

IV Methodik und Materialien

Akute Hirnschnitte. Drei Wochen bis fünf Monate alte C57Bl/6-Mäuse beiderlei Geschlechts wurden unter Äthernarkose dekapitiert. Das Gehirn wurde freipräpariert und in gekühlte ($\sim 4^{\circ}\text{C}$) artifizielle Cerebrospinalflüssigkeit (ACSF) transferiert. Zur Einstellung des physiologischen pH-Wertes (pH 7.4) wurde diese Lösung mit Carbogen (95% O_2 , 5% CO_2) begast; die Zusammensetzung der ACSF betrug (in mM) NaCl 129, KCl 3, MgSO_4 1.8, CaCl_2 1.6, Glucose 10, NaH_2PO_4 1.25, NaHCO_3 21. Mit einem Vibratom (Campden Instruments, Sileby, UK) erfolgte das Schneiden horizontaler Hippocampus-Hirnschnitte (300-450 μm). Diese wurden in eine Aufbewahrungs- und Messkammer vom Interface-Typ (modifiziert nach Haas) überführt. Zur Begünstigung der Gewebehomöostase begannen die Messungen nicht früher als 2 Stunden nach der Präparation.

Elektrophysiologie. Extrazelluläre Feldpotentiale wurden mit Glas- (äußerer Durchmesser 5-10 μm) oder Platindrahtelektroden (20 μm) abgeleitet. Patch-clamp-Ableitungen in der Ganzzell-Konfiguration (25) wurden mit einem Axon Multi-clamp 700A-Verstärker durchgeführt (Axon Instruments, Foster City, USA). Borosilikat-Glas-Elektroden enthielten intrazelluläre Lösung, die aus 120 mM Cs-Gluconat, 5 mM CsCl, 10 mM TEA-Cl, 8 mM NaCl, 10 mM HEPES, 5 mM EGTA, 4 mM MgATP, 0.3 mM Na_3GTP und 5 mM QX-314 zusammengesetzt war; der pH wurde mit CsOH auf 7.3 eingestellt. Wiederholt wurden Eingangs- und Serienwiderstand kontrolliert; Abweichungen des $R_s > 15\%$ wurden nicht toleriert. Experimente mit scharfen Mikroelektroden erfolgten mit einem Brückenverstärker (BA-1S; npi electronics, Tamm, BRD) und Glas-elektroden folgender Parameter: Äußerer Durchmesser 1.2 mm; Impedanz 40-90 M Ω ; 1-3 M Kaliumacetat-Lösung. Nach dem elektrischen Zugang zur Zelle wurde diese durch negativen Strom auf -90 bis -120 mV hyperpolarisiert und für etwa 10 min auf diesem Potential gehalten. Nach Stabilisierung des Zellpotentials erfolgte eine Reduktion der Strominjektion auf 0 und die Bestimmung des Ruhemembranpotentials. Der Eingangswiderstand der Zellen variierte zwischen 20 und 60 M Ω . Zur Charakterisierung wurden die Zellen schrittweise für 200 ms hyper- und depolarisiert. Die Kompensation der Brückenschaltung wurde während des Experimentes mehrfach kontrolliert und ggf. erneut abgeglichen. Am Ende der Messung wurde das „Offset“-Potential ermittelt und bei der Auswertung zur Bestimmung des tatsächlichen Potentials von den gemessenen

Daten subtrahiert. Elektrische Stimulationen erfolgten mit monopolaren Glas- oder bipolaren Platindraht-Elektroden (Durchmesser: 20-50 μm).

Druckgesteuerte lokale Applikationen von KCl wurden bei 0.4-2.0 bar und Pulsdauern von 5-30 ms mit einer Druckapplikationseinheit durchgeführt (Institutseigenbau oder Picospritzer III, Parker Instrumentation, Chicago, USA).

Datenverarbeitung. Die Signale wurden adäquat verstärkt (siehe (1)-(3)) und bei 1-3 kHz Tiefpass-gefiltert. Die Digitalisierung der Daten erfolgte unter Beachtung des Nyquist-Kriteriums (26; Abtastung mit 5-10 kHz). Aufzeichnung und Speicherung der Daten auf einem PC sowie die *post hoc*-Analyse wurden mit der Spike2-Software (CED, Cambridge, UK) oder Igor Pro (Wavemetrics, Lake Oswego, USA) durchgeführt. Die Analyse umfasste digitale Filterung, die Bestimmung des Frequenzgehaltes der Daten mithilfe der schnellen Fourier-Transformation, Berechnung von Auto- und/oder Kreuzkorrelationsfunktionen und die Bestimmung von Interspike-Intervall-Verteilungen (siehe Abb. 2 hier und Abb. 1-3 in (2)).

Verwendete Pharmaka: Siehe Tabelle 1.

Statistische Auswertung. Quantitative Resultate wurden als Mittelwerte \pm Standardabweichung angegeben. Gruppen von Daten wurden mit dem nicht-parametrischen Wilcoxon-Test für gepaarte und dem Mann-Whitney *U*-Test für ungepaarte Daten getestet. *P*-Werte < 0.05 wurden als signifikant betrachtet.

Pharmakon	Zielstruktur/Wirkung	Konzentration
6-cyano-7-nitroquinoxaline-2,3-dione (CNQX)	AMPA-R/Kainat-R-Antagonist	20 μM
GYKI 53655	AMPA-R-Antagonist	20 μM
\pm -2-amino-5-phosphonopentanoic acid (\pm -APV)	NMDAR-Antagonist	30 μM
SR95531 (Gabazine)	GABA _A -R-Antagonist	0.3, 1.0, 3.0, 10.0 μM
Bicuculline-Methiodid	GABA _A -R-Antagonist	20 μM
CGP 55845	GABA _B -R-Antagonist	2 μM
4-Aminopyridine (4-AP)	Unspezifischer K ⁺ -Kanal-Blocker	100 μM
Carbenoxolone	Unspezifischer Gap junction-Blocker	100, 200 μM
1-Octanol	Unspezifischer Gap junction-Blocker	1 mM

Tabelle 1 Pharmaka, die im Rahmen der vorliegenden Studien verwendet wurden.