

Abbildung 6

Schnelle Induktion der CREB-Phosphorylierung nach Ausbildung hippocampaler LTP.

Linke Seite: Mit einem konfokalen Mikroskop aufgenommene, immunhistochemisch aufgearbeitete Hippocampusschnitte. Die coronaren Schnitte wurden von Tieren gewonnen, die entweder 5(n=4), 8(n=3), 15(n=4) oder 30(n=6) min vor ihrer Perfusion mit Hochfrequenzstimulation tetanisiert wurden. Die Schnitte wurden immunhistochemisch aufbereitet und mit pCREB-Antikörper inkubiert. Die Abbildungen stellen repräsentative Ergebnisse insgesamt dreier unabhängig voneinander durchgeführter Versuche dar.

Rechte Seite: Die korrespondierenden elektrophysiologischen Aufnahmen vor der Tetanisierung und zu den genannten Zeitpunkten nach der Tetanisierung. Die CREB-Phosphorylierung erfolgte unmittelbar als Antwort auf Stimuli, die LTP auslösen. Maßstab: 1 mm, HFS =Hochfrequenzstimulation

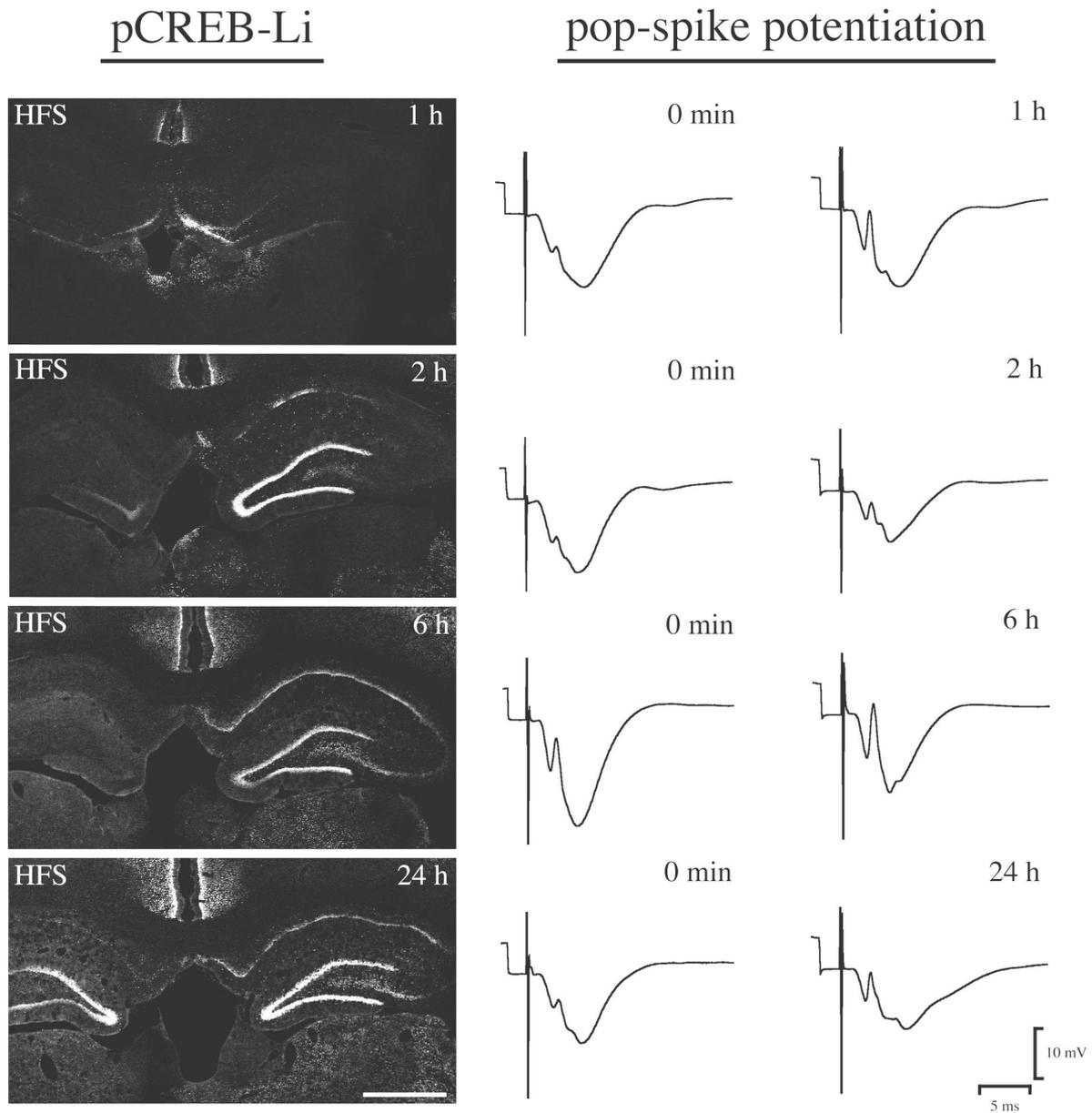


Abbildung 7

Zweiter Anstieg der CREB-Phosphorylierung in hippocampaler LTP. Linke Seite: Mit einem konfokalen Mikroskop aufgenommene, immunhistochemisch aufgearbeitete Hippo-

campusschnitte. Die coronaren Hippocampusschnitte wurden von Tieren gewonnen, die entweder 1(n=6), 2(n=3), 6(n=3) oder 24(n=3) h vor der Perfusion mit Hochfrequenzstimulation tetansiert wurden. Die Schnitte wurden immunhistochemisch aufbereitet und mit pCREB-Antikörper inkubiert. Die Abbildungen stellen repräsentative Ergebnisse, dreier unabhängig voneinander durchgeführter Versuche dar. Rechte Seite: Die korrespondierenden elektrophysiologischen Aufnahmen vor der Tetanisierung und zu den genannten Zeitpunkten nach Auslösung von HFS. Es kann festgestellt werden, dass die CREB-Phosphorylierung 1 h nach der Tetanisierung fast vollständig abgeklungen ist. Ein zweiter, länger anhaltender Gipfel erscheint ab dem 2 Stunden-Zeitpunkt und hält bis zum 24 Stunden-Zeitpunkt an. HFS= Hochfrequenzstimulation. Maßstab: 1 mm

Es kann festgestellt werden, dass CREB-Phosphorylierung nur selektiv als Antwort auf LTP-auslösende Reize in einer NMDA-abhängigen Weise erscheint. Die Frequenzen wurden so gewählt, dass hippocampale LTP nur selektiv durch den HFS-Reiz induziert werden konnte, wie Abb.8 (S.43) zeigt. Nach der Tetanisierung des Tractus perforans mit 200 Hz konnte zum 30 Minuten Zeitpunkt eine robuste CREB-Immunreaktivität im Gyrus dentatus und in der CA1-Region festgestellt werden. Im Gegensatz konnte hierzu bei den Tieren, die mit dem niedrigeren, nicht LTP auslösenden Reiz (LFS) behandelt wurden, keine CREB-Immunreaktivität festgestellt werden.

3.5 Hemmung der CREB-Phosphorylierung durch MK 801

Wie Abb. 8 (S.43) weiterhin zeigt, konnte durch die Behandlung der Ratten mit MK 801, einem spezifischen NMDA-Rezeptor-Antagonisten, nicht nur die Induktion von LTP sondern auch die Erhöhung der CREB-Immunreaktivität, als Antwort auf die Hochfrequenzstimulation, vollständig unterbunden werden. Der NMDA-Rezeptor ist ein unspezifischer Kationenkanal, der permeabel für Calcium, Kalium und Natrium ist und Bindungsstellen für Glycin, Zink, Phencyclidin und Magnesium aufweist. Der NMDA-Rezeptor ist ein Glutamat-gesteuerter Ionenkanal, der nur unter zwei Bedingungen öffnet. Präsynaptisch muß Glutamat freigesetzt worden sein und postsynaptisch muß eine

Depolarisierung vorliegen. Die Funktionsweise eines NMDA-Rezeptors entspricht somit der einer logischen UND-Verknüpfung. Damit ist der Rezeptor als Koinzidenz-Detektor zu bezeichnen. MK 801 ist ein nichtkompetitiver NMDA-Antagonist, der innerhalb der offenen Kanalpore bindet und den Rezeptor blockiert.

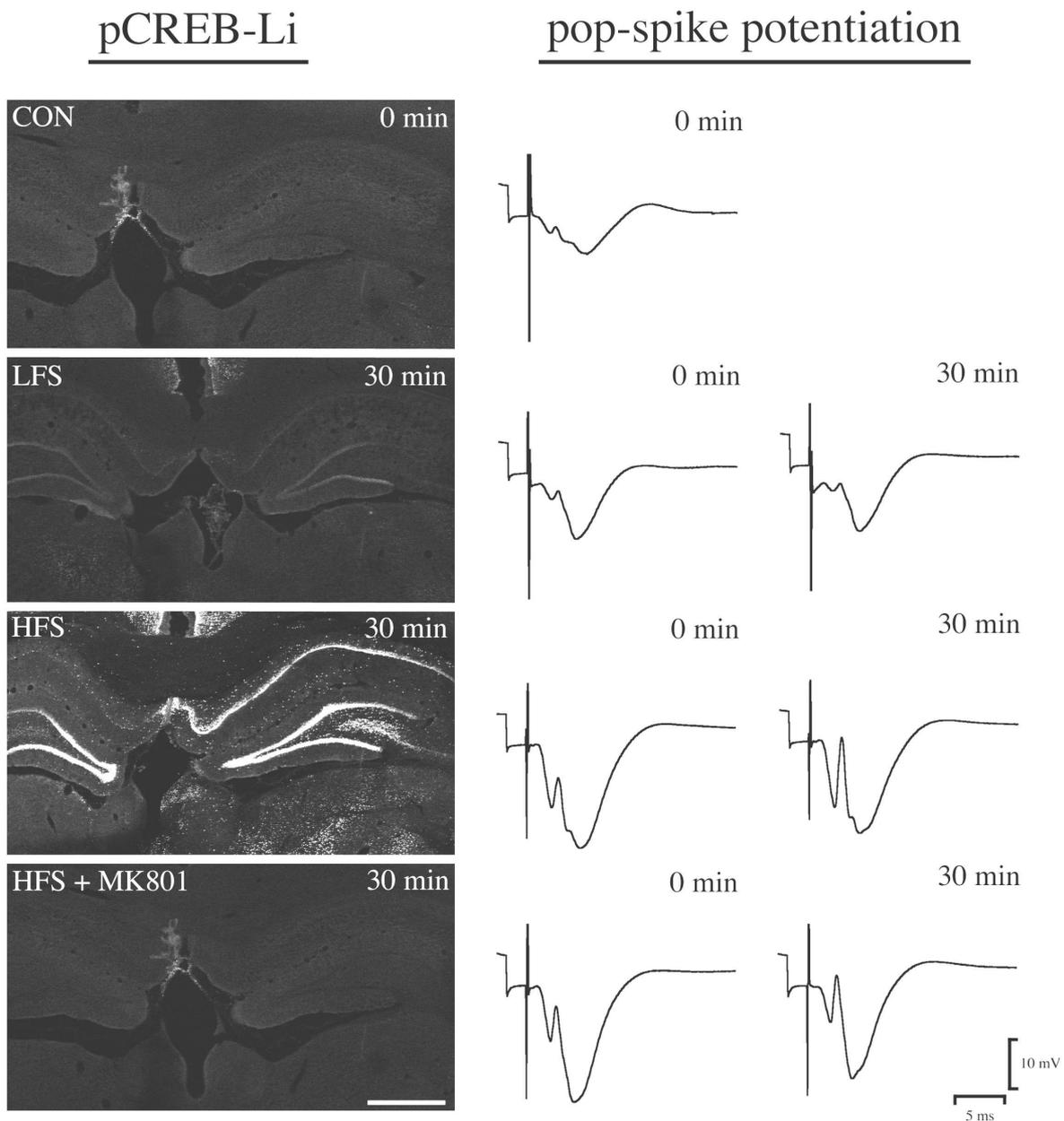


Abbildung 8

Stimuluspezifität der CREB Aktivierung bei hippocampaler LTP. Linke Seite: Mit einem konfokalen Mikroskop aufgenommene, immunhistochemisch aufbereitete Hippocam-

pusschnitte. Die coronaren Schnitte wurden von Tieren gewonnen, die entweder mit einer niedrigen, nicht LTP auslösenden Frequenz (LFS) (n=3) oder mit einer hohen Frequenz (HFS) (n=3) 30 min vor der transcordialen Perfusion tetanisiert wurden. Zusätzlich wurde eine Gruppe von Tieren 15 min vor der Tetanisierung mit MK 801 behandelt (0,3 mg/Kg, i.p.; n=3). Die Schnitte wurden immunhistochemisch aufbereitet und mit pCREB-Antikörper inkubiert. Die Abbildungen stellen repräsentative Ergebnisse dreier unabhängig voneinander durchgeführter Versuche dar. Rechte Seite: Die korrespondierenden elektrophysiologischen Aufnahmen vor der Tetanisierung und zu den genannten Zeitpunkten nach der Hochfrequenzstimulation. CON, Control; LFS, Niedrigfrequenzstimulation; HFS +MK 801, Hochfrequenzstimulation mit MK 801 Behandlung. Maßstab: 1 mm

3.6 CREB Aktivität während nichtdekrementaler und dekrementaler LTP

Es besteht grundsätzliche Übereinstimmung darüber, dass CREB eine Schlüsselrolle für die Konsolidierung der späten Phase von LTP hat, wie auch für die Konsolidierung des Langzeitgedächtnisses. Aus diesem Grunde wurden Versuche durchgeführt, die aufklären sollten, in welcher Form die CREB-Phosphorylierung mit dekrementaler und nichtdekrementaler LTP in Verbindung steht. Die dekrementale Form der Langzeitpotenzierung ist eine kurzanhaltende Form der Langzeitpotenzierung, die durch geringere Tetanisierungsraten induziert werden kann. Im Gegensatz hierzu ist die nichtdekrementale Form der LTP stabil und langanhaltend. Nachdem die Versuchstiere einen starken Stimulus (20 Tetanisierungen) erhalten hatten, welcher nichtdekrementale LTP induziert, zeigte sich eine robuste und deutliche Phosphorylierung von CREB im ipsilateralen Gyrus dentatus (Abb.9 /S.45 linke Spalte). Der Anstieg der CREB-Phosphorylierung konnte bis 6 h nach Auslösung von LTP nachgewiesen werden. Im Gegensatz dazu zeigten Tiere, die nur einen schwachen Stimulus (2 Tetanisierungen) erhielten, der dekrementale LTP auslöst, einen langsamen und sehr geringen Anstieg der CREB-Phosphorylierung. Sechs Stunden nach Auslösung von dekrementaler LTP konnte bei keinem der Tiere eine nennenswerte CREB-Phosphorylierung festgestellt werden.