Versuchstieren gewonnenen Präparaten, gefunden.

4. Diskussion

Die vorliegende Arbeit konnte die zu Beginn genannten Fragestellungen und die Hypothesen bestätigen. Es konnte gezeigt werden, dass einige Komplexzellen schon während der ersten Exposition in eine neue Umgebung ihre Aktivität in einem bestimmten Ort (dem Platzfeld) steigern. Dies geschah bereits während der ersten Runde des hier kreisförmigen Versuchstisches. Andere Zellen benötigten mehrere Runden, bevor sie ein Platzfeld vorweisen konnten.

Zwei prominente Änderungen im Verhalten von hippokampalen CA1-Platzzellen konnten bei diesen Ergebnissen zum ersten Mal dargestellt werden:

- Die Anzahl der abgeleiteten Komplexzellen stieg an, während die Anzahl der Komplexzellen mit einem Platzfeld jedoch abfiel. Beide Phänomene ließen sich nur während der ersten beiden Expositionen zu der neuen Umgebung darstellen und waren am Ende des vierten Tages im Niveau der vorher bekannten Umgebungen. So konnte durch die Verlaufsbeobachtung über zwei Tage hinweg gezeigt werden, dass sich die Kodierung in der CA1-Schicht des Hippokampus für eine neue räumliche Umgebung innerhalb von 6 Expositionen zu einer neuen Umgebung an die Kodierung für eine familiäre Umgebung angleicht.
- Die Einführung einer neuen Umgebung beeinflusste das Verhalten von Platzzellen ebenso während der folgenden Versuchsabschnitte in der bereits bekannten Umgebung.

Nur ein kleiner Anteil (34 %) der Komplexzellen mit einem Feld in der bekannten Umgebung hatte ein Platzfeld in der neuen Umgebung. Anders jedoch Platzzellen, die bei der Exposition eines Versuchstieres zu einer neuen Umgebung ein Platzfeld aufweisen. Zu einem großen Teil (52 %) konnten diese bereits ein Platzfeld in einer bekannten Umgebung vorweisen.

4.1. Platzzellreaktion auf eine neue Umgebung

Die Reaktionen von Platzzellen auf Veränderungen in der Umgebung sind seit den achtziger Jahren Gegenstand intensiver Forschung. Seit der ersten Beschreibung

der Platzzellen von O'Keefe und Dostrovsky im Jahre 1971 wurde deren charakteristisches Verhalten von vielen unabhängigen Gruppen bestätigt [54], [60]. Zu erwähnen ist hier auch die Arbeit von Fyhn et al., die 2004 das Auftreten von sog. Gitterzellen im Entorhinalen Kortex feststellten [20]. Dies sind entorhinale exzitatorische Zellen, die ein Aktivitätsmaximum aufweisen, sobald sich das Versuchstier an den Knotenpunkten eines zweidimensionalen, rechtwinkligen Gitternetzes befindet [24]. Ein Funktionsverlust des entorhinalen Kortex hat in der Tat eine Einschränkung der Platzzellfunktion der CA1-Schicht des Hippokampus zur Folge [87]. Diese Einschränkungen betreffen jedoch hauptsächlich die Entladungsrate und die Platzfeldgröße sowie die Stabilität der Repräsentation einer familiären Umgebung über mehrere Expositionen hinweg. Auch im Gyrus Dentatus wurde Zellen mit einem lokalen Aktivitätsmaximum entdeckt. Dabei handelt es sich um Körnerzellen. Ihr Verhalten ähnelt dem von Platzzellen in der CA3-Schicht des eigentlichen Hippokampus [27]. Die Platzzellen des Gyrus Dentatus sind für das räumliche Lernen von hippokampalen Platzzellen essenziell, jedoch nicht für die Platzzellaktivität an sich [43]. Daher bleibt die Frage der Entstehung der hippokampalen *spatial map* trotz guter Kenntnisse der räumlichen Aktivität von Platzzellen vorgeschaltet der CA1-Region unbeantwortet.

Auch die Technik *Unit recording* wurde im Laufe der letzten Jahre kontinuierlich verbessert. So gibt es inzwischen drahtlose Systeme auf dem Markt, welche die Handhabung mit den Versuchstieren von Grund auf umgestalten und neue Möglichkeiten schaffen. Ein Nachteil des *Unit recordings* bzw. der Forschung an Platzzellen bleibt jedoch der relativ hohe Aufwand im Vergleich zu Experimenten *ex vivo*. Die zum Teil wochenlange Signalsichtung steigerte den Verlust von Versuchstieren durch Verlust des *Microdrive*-implantates oder durch Infektionen. Die Haltung der Versuchstiere unter optimierten hygienischen Bedingungen in den LAF-Schrankregalen konnte Wundinfektionen nach der Implantation nicht verhindern. Durch die Verkleidung des Deckels der Haltungsboxen mit transparentem Acrylglas und feinem Drahtgitter sowie dem Verzicht auf eine angereicherte Umgebung nach der Implantation konnte der Verlust des *Microdrives* jedoch minimiert werden. Wie Gray et al. beschreiben, konnte sich die Nutzung von Tetroden gegenüber Stereotroden und andern Elektrodenzahlen durchsetzen. Vorteile sind die gute

Differenzierung von Potentialen und dadurch eine gute Separierung einzelner Zellen [23].

Nachdem zahlreiche Studien die Eigenschaften von Platzzellen untersucht haben und damit die *Spatial map*-Theorie begründeten, kam die Frage auf, was eine Platzzelle zu ihrer räumlichen Selektivität anregt. Zahlreiche Studien haben sowohl für die Veränderung distaler als auch proximaler (zum Beispiel Veränderungen im Raum) visueller Orientierungspunkte ebenfalls eine Veränderung der Platzzellaktivität nachgewiesen [29], [61], [63], [74]. Aber auch intrinsische Afferenzen (zum Beispiel aus dem Vestibularsystem) können einen Einfluss auf die Aktivität von Platzzellen nehmen [30], [75].

4.1.1. Anzahl der *Complex Spike cells*

Die Zellselektion erfolgte, wie unter 3.7.1 beschrieben. Die hier angewandten Ausschlusskriterien sind bereits in anderen Veröffentlichungen beschrieben worden [20], [28]. Durch die minimale Amplitudenhöhe konnten Zellen gut von Störsignalen differenziert werden. Für die Differenzierung von Pyramidenzellen und möglichen Interneuronen durch die Peak-to-Trough-Entfernung wurde - verglichen mit Fyhn et al. - eine geringere Untergrenze gewählt. Stattdessen wurde eine Selektion nach den Zeitintervallen zwischen den einzelnen Potentialen durchgeführt. Die bei den Versuchen von Frank et al. 2004 gefundene, erhöhte Anzahl an aktiven Platzzellen während der ersten beiden Tage der Einführung in eine neue Umgebung konnte hier nicht bestätigt werden [21]. Die Anzahl der abgeleiteten Komplexzellen zeigte sich bei der ersten Exposition zur neuen Umgebung zwar etwas höher als in der vorigen familiären Umgebung. Sie sank bei der nächsten Exposition zu dieser Umgebung jedoch stark ab. Nach einem Zeitintervall von 6 Stunden sowie an Tag 4 zeigte sich kein Unterschied zu familiären Expositionen. Die Platzzellen, die ein Platzfeld in der bekannten Umgebung aufgewiesen haben, waren jedoch ebenso in der neuen Umgebung aktiv. Erst am zweiten Tag der Exposition glich die Anzahl der bestimmten Platzfelder in der neuen Umgebung der Anzahl von Platzfeldern in der bekannten Umgebung. Die hohe Anzahl der Komplexzellen, die während der ersten Exposition zur neuen Umgebung abgeleitet wurden, ist also auf die hohe Anzahl an

Platzzellen zurückzuführen, die bereits in der bekannten Umgebung aktiv waren. Während der nächsten Exposition, nach einem Zeitintervall von 50 bis 60 min nach der ersten Exposition zur neuen Umgebung, hatte sich der Anteil dieser Zellen stark verringert. Nur noch wenige Zellen die auch weiterhin ein Platzfeld in der bisher bekannten Umgebung aufwiesen, hatten nun ein Platzfeld in beiden Umgebungen. Jedoch stieg die Anzahl der abgeleiteten Potentiale (s.u.) in diesen Versuchsabschnitten kontinuierlich an. Damit stieg auch die Anzahl der abgeleiteten Komplexzellen. Dies liegt daran, dass die Anzahl der abgeleiteten Potentiale den limitierenden Faktor für die Anzahl der Komplexzellen darstellt (3.7.2). Dieser Anstieg an abgeleiteten Komplexzellen ist auch bei Wilson et al. nach 20 min Exposition in der neuen Umgebung beschrieben [91].

4.1.2. Entladungsraten

Frank et al. zeigten, dass die *FF*-Korrelationen der Entladungsraten über alle drei Tage hoch blieben [21]. Auch in diesem Punkt weichen die in dieser Arbeit beschriebenen Daten ab. Die *FF*-Korrelationen fallen nach Einführung von *N* stark ab. Sie sind an Tag drei und Tag vier sogar unterhalb der Korrelationen von *NN*. Die Repräsentation einer neuen Umgebung scheint also im Laufe eines Tages sehr präzise zu werden. Diese Erkenntnisse decken sich auch mit den Ergebnissen der Halbzeitkorrelationen, also der Korrelationen der ersten mit der zweiten Hälfte eines Versuchsabschnittes. Diese steigen während der ersten Expositionen zur neuen Umgebung an und liegen über den Halbzeitkorrelationen der bekannten Umgebungen an Tag eins und zwei. Frank et al. beschreiben eine gleich bleibend geringe Korrelation der gemittelten Korrelation anderer Korrelationspaare, diese liegen unterhalb der von *FN* [21]. Außerdem wird dort von einem Abfallen der Korrelationskoeffizienten der neuen Umgebung gesprochen. Beide Aussagen konnten durch unsere Versuche bestätigt werden.

4.1.3. Kodierung der räumlichen Umgebung

Bei den Versuchen von Mehta et al. konnten 43 von 72 (d.h. 59,7 %) Zellen aus dem bereits bekannten Teil des Versuchstisches auch im neuen Teil des Versuchstisches abgeleitet werden [46]. Bei den Daten der vorliegenden Arbeit zeigt sich hier ein weitaus geringerer Anteil in der neuen Umgebung aktiv. Dies könnte daran liegen, dass die Experimente bei Mehta et al. in demselben Raum durchgeführt wurden, in dem auch die Versuche in einem familiären Versuchstisch stattfanden. Dabei konnten möglicherweise distale Orientierungspunkte zur Platzzellstabilisierung aktiviert werden [46]. In den Versuchen der vorliegenden Arbeit konnten die unterschiedlichen Räume durch die Versuchstiere eindeutig differenziert werden (3.11).

4.1.4. Platzfeldgröße

Mehta et al. zeigen, dass die Größe eines Platzfeldes im Laufe eines Versuches zunimmt [46]. Auch in den hier beschriebenen Versuchen nimmt die Größe der Platzfelder mit dem letzten Versuchsabschnitt eines Tages zu. Dies geschieht wie bei Mehta et al. sowohl in den Versuchsabschnitten in *F* als auch in den Versuchsabschnitten in *N*. Shapiro et al. beschreiben hingegen ein Fokussieren von Platzfeldern in einer neuen Umgebung während der weiteren Exposition [74].

Bei Nakazawa et al. wurden CA3-NR1-KO-Mäuse bei der Exploration einer neuen Umgebung untersucht. Hier war die Größe der Platzfelder in der neuen Umgebung von Beginn an größer [59]. Dieser Effekt ließ über die weiteren Expositionen zur neuen Umgebung hinweg nach, war jedoch bei den Kontrolluntersuchungen im Wildtyp nicht nachweisbar. Insofern weichen die hier gezeigten Ergebnisse von denen von Nakazawa et al. beschriebenen Resultaten ab.

4.1.5. Dynamik der Kodierung der räumlichen Umgebung

Messungen an Platzzellen haben ergeben, dass sich deren Aktivität in einem kurzen Zeitraum nach der ersten Exposition zu einer neuen Umgebung entwickelt.

Frank et al. beschreiben eine initiale, inaktive Periode einiger Komplexzellen während der ersten 1-2 min innerhalb des neuen Armes des Versuchstisches. Innerhalb dieser Periode hätten die Versuchstiere den Ort des späteren Platzfeldes bis zu sechs Mal durchquert [21]. Danach seien die Platzfelder gemäß Frank et al. sehr schnell entstanden (innerhalb 5-15 s). In den hier beschriebenen Versuchen waren viele Platzfelder schon während der ersten Durchquerung präsent. Ein hoher Anteil an CA1-Platzzellen mit einem Platzfeld bereits während der ersten Durchquerung konnte auch bei Leutgeb et al. festgestellt werden [36]. Anhand von Beispielen konnten jedoch auch Komplexzellen gezeigt werden, die erst nach mehreren Durchquerungen des späteren Platzfeldes an diesem Ort zu feuern begannen (Abbildung 14). Die gemittelte Anzahl der Spikes pro Komplexzelle war während der ersten Exposition zu N durchaus mit der in den vorherigen Expositionen zu F vergleichbar. Jedoch stieg in der Tat die gemittelte Anzahl der abgeleiteten Potentiale pro Komplexzelle innerhalb des zweiten Versuchsabschnittes in der neuen Umgebung an.

Die Präzision der Platzfeldkodierung stieg innerhalb der ersten drei Expositionen zur neuen Umgebung an, was durch den Anstieg der Halbzeitkorrelationen deutlich wird. Die bei Frank et al. beschriebene Stabilisierung der Platzfelder nach 5-6 min konnte mit den hier beschriebenen Daten nicht bestätigt werden [21]. Die Korrelationen der Segmentraten der halben Versuchabschnitte stiegen zwar nach dem ersten Versuchabschnitt, also nach 10 min, an, stiegen jedoch auch während der kommenden Expositionen zu N bis zum Versuchabschnitt $N1$ an Tag vier kontinuierlich weiter an. Die Stabilisierung war also nach der zweiten Exposition zur neuen Umgebung bzw. nach mehr als 10 min noch nicht abgeschlossen.

Wilson et al. zeigten, dass die Rekonstruktion der Position eines Versuchstieres im Raum bei der Exposition zu einer neuen Umgebung anhand der gemessenen Platzzellaktivität eine höhere Genauigkeit hat, wenn sich das Versuchstier vorher etwa 10 min innerhalb der neuen Umgebung aufgehalten hatte [91]. Diese

Ergebnisse können so interpretiert werden, dass die CA1-Pyramidenzellaktivität zu Beginn einer Exposition zu einer neuen Umgebung unorganisiert ist und sich über die Dauer von etwa 10 min stabilisiert. Ein vollständiges Angleichen der Repräsentation der neuen Umgebung *N* an die Repräsentation von *F* konnte hier erst am Ende des zweiten Tages, also nach mindestens 40 min innerhalb von *N* bestätigt werden. Nakazawa et al. zeigten ebenfalls Konsolidierungsprozesse nach der Exposition in eine neue Teilumgebung von mindestens 15 min [59]. Frank et al. bewiesen, dass die Formierung einer stabilen Repräsentation der Umwelt im Hippokampus eine Frage der Zeit ist, die sich ein Versuchstier in der Umgebung aufhält. Sie zeigten außerdem, dass eine Exposition zu der neuen Umgebung von 1-2 min nicht ausreicht, um eine ausreichende Platzzellrepräsentation auszubilden [21]. Ein ähnliches Phänomen wurde auch von Leutgeb et al. 2004 festgestellt [36]. Sie ließen ein Versuchstier auf einem Versuchstisch mit bereits bekannter Form einen neuen Raum frei erkunden. Die Repräsentation zwischen der bereits bekannten Umgebung und der neuen war während der ersten Exposition bei CA1-Platzzellen sehr hoch. Jedoch kommen auch Leutgeb et al. zu dem Schluss, dass die CA1-Repräsentation der Umwelt am ersten Tag einer Exposition in eine neue Umgebung noch nicht abgeschlossen sei.

Durch die Mindestdauer eines Versuchsabschnittes von 10 min in dem vorliegenden Versuchsaufbau konnten die Ergebnisse von Frank et al. mit dem hier angewandten Versuchsprotokoll nicht überprüft werden. Eine einmalige Exposition von 10 min reichte zwar für eine genaue Repräsentation der Umwelt aus, da die Korrelationen der Segmentraten zweier Hälften eines Versuchsabschnittes höher waren als diejenigen aus *F*. Dieser Effekt nahm jedoch auch bei den nächsten Expositionen zu *N* zu.

Eine Veränderung des Raumes allein, mit dem Beibehalten des Versuchstisches, wie sie bei Shapiro et al. 1997 beschrieben wurde, führte ebenso zu einer vollständigen Veränderung des Platzzellverhaltens. Die Platzfelder in der neuen Umgebung wurden bei diesen Versuchen erst nach 5-30 min stabil. Die Platzzellen feuerten davor diffus ohne eine räumliche Selektivität oder nur selten [74]. Dieses Phänomen konnte in den hier beschriebenen Versuchen nicht nachgewiesen werden. Die Platzzellen feuerten hier meist bereits bei der ersten Durchquerung des Platzfeldes mit deutlich

räumlicher Selektivität. Bei einigen Platzzellen, die erst nach einer späteren Durchquerung des Platzfeldes aktiv wurden, konnten vorher einige wenige extrazelluläre Potentiale abgeleitet werden, die meisten blieben allerdings komplett inaktiv.

Mehta et al. zeigten eine Plastizität der Platzfelder in einer linearen, kreisförmigen Versuchsumgebung. Die Platzfelder verschoben sich entgegen der Bewegungsrichtung des Versuchstieres von Runde zu Runde [46]. In den beschriebenen Versuchen konnten jedoch hohe Korrelationen der Segmentraten der zweiten mit den Segmentraten der ersten Hälfte eines Versuchsabschnittes nachgewiesen werden. Die Korrelationskoeffizienten dieser Korrelation stiegen in den ersten Expositionen zu einer neuen Umgebung sogar weiter an. In den Versuchen von Mehta et al. konnten solche Effekte in gleicher Weise in der bekannten Umgebung nachgewiesen werden. Leider wurden die Versuche von Mehta et al. in der neuen Umgebung nicht über weitere Tage wiederholt, so dass ein Verlauf über mehrere Expositionen zu N nicht beobachtet werden konnte.

4.1.6. EEG

Theta war während der Expositionen zu der neuen Umgebung signifikant erhöht. Damit konnte gezeigt werden, dass die neue Umgebung von dem Versuchstier auch wirklich als neu empfunden wurde und im Vergleich zu den Versuchsabschnitten in der bekannten Umgebung aufmerksamer exploriert wurde. Wie von G Buzsaki 2002 beschrieben, kann die hippocampale Theta Oszillation als Indiz für eine erhöhte Aufmerksamkeit gewertet werden [10]. Die erhöhte Gamma-Aktivität in den Versuchsabschnitten auf dem Versuchstisch bestätigt einen Zustand gesteigerter Aufmerksamkeit, während das Versuchstier sich in dem Versuchsraum bewegte, verglichen mit denen in der *Box*. Dort konnte das Versuchstier ruhen. Ein gesteigertes Auftreten von *slow wave sleep* (Delta) konnte jedoch auch während der *Box-Sessions* nicht nachgewiesen werden.

Eine vermehrte Aktivität von Oszillationen im Bereich >200 Hz konnte aufgrund der geringen Aufnahmezeit des *LFP* nicht ermittelt werden.

4.1.7. Remapping

Platzzellen ändern ihr Aktivitätsmuster als Antwort auf scheinbar eher unbedeutende Veränderungen. Platzfelder können dabei neu in Erscheinung treten, verschwinden oder zu unvorhersagbaren Orten wechseln [11], [55]. Es gibt mehrere Ursachen, die ein Remapping zur Folge haben können. Hierzu gehören Veränderungen des experimentsspezifischen Kontextes wie bspw. der Wechsel von einer neutralen Umgebung zu einer, in der ein angstkonditioniertes Experiment durchgeführt wurde, oder aber die Änderung der von dem Versuchstier zu erfüllenden Aufgabe [48]. Aber auch durch Veränderungen der räumlichen Umwelt wie zum Beispiel die Form des Versuchstisches oder der umgebenden Wand führten zu Remapping [38], [55].

Leutgeb et al. beschreiben zwei unterschiedliche Arten des *Remappings*: zum einen das *Rateremapping*, bei dem die Population der vorhandenen Neurone sowie die Platzfelder gleich bleiben, sich jedoch die Frequenz ändert, zum anderen das globale Remapping, bei dem sich sowohl die Verteilung der Platzfelder als auch die Entladungsrate der Platzzellen ändern. Leutgeb et al. beschreiben, wie sich globales Remapping bei der Veränderung des Versuchsumfeldes unter Beibehaltung des Versuchstisches bzw. der nächsten Umgebung des Versuchstieres ereignet [37]. *Rateremapping* kann die Darstellung unterschiedlicher Erfahrungen innerhalb eines Versuches also von einem Versuchsdurchgang zu dem nächsten sein. Dies kann sich auch im Verlauf von wenigen Sekunden ereignen [17]. Colgin et al. kommen zu dem Schluss, dass Remapping ein neuronaler Mechanismus sei, um Erinnerungen zu trennen und getrennt zu verwerten [11]. In den in dieser Arbeit dargestellten Versuchen wurde keine Form des *Remappings* beobachtet. Die Korrelationen der Segmentraten sowie der Flächenraten für *FF* und *NN* waren an allen vier Tagen weit über den Zufallskorrelationen. Jedoch änderten sich die Raten der Platzzellen in unterschiedlichen aufeinanderfolgenden Versuchsabschnitten drastisch (Abbildung 11). Dieser Effekt wurde jedoch nicht bei allen Komplexzellen beobachtet. Ebenso konnte dieser Effekt auch an den Tagen eins und zwei beobachtet werden und ist damit nicht auf die Einführung der neuen Umgebung zurückzuführen.

4.2. Rückschlüsse auf die Gedächtniskonsolidierung

Der Hippokampus ist seit langer Zeit als wichtige Hirnregion für das Erlangen neuer Gedächtnisinhalte bekannt [7], [47]. Er wird ebenfalls als essentiell für das episodische Gedächtnis beschrieben [1], [85]. Der Hippokampus scheint bei der Ratte und anderen Nagetieren die Hirnregion zu sein, die die Umgebung der Tiere repräsentiert und den Ort des Tieres in der Umgebung. Dadurch scheint der Hippokampus die Grundlage für räumliches Gedächtnis aber auch für die Navigation im Raum zu bilden [7]. Wie in 1.2.2 erwähnt, bestehen viele afferente Verbindungen zum hippokampalen Komplex, die meisten über den entorhinalen Kortex [94]. Von dort aus werden Informationen über den ebenfalls räumlich selektiven Gyrus dentatus sowohl an die CA3- als auch die CA1-Region weitergeleitet [27]. Es bestehen Verbindungen innerhalb des Hippokampus von der CA3- zu der CA1-Region und von dieser direkt aber auch indirekt über das Subikulum zurück zum entorhinalen Kortex [54]. Eine genaue Entstehung der CA1 *spatial map* durch die vorgeschalteten Gitterzellen ist bisher ungeklärt. Moser et al. zeigen die Möglichkeit auf, dass Platzzellen mit einem einzigen Platzfeld aus der kombinierten Aktivität mehrerer Gitterzellen aktiviert werden können. Es besteht aber auch eine Möglichkeit, dass Platzzellen erst durch Lernprozesse (Hebb'sche Lernprozesse) und Langzeitpotenzierung (*LTP*) aus dem *grid cell*-Signal entstehen.

Neue Informationen gelangen über den entorhinalen Kortex in die hippokampale Formation. Dort werden sie in eine virtuelle Karte der Umgebung, die *spatial map*, eingebettet. In nachfolgenden Schlafperioden werden Verbindungen zwischen Hippokampus und Neokortex reaktiviert und so außerhalb des Hippokampus gespeichert und konsolidiert [9]. Dies geschieht in 200 Hz-Oszillationen, auch *Sharp-wave ripple* (SPW-R) genannt [10]. In der Tat führt die Induzierung von *LTP* auch in vitro zu *SPW-Rs* [5].

Das Explorieren einer neuen Umgebung wird dadurch unterstützt, dass Platzzellen einer bereits bekannten Umgebung ein Platzfeld in der neuen Umgebung entwickeln. Dadurch ist es möglich, beim Explorieren einer unbekannteren Umgebung neue Informationen in einen bereits bestehenden Rahmen einzubetten und zu speichern.

Diese Explorationen erfolgen in einem Zustand erhöhter, neuronaler Aufmerksamkeit. Im Laufe der Zeit und nach mehreren Expositionen zu der neuen Umwelt wird diese wie eine bereits bestehende Umgebung neuronal gespeichert.

4.2.1. Anwendbarkeit auf den Menschen

Die Mehrheit experimenteller Studien von Platzzellen wird an Ratten und Mäusen durchgeführt. Die Anwendbarkeit auf den Menschen ist nicht direkt nachgewiesen, wird aber angenommen. Um ein episodisches Gedächtnis zu bilden, muss das Individuum sich seiner Rolle in der Vergangenheit bewusst sein, also ein „Selbstbewusstsein“ haben [86]. Bei anderen Spezies lässt sich dies schwer annehmen. Dennoch kommen O'Keefe und Nadel sowie Frank et al. zu dem Schluss, dass der Hippokampus und die zum hippocampalen Komplex gehörenden Regionen ähnliche Funktionen über die Grenzen von Spezies hinweg erfüllen [22], [61].

4.2.2. Limitationen

Das über die Kamera aufgenommene Signal der Position des Versuchstieres war in einigen Läufen durch unmögliche Positionen fehlerhaft. Dies wurde durch Reflektionen zum einen an den Klammern, an welchen die Orientierungspunkte befestigt waren, ausgelöst, vor allem aber durch Reflektionen an den Wänden der Box. Durch die visuelle Kontrolle des Videobildes und manueller Einstellung von Kontrast und Helligkeit vor Versuchsbeginn wurde diese Störung jedoch minimiert.

Tint errechnete die Geschwindigkeit, mit der das Versuchstier die Wegstrecke von einem aufgenommenen Positionspunkt zum nächsten zurückgelegt haben muss. Bei der anschließenden Datenanalyse wurden Positionen nicht berücksichtigt, bei denen das Tier eine Geschwindigkeit von mehr als 50 m/s zurückgelegt hatte. Positionen, die mehr als 15 cm vom Rand des Versuchstisches entfernt lagen, wurden ebenfalls nicht berücksichtigt (vgl. Abbildung 8). Dabei wurden auch elektrophysiologische Daten während dieser Störsignale bei der weiteren Analyse nicht berücksichtigt.

Einige Versuchabschnitte (vgl. Tabelle 2) wurden durch einen Systemabsturz unterbrochen. Das System wurde anschließend sofort wieder gestartet und die Aufnahme fortgesetzt. Das Versuchstier wurde in der Zwischenzeit nicht von dem Versuchstisch genommen. Die Belohnung konnte während des Neustarts nicht fortgeführt werden. Durch den Neustart entstand eine Unterbrechung von etwa 100 s.

Die getrennt gespeicherten Versuchabschnitte konnten mit dem Programm Tint gemeinsam bearbeitet werden und wurden durch das Programm FRate zu einer Datei zusammengeführt und bei den nachfolgenden Analysen mit Matlab wie ein nicht unterbrochener Versuchsabschnitt behandelt.

Die beiden Versuchstische, in denen sich die bekannte bzw. die neue Umgebung für das Versuchstier befanden, sowie die Box standen im selben Raum. Dadurch konnten Geräusche gleicher Geräuschquellen innerhalb beider Vorhänge wahrgenommen werden. Die Abnahme der Korrelationskoeffizienten nach Einführung der neuen Umgebung und der Einfluss der Einführung der neuen Umgebung auf die neuronale Repräsentation der bereits bekannten Umgebung lassen jedoch vermuten, dass die beiden Umgebungen (F und N) tatsächlich als unterschiedliche Umgebungen von dem Versuchstier wahrgenommen wurden.

4.3. Zusammenfassung

Die in dieser Arbeit beschriebenen Ergebnisse legen zum einen nahe, dass sowohl zuvor inaktive Komplexzellen bei der Erkundung einer neuen Umgebung aktiviert werden aber auch, dass ein geringerer Teil dieser Zellen ein Platzfeld kodiert als bei Zellen in einer bekannten Umgebung. Von den Komplexzellen, die ein Platzfeld haben, hat ein Großteil ein Platzfeld auch in der bekannten Umgebung. Die Einführung der neuen Umgebung beeinflusst ebenso die Kodierung der bereits bekannten Umgebung. Im Laufe der folgenden Expositionen zur neuen Umgebung stabilisiert sich die Aktivität der Platzzellen in dieser und erreicht ähnliche Werte wie bei Zellen in der bekannten Umgebung.

5. Abkürzungsverzeichnis

ACSF	artificial, cerebrospinal fluid, künstliche Spinalflüssigkeit
ANOVA	<i>analysis of variance</i> , Varianzanalyse
CA	Cornu ammonis, Ammonshorn.
CSC	Complex-spiking-cell
EEG	Electroencephalographie
F	„familiar Environment“, die bekannte Umgebung
FF	Korrelationen der <i>Ratemaps</i> bzw. <i>Segrates</i> von bekannten Umgebungen
FN	Korrelationen der <i>Ratemaps</i> bzw. <i>Segrates</i> von bekannten Umgebungen mit zuvor unbekanntem Umgebungen
LAF	Laminar Air Flow
LFP	Local field potential, lokale Electroenzephalogrammableitung
LTP	Long term potentiation, Langzeitpotenzierung von synaptischen Verbindungen
N	„novel Environment“, die neue Umgebung
NN	Korrelationen der <i>Ratemaps</i> bzw. <i>Segrates</i> von unbekanntem Umgebungen
PBS	Phosphate Buffered Saline
PFA	Paraformaldehyd, hier in 4 % <i>PBS</i> Lösung
SD	Standardabweichung (Standard deviation)
SW	Slow wave, langsame Oszillation im <i>LFP</i>
SWS	Slow wave sleep

6. Literaturverzeichnis

1. Aggleton JP, Brown MW. Interleaving brain systems for episodic and recognition memory. *Trends Cogn Sci.* 2006;10:455-63
2. Alvernhe A, Van Cauter T, Save E, Poucet B. Different CA1 and CA3 representations of novel routes in a shortcut situation. *J Neurosci.* 2008;28(29):7324-33
3. Battaglia FP, Treves A. Attractor neural networks storing multiple space representations: a model for hippocampal place fields. *Phys Rev E.* 1998;58:7738 –7753
4. Bear M, Connors B, Paradiso M. Dt. Ausg. Hrsg. Con Andreas K. Engel. Aus d. Engl. Übers. Von Andreas Held. *Neurowissenschaften.* Spektrum Akademischer Verlag. 2009
5. Behrens CJ, van den Boom LP, de Hoz L, Friedman A, Heinemann U. Induction of sharp wave-ripple complexes in vitro and reorganization of hippocampal networks. *Nat Neurosci* 2005;8:1560–1567
6. Birch D, Jacobs GH. Behavioral measurement of rat spectral sensitivity. *Vision Res.* 1975;15:687-691
7. Burgess N, Maguire EA, O'Keefe J. The Human Hippocampus and Spatial and Episodic Memory *Neuron.* 2002;35:625–641
8. Bragin A, Engel J, Wilson CL, Fried I, Buzsáki G. High-Frequency Oscillations in Human Brain. *Hippocampus.* 1999;9:137–142
9. Buzsáki G. Memory consolidation during sleep: a neurophysiological perspective. *J Sleep Res* 1998;7:17–23
10. Buzsáki G. Theta Oscillations in the Hippocampus. *Neuron.* 2002;33:325–340
11. Colgin LL, Moser EI, Moser MB. Understanding memory through hippocampal remapping. *Trends Neuroscience.* 2008;31(9):469-77
12. *Dacq Recording System User Guide.* Axona Ltd. 2004
13. Day M, Langston R, Morris RG. Glutamate-receptor-mediated encoding and retrieval of paired-associate learning. *Nature.* 2003;424(6945):205-9
14. De Hoz L, Knox J, Morris RG. Longitudinal axis of the hippocampus: both septal and temporal poles of the hippocampus support water maze spatial

- learning depending on the training protocol. *Hippocampus*. 2003;13(5):587-603
15. De Hoz L, Wood ER. Dissociating the past from the present in the activity of place cells. *Hippocampus*. 2006;16(9):704-15
 16. Eichenbaum, H. Declarative memory: insights from cognitive neurobiology. *Annu. Rev. Psychol.* 1997;48, 547–572
 17. Fenton AA, Muller RU. Place cell discharge is extremely variable during individual passes of the rat through the firing field. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998;95(6):3182-7
 18. Ferbinteanu J, Shapiro ML. Prospective and Retrospective Memory Coding in the Hippocampus. *Neuron*. 2003;40:1227–1239
 19. Fyhn M, Molden S, Hollup S, Moser MB, Moser E. Hippocampal neurons responding to first-time dislocation of a target object. *Neuron*. 2002;35(3):555-66
 20. Fyhn M, Molden S, Witter MP, Moser EI, Moser MB. Spatial representation in the entorhinal cortex. *Science*. 2004;305(5688):1258-64
 21. Frank LM, Stanley GB, Brown EN. Hippocampal plasticity across multiple days of exposure to novel environments. *J Neurosci*. 2004;24(35):7681-9
 22. Frank LM, Brown EN, Stanley GB. Hippocampal and cortical place cell plasticity: implications for episodic memory. *Hippocampus*. 2006;16(9):775-84
 23. Gray CM, Maldonado PE, Wilson M, McNaughton B. Tetrodes markedly improve the reliability and yield of multiple single-unit isolation from multi-unit recordings in cat striate cortex. *J Neurosci Methods*. 1995;63(1-2):43-54
 24. Hafting T, Fyhn M, Molden S, Moser MB, Moser EI. Microstructure of a spatial map in the entorhinal cortex. *Nature*. 2005;436(7052):801-6
 25. Hill AJ (1978) First occurrence of hippocampal spatial firing in a new environment. *Exp Neurol* 62:282–297
 26. Janowsky JS, Shimamura AP, Squire LR. Source memory impairment in patients with frontal lobe lesions. *Neuropsychologia*. 1989;27(8):1043-56
 27. Jung MW, McNaughton BL. Spatial Selectivity of Unit Activity in the Hippocampal Granular Layer. *Hippocampus*. 1993;3(2):165-182
 28. Kjelstrup KB, Solstad T, Brun VH, Hafting T, Leutgeb S, Witter MP, Moser EI, Moser MB. Finite scale of spatial representation in the hippocampus. *Science*. 2008;321(5885):140-3

29. Knierim JJ, Kudrimoti HS, McNaughton BL. Place cells, head direction cells, and the learning of landmark stability. *J. Neurosci.* 1995;15:1648–59
30. Knierim JJ, Kudrimoti HS, McNaughton BL. Interactions between idiothetic cues and external landmarks in the control of place cells and head direction cells. *J. Neurophysiol.* 1998;80:425–46
31. Knierim JJ. Dynamic interactions between local surface cues, distal landmarks, and intrinsic circuitry in hippocampal place cells. *J Neurosci.* 2002;22(14):6254-64
32. Knierim JJ, Lee I, Hargreaves EL. Hippocampal place cells: parallel input streams, subregional processing, and implications for episodic memory. *Hippocampus.* 2006;16(9):755-64
33. Kroll NEA, Yonelinas AP. The contribution of recollection and familiarity to recognition memory in normals and amnesias. *Soc Neurosci Abs* 1997;23:1580
34. Lee AK, Wilson MA. Memory of sequential experience in the hippocampus during slow wave sleep. *Neuron* 2002;36:1183-1194
35. Lee I, Rao G, Knierim JJ. A double dissociation between hippocampal subfields: differential time course of CA3 and CA1 place cells for processing changed environments. *Neuron.* 2004;42(5):803-15
36. Leutgeb S, Leutgeb JK, Treves A, Moser MB, Moser EI. Distinct ensemble codes in hippocampal areas CA3 and CA1. *Science.* 2004;305(5688):1295-8
37. Leutgeb S, Leutgeb JK, Barnes CA, Moser EI, McNaughton BL, Moser MB. Independent codes for spatial and episodic memory in hippocampal neuronal ensembles. *Science.* 2005;309(5734):619-23
38. Leutgeb JK, Leutgeb S, Treves A, Meyer R, Barnes CA, McNaughton BL, Moser MB, Moser EI. Progressive transformation of hippocampal neuronal representations in "morphed" environments. *Neuron.* 2005;48(2):345-58
39. Lever C, Wills T, Cacucci F, Burgess N, O'Keefe* J. Long-term plasticity in hippocampal place-cell representation of environmental geometry. *Nature.* 2002;416, 90–94
40. Levy DA, Bayley PJ, Squire LR. The anatomy of semantic knowledge: medial vs. lateral temporal lobe. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004;101(17):6710-5
41. Maier N. (2006): Elektrophysiologische Untersuchungen zu *sharp wave–ripple* Komplexen im Hippocampus der Maus *in vitro*. Dissertation, Medizinischen Fakultät der Charité – Universitätsmedizin Berlin, Berlin.

42. McNaughton BL, Barnes CA, O'Keefe J. The contributions of position, direction, and velocity to single unit activity in the hippocampus of freely-moving rats. *Exp Brain Res*. 1983;52(1):41-9
43. McNaughton BL, Barnes CA, Meltzer J, Sutherland RJ. Hippocampal granule cells are necessary for normal spatial learning but not for spatially-selective pyramidal cell discharge. *Experimental Brain Research*. 1989;76:485-496
44. McNaughton BL, Barnes CA, Gerrard JL, Gothard K, Jung MW, Knierim JJ, Kudrimoti H, Qin Y, Skaggs WE, Suster M, Weaver KL. Deciphering the hippocampal polyglot: the hippocampus as a path integration system. *J Exp Biol*. 1996;199(Pt 1):173-85
45. McNaughton BL, Battaglia FP, Jensen O, Moser EI, Moser M-B. Path integration and the neural basis of the "cognitive map." *Nat Rev Neurosci*. 2006;7:663–678
46. Mehta MR, Barnes CA, McNaughton BL. Experience-dependent, asymmetric expansion of hippocampal place fields. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997;94(16):8918-21
47. Milner B. Memory and the human brain. In: Shaffo M. *How We Know*. Harper and Row 1985
48. Moita MA, Rosis S, Zhou Y, LeDoux JE, Blair HT. Putting fear in its place: remapping of hippocampal place cells during fear conditioning. *J Neurosci*. 2004;24(31):7015-23
49. Morris RG, Garrud P, Rawlins JN, O'Keefe J. Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions. *Nature*. 1982;297(5868):681-3
50. Morris, R. Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. 1984; *J. Neurosci. Meth*, 11, 47±60
51. Morris RG. Further studies of the role of hippocampal synaptic plasticity in spatial learning: is hippocampal LTP a mechanism for automatically recording attended experience? *J Physiol Paris*. 1996;90(5-6):333-4
52. Moser EI. Altered inhibition of dentate granule cells during spatial learning in an exploration task. *J Neurosci*. 1996;16(3):1247-59
53. Moser EI, Moser MB, Lipa P, Newton M, Houston F, Barnes C, McNaughton B. A test of the reverberatory activity hypothesis for hippocampal 'place cells'. *Neuroscience* 2005;130:519–526
54. Moser EI, Moser MB. A Metric for Space. *Hippocampus* 2008;18:1142-1156

55. Muller RU, Kubie JL. The effects of changes in the environment on the spatial firing of hippocampal complex-spike cells. *J Neurosci.* 1987;7(7):1951-68
56. Muller RU, Kubie JL. The firing of hippocampal place cells predicts the future position of freely moving rats. *J Neurosci.* 1989; 9(12):4101-10
57. Muller R. A quarter of a century of place cells. *Neuron.* 1996;17(5):813-22
58. Nadel L, Eichenbaum H. Introduction to the special issue on place cells. *Hippocampus.* 1999;9(4):341-5
59. Nakazawa K, Sun LD, Quirk MC, Rondi-Reig L, Wilson MA, Tonegawa S. Hippocampal CA3 NMDA receptors are crucial for memory acquisition of one-time experience. *Neuron.* 2003;38:305–315
60. O'Keefe J, Dostrovsky J. The hippocampus as a spatial map. Preliminary evidence from unit activity in the freely-moving rat. *Brain Res.* 1971;34(1):171-175
61. O'Keefe J, Conway DH. Hippocampal place units in the freely moving rat: why they fire where they fire. *Exp. Brain Res.* 1978;31:573–90
62. O'Keefe J, Recce ML. Phase relationship between hippocampal place units and the EEG theta rhythm. *Hippocampus.* 1993;3:317-330
63. O'Keefe, J. & Burgess, N. Geometric determinants of the place fields of hippocampal neurons. *Nature* 1996;381:425-428
64. Paxinos G. The rat nervous system. Elsevier, Academic Press 2004
65. Paxinos G, Watson C. The Rat Brain. Academic Press 1998
66. Pschyrembel. Klinisches Wörterbuch. 258. Auflage. deGruyter Verlag 1998
67. Quirk GJ, Muller RU, Kubie JL. The firing of hippocampal place cells in the dark depends on the rat's recent experience. *J. Neurosci.* 1990;10:2008–17
68. Ranck J. Studies on single neurons in dorsal hippocampal formation and septum in unrestrained rats. Part 1. Behavioral correlates and firing repertoires. *Exp. Nezzrol.* 1973;41:461-531
69. Rolls ET, O'Mara SM. View-responsive neurons in the primate hippocampal complex. *Hippocampus.* 1995;5(5):409-24
70. Sachs L, Hedderich J. Angewandte Statistik. 12. Auflage Springer Verlag 2006
71. Samsonovitch A, McNaughton BL. Path integration and cognitive mapping in a continuous attractor neural network model. *J. Neurosci.* 1997;17:5900–5920

72. Senior TJ, Huxter JR, Allen K, O'Neill J, Csicsvari J. Gamma oscillatory firing reveals distinct populations of pyramidal cells in the CA1 region of the hippocampus. *J Neurosci*. 2008 Feb 27;28(9):2274-86
73. Schulz D, Huston JP, Jezek K, Haas HL, Roth-Härer A, Selbach O, Luhmann HJ. Water maze performance, exploratory activity, inhibitory avoidance and hippocampal plasticity in aged superior and inferior learners. *European J Neurosci*. 2002;16(11):2175-85
74. Shapiro ML, Tanila H, Eichenbaum H. Cues that hippocampal place cells encode: dynamics and hierarchical representation of local and distal stimuli. *Hippocampus*. 1997;7: 624–642
75. Sharp, P. E., Blair, H. T., Etkin, D. & Tzanetos, D. B. Influences of vestibular and visual motion information on the spatial firing patterns of hippocampal place cells. *J. Neurosci*. 1995;15:173–189
76. Skaggs WE, McNaughton BL, Wilson MA, Barnes CA. Theta phase precession in hippocampal neuronal populations and the compression of temporal sequences. *Hippocampus*. 1996;6(2):149-72
77. Solstad, T, Moser, EI; Einevoll, GT. From grid cells to place cells: a mathematical model. *Hippocampus*. 2006;16:1026–1031
78. Squire LR, Ojemann JG, Miezin FM, Petersen SE, Videen TO, Raichle ME. Activation of the hippocampus in normal humans: a functional anatomical study of memory. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1992;89(5):1837-41
79. Squire, L. R., Knowlton, B. & Musen, G. The Structure and organization of memory. *Annu. Rev. Psychol*. 1993;44:453–495
80. Squire LR; Zola SM. Structure and function of declarative and nondeclarative memory systems. *Proc Nat Acad Sci U. S. A*. 1996;93:13515-13122
81. Squire LR, Zola SM. Episodic memory, semantic memory, and amnesia. *Hippocampus*. 1998;8(3):205-11
82. Squire LR, Stark CE, Clark RE. The medial temporal lobe. *Annu Rev Neurosci*. 2004;27:279-306
83. Thompson LT, Best PJ. Long-term stability of the place-field activity of single units recorded from the dorsal hippocampus of freely behaving rats. *J. Brain Res*. 1990;509(2):299-308
84. Treves A, Tashiro A, Witter ME, Moser EI. What is the mammalian dentate gyrus good for? *Neuroscience*. 2008;154(4):1155-1172

85. Tulving E, Markowitsch HJ. Episodic and declarative memory: role of the hippocampus. *Hippocampus*. 1998;8(3):198-204
86. Tulving E. Episodic memory: from mind to brain. *Annual Review of Psychology*. 2002;53:1-25
87. Van Cauter T, Poucet B, Save E. Unstable CA1 place cell representation in rats with entorhinal cortex lesions. *Eur J Neurosci*. 2008;27(8):1933-46
88. Vanderwolf CH. Hippocampal electrical activity and voluntary movement in the rat. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*. 1969;26(4):407-18
89. Welsch Ulrich, *Lehrbuch Histologie*, München 2006
90. Wills TJ, Lever C, Cacucci F, Burgess N, O'Keefe J. Attractor dynamics in the hippocampal representation of the local environment. *Science*. 2005;308(5723):799-800
91. Wilson MA, McNaughton BL. Dynamics of the hippocampal ensemble code for space. *Science*. 1993;261(5124):1055-8
92. Wilson IA, Ikonen S, Gurevicius K, McMahan RW, Gallagher M, Eichenbaum H, Tanila H. Place cells of aged rats in two visually identical compartments. *Neurobiol Aging*. 2005;26(7):1099-106
93. Witter MP, Groenewegen HJ, Lopes da Silva FH, Lohman AHM. Functional organization of the extrinsic and intrinsic circuitry of the parahippocampal region. *Prog. Neurobiol*. 1989;33:161
94. Witter MP, Amaral DG. Hippocampal formation. aus: Paxinos G, editor. *The Rat Nervous System*, 3. Edition. San Diego: Academic Press. 2004
95. Witter MP. The perforant path: projections from the entorhinal cortex to the dentate gyrus. *Prog Brain Res*. 2007;163:43-61
96. Wood ER, Dudchenko PA, Eichenbaum H. The global record of memory in hippocampal neuronal activity. *Nature* 1999;397:613-616
97. Wright RL, Conrad CD. Enriched environment prevents chronic stress-induced spatial learning and memory deficits. *Behav Brain Res*. 2008;187(1):41-7

7. Danksagung

Ich danke Herrn Prof. Heinemann für die Überlassung des Themas, die finanzielle Unterstützung sowie die unbezahlbare Unterstützung durch viele hilfreiche Gespräche.

In gleicher Weise möchte ich Dr. Livia de Hoz danken, ohne die diese Arbeit nicht zustande gekommen wäre und für deren Unterstützung und Hilfe ich sehr dankbar bin.

Mein Dank gilt weiterhin allen Mitarbeitern des Institutes für Neurophysiologie insbesondere Anna Armelin und Ludger Näkel sowie den Mitgliedern des Graduiertenkollegs 1123 „Learning and Memory“ für den Gedankenaustausch und die vielen hilfreichen Gespräche.

Großer Dank gilt auch Dr. Genela Morris aus dem Neurowissenschaftlichen Forschungszentrum der Charité für die Einführung in das Programm Matlab, sowie Barbara Dörrscheidt und Christoph Marschke für das Korrekturlesen dieser Arbeit.

Schließlich möchte ich meinen Eltern, und meiner Familie danken, die mich immer unterstützt haben, insbesondere Johanne Heidelk, die viel Zeit geopfert und mich bei meiner Arbeit ständig unterstützt hat.



Diese Arbeit wurde durch das Graduiertenkolleg 1123 „Learning and Memory“ der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) unterstützt und finanziert.

8. Lebenslauf

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

9. Erklärung

„Ich, Tilman Lüdert, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: „Das Verhalten platzspezifischer hippokampaler *CA1-Pyramidenzellen* und deren Modulation im Schlaf nach Exposition zu einer neuen Umgebung“, 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.“

Mittwoch, 2. Juni 2010

Unterschrift