

Abbildung 9

Unterschiedliche CREB-Phosphorylierung während nichtdekrementaler und dekrementaler LTP. Linke Seite: Nichtdekrementale LTP wurde durch die Stimulation des ipsila-

teralen Tractus perforans mit 20 Reizserien ausgelöst. Danach wurden die Tiere aus den Boxen entnommen und 0 (n=3), 30 (n=6), 120 (n=6) oder 360 (n=3) min später transcardial perfundiert. Rechte Seite: Dekrementale LTP wurde durch die Stimulation des Tractus perforans mit zwei Reizserien ausgelöst. Anschließend wurden die Tiere 0 (n=3), 30 (n=3), 120 (n=3) oder 360 (n=3) min später transcardial perfundiert. Die Schnitte wurden immunhistochemisch aufbereitet und mit pCREB-Antikörper inkubiert. A, B: Quantitative Ergebnisse der Pop-Spike-Potenzierung im ipsilateralen Gyrus dentatus. Die Abbildungen stellen repräsentative Ergebnisse dreier unabhängig voneinander durchgeführter Versuche dar. Nur Stimuli, die nichtdekrementale LTP induzierten, zeigten eine deutliche CREB-Phosphorylierung. Hingegen konnten Stimuli, die dekrementale LTP induzieren, keine CREB-Phosphorylierung induzieren.

### 3.7 Vergleich des Aktivitätsstatus zwischen CREB und MAP-Kinase in hippocampaler LTP

Es ist bereits gezeigt worden, dass die sequentielle Aktivierung des über extrazelluläre Signale regulierten ERK- MAP-Kinase Signalwege und der CREB Kinase-ribosomal S6 Kinase 2-(RSK 2) zu einer Phosphorylierung und Aktivierung von CREB führt (Impey et.al 1998). Der Aktivitätsstatus der MAP-Kinase konnte leicht durch den Einsatz eines gegen Tyrosin-204 phosphorylierten spezifischen Antikörper immunhistochemisch dargestellt werden. Wenn die ERK- / MAPK- Kaskade wirklich zu einer CREB-Phosphorylierung führen sollte, dann müsste die Aktivität der MAP-Kinase und des CREB in sich zeitlich überschneidenden Zeiträumen erwartet werden können. Die vorliegenden Ergebnisse zeigen hingegen 30 min nach der Tetanisierung und nach Anfärbung mit den phosphorylierungsspezifischen CREB- und MAP-Antikörpern strikt verschiedene regionale und subzelluläre Verteilungsmuster (Abb. 10 A-D/S.47). Wie pCREB-Immunreaktivität, konnte auch pMAP-Immunreaktivität besonders stark im ipsilateralen Gyrus dentatus festgestellt werden. Im Gegensatz dazu konnte pMAPK-Immunreaktivität nicht in den Granularzellkernen nachgewiesen werden. Statt dessen konnte die MAP-Kinase in den Nervenfasern, in verschiedenen polymorphen Lokalisationen als auch im Hilus nachgewiesen werden. pMAPK-Immunreaktivität konnte nicht

in der CA1-Region, sondern nur in der CA3-Region nachgewiesen werden. Im Gegensatz zu pCREB-Immunreaktivität konnte pMAPK-Immunreaktivität nicht in den Pyramidenzellkernen nachgewiesen werden. Allerdings konnte pMAPK sehr stark im Stratum oriens und Stratum radiatum festgestellt werden. Zuletzt wurde die Verteilung von aktivierten CREB-Proteinen, die mit einem Serin-133 phosphorylierungsspezifischen Antikörper detektiert wurden, und die Totalmenge von CREB mit einem phosphorylierungsspezifischen Antikörper untersucht. Hier konnten, wie in Abbildung 10 E und 10 F dargestellt, ähnliche Mengen absoluter immunreaktiver CREB-Proteine in allen Regionen beider Hippocampi und indifferenten Hirnregionen nachgewiesen werden. Durch diese Ergebnisse wird die Stimulationsspezifität der pCREB-Immunreaktivität unterstrichen.

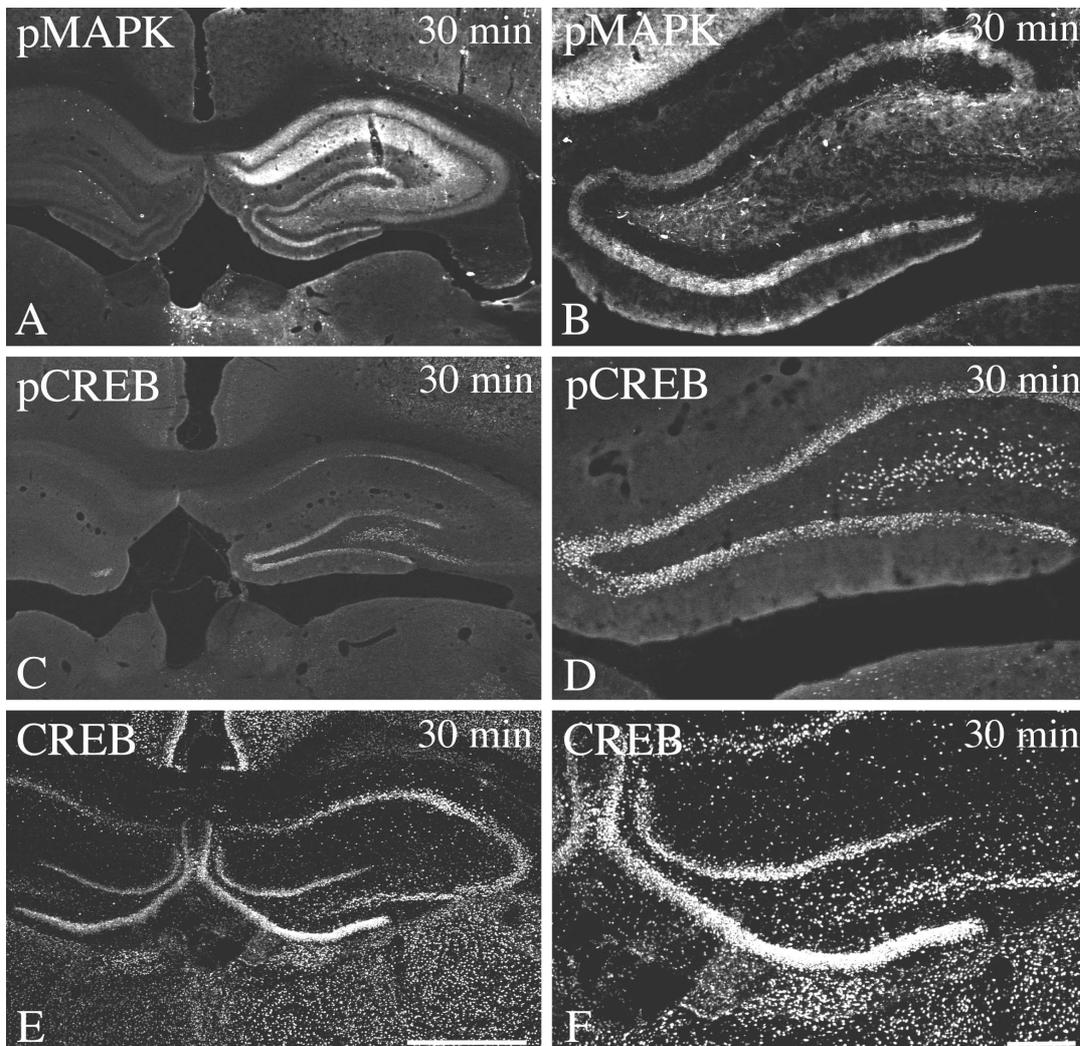


Abbildung 10

Vergleich der Immunreaktivität von pMAPK und pCREB zum 30 Minuten-Zeitpunkt nach der Induktion von LTP. Auf den Abbildungen werden immunhistochemisch mit pMAPK, CREB und pCREB-Antikörpern inkubierte Hirnschnitte von Tieren (n=3), die 30 min nach Auslösung von LTP transcardial perfundiert wurden, dargestellt. Die Abbildungen stellen repräsentative Ergebnisse dreier unabhängig voneinander durchgeführter Versuche dar. Bemerkenswert ist, dass sowohl die MAP-Kinase, als auch CREB 30 min nach der Auslösung von LTP im ipsilateralen Gyrus dentatus nachweisbar ist. Das räumliche Verteilungsmuster der CREB und MAPK-Immunreaktivität ist jedoch deutlich anatomisch differenziert. Zu diesem Zeitpunkt sind ebenfalls ähnliche Mengen immunreaktiver CREB-Proteine, umfaßt CREB und pCREB, in allen Regionen beider Hippocampi und an den angrenzenden Hirnregionen nachweisbar, was den Schluß zuläßt, dass die pCREB-Immunreaktivität als Antwort auf die tetanische Stimulation interpretiert werden kann. Maßstab : in (E) A,C,E 1mm; in (F) B,D,F 1 mm