

5. Diskussion

Diese Studie untersuchte unter Verwendung von in-vitro-elektrophysiologischen Untersuchungsmethoden am kombinierten Hippokampus-entorhinaler-Kortex-Präparat der Ratte im Hippokampus, der per se eine wichtige Instanz der Informationsaufnahme und -verarbeitung aller Säugetiere ist, eine sehr bedeutende Struktur - die Area CA1. Zur Erfüllung ihrer Aufgaben ist die direkte Verbindung zum entorhinalen Kortex (dCI), und somit zum Kortex als Ort der Informationsspeicherung sehr bedeutend. Untersucht wurden Gehirnschnitte unbehandelter und mit MK-801 behandelter Ratten in Standard-ACSF und Hirnschnitten von unbehandelten Ratten nach ACSF-Badapplikation verschiedener Rezeptor-Blocker. Untersucht wurde die direkte kortikale Projektion zwischen entorhinalem Kortex und Area CA1 in ihrer Fähigkeit, synaptische Plastizität, die als Äquivalent für Lernen und Gedächtnis angesehen wird, zu erfahren und in ihrer Fähigkeit, modulatorisch in den Informationsfluss in der Area CA1 einzugreifen. Die Studien sollten dazu beitragen, die Rolle verschiedener Rezeptorgruppen dieses Gehirnareals am Geschehen der synaptischen Plastizität zu verstehen und die Bedeutung dieser Struktur im Zusammenhang mit den während einer schizophreniformen Psychose beobachteten Defizite zu erhellen.

Es konnte gezeigt werden, dass eine niederfrequente Stimulation (LFS) der direkten kortikalen Projektion eine homosynaptische Langzeitdepression und gleichzeitig eine heterosynaptische Langzeitpotenzierung der unstimulierten Schaffer-Kollateralen-Projektionen in Area CA1 von unbehandelten Ratten hervorrufen kann. Gleichermaßen konnte eine hochfrequente Stimulation dieser direkten kortikalen Projektion eine homosynaptische Langzeitpotenzierung und gleichzeitig eine heterosynaptische Langzeitdepression der unstimulierten Schaffer-Kollateralen-Projektion auslösen. In Badapplikationsstudien konnte die Bedeutung von NMDA-, GABA_A-, GABA_B-, Kainat- und Gruppe-I-metabotrope-Glutamat-Rezeptoren auf die zuvor beobachteten Effekte einer niederfrequenten Stimulation gezeigt werden. Im Rahmen des hier verwendeten MK-801-Modells für akute schizophreniforme Psychosen konnten die Veränderungen der behandelten Tiere mit den zuvor an scheinbehandelten Tieren beobachteten homo- und heterosynaptischen Effekten verglichen werden.

Im Folgenden sollen nun zunächst die homo- und heterosynaptischen Effekte einer nieder- bzw. hochfrequenten Stimulation an unbehandelten bzw. scheinbehandelten Tieren erörtert werden. Danach sollen die Ergebnisse der Badapplikationsstudien helfen, Mechanismen der zuvor beobachteten Effekte auf synaptischer Rezeptorebene aufzuzeigen. Und zum Schluss werden die im Rahmen des MK-801-Schizophreniemodells gewonnen Erkenntnisse im Zusammenhang mit den während einer schizophreniformen Psychose beobachteten Defiziten betrachtet.

5.1. Bedeutung der direkten kortikalen Projektion

Der entorhinale Kortex innerviert den Hippokampus über zwei anatomisch und funktionell unterschiedliche Wege. Der erste Weg beginnt in der Pyramidenzellenschicht der Schicht II des medialen entorhinalen Kortex und innerviert den Gyrus dentatus, über den die Informationen zur Area CA3 weitergeleitet werden und schließlich über die Schaffer-Kollateralen (SC) im Stratum radiatum die Area CA1 erreichen. Neben dieser SC-Projektion (Schaffer collateral input, SCI), erreicht die Area CA1 eine zweite Zuleitung direkt vom entorhinalen Kortex, die direkte kortikale Projektion (direct cortical input, dCI) (Ramón y Cajal, 1911; Steward und Scoville, 1976; Doller und Weight, 1985; Amaral und Witter, 1989), die im Hinblick auf die Aktivierung sogenannter „place-cells“ (siehe Kapitel 2.3.1.2.) in Area CA1 von großer Bedeutung ist. Dies wurde aus Studien ersichtlich, die zeigen, dass nach einer kompletten Zerstörung der Area CA3 zwar die Informationsweiterleitung zwischen CA3 und CA1 unterbrochen ist, die Aktivierung der „place-cells“ in Area CA1 jedoch erhalten bleibt (McNaughton et al., 1989; Brun et al., 2002). Aber nicht nur ihr Einfluss auf die Aktivierung der „place-cells“, alleine schon ihre Lokalisation im Hippokampus spricht auch für

die besondere Bedeutung der direkten kortikalen Projektion für die Regulierung und Modulierung der hippocampalen Efferenzen. Eine aktuelle Studie unterstreicht in diesem Zusammenhang ihre Bedeutung für Informationsverarbeitung und Abruf gespeicherter Informationen (Remondes und Schuman, 2004).

Die hier vorliegenden Untersuchungen der dCI-Projektion zeigten, dass diese Struktur in der Lage ist, synaptische Plastizität auszubilden. Eine hochfrequente Stimulation der dCI erzeugte eine homosynaptische Verstärkung der Effizienz der Signalübertragung der Synapsen zwischen entorhinalem Kortex und Area CA1 oder, einfacher ausgedrückt, eine Langzeitpotenzierung (LTP). Gleichsam resultiert eine niederfrequente Stimulation in einer homosynaptischen Langzeitdepression (LTD). Unter physiologischen Bedingungen erscheint es zwar unwahrscheinlich, dass eine hochfrequente Stimulation des dCI in Erscheinung tritt, denn die Pyramidenzellen der Schicht III des entorhinalen Kortex besitzen auf Grund intrinsischer Eigenschaften (Erchova et al., 2004) und in Folge synaptischer Interaktionen (Gloveli et al., 1997a) eine ausgedrängte frequenzabhängige Signalübertragung, die nur unter pathologischen Gegebenheiten überwunden wird. Es zeigte sich, dass die Informationsübertragung zwischen Schicht-III-Zellen des entorhinalen Kortex und Hippokampus abhängig ist von der Frequenz der Aktivierung der Zellen in Schicht III. Sie wird unterdrückt, wenn Stimulationsfrequenzen von mehr als 10 Hz verwendet werden (Gloveli et al., 1997b). Studien an MK-801-behandelten Ratten zeigten jedoch, dass im Gegensatz zu unbehandelten Tieren eine hochfrequente Signalübertragung zwischen entorhinalem Kortex und Area CA1 möglich ist (Dugladze et al., 2004). Auch im Subikulum, das ebenfalls wichtige Projektionen über den dCI erhält, wurden bei MK-801 behandelten Ratten Veränderungen der synaptischen Plastizität nach hochfrequenter Stimulation des dCI beobachtet (Buck et al., 2006). Deshalb wurde in dieser Arbeit die hochfrequente Stimulation bevorzugt, wenn LTP an MK-801-behandelten Ratten untersucht wurden und der niederfrequenten Stimulation wurde der Vorzug gegeben, um die Physiologie des dCI zu untersuchen.

5.2. Befunde der Kontrollgruppe

Sowohl die hier im dCI beschriebene homosynaptische LTP als auch die homosynaptische LTD sind zuvor von anderen Arbeitsgruppen dokumentiert worden. Homosynaptische LTP in diesem Fasertrakt wurde von mehreren Gruppen in gleicher oder ähnlicher Form ausgelöst (Doller und Weight, 1985; Colbert und Levy, 1993; Remondes und Schuman, 2003). Auch die durch LFS ausgelöste LTD im dCI wurde bereits beschrieben (Dvorak-Carbone und Schuman, 1999a). In der vorliegenden Arbeit wurde jedoch mit Wistar-Ratten gearbeitet, die älter waren, als die von Dvorak-Carbone und Schuman (1999a) verwendeten Sprague-Dawley-Ratten, wodurch eine Übertragbarkeit vorliegender Ergebnisse auf andere Rattenarten und Altersgruppen möglich wird. Dabei wurden hier vermehrt Anstrengungen unternommen, um eine Verfälschung der Ergebnisse durch unbeabsichtigte Stimulation der Stratum-radiatum-Fasern zu verhindern, indem ein Gewebestück zwischen CA1 und Subikulum entfernt und nur die dCI-Fasern verschont wurden. Diese methodologischen Unterschiede könnten auch für die abweichenden Befunde verantwortlich sein, insbesondere für die Tatsache, dass Dvorak-Carbone und Schuman (1999a) eine NMDA-Rezeptor-Abhängigkeit der LTD-Induktion im dCI unterstellen, der durch eigene Daten widersprochen werden muss (s. unten). Trotz vieler Gemeinsamkeiten mit bereits existierenden Studien war die Reproduktion bekannter Daten erforderlich, zum einen zur Kontrolle der Belastbarkeit verwendeter Methoden und zum anderen, um einen eigenen Datensatz zu schaffen, der im Weiteren als Vergleichs- oder Kontrollgruppe dienen kann.

Ferner zeigt die vorliegende Studie als bisher einzige Arbeit, dass eine Stimulation des dCI zum Stratum pyramidale der Area CA1, sowohl HFS als auch LFS, in der Lage ist, die *heterosynaptisch* evozierten Potentiale der unstimulierten SC-Projektion zu modulieren. Das Interessante an den vorliegenden Befunden ist, dass eine hochfrequente Stimulation des dCI eine heterosynaptische LTD verursacht und eine niederfrequente Stimulation eine heterosynaptische LTP (Tab.: 2).

	HFS	LFS
heterosynaptisch	LTP	LTD
homosynaptisch	LTD	LTP

Tabelle 2: Befunde der Kontrollgruppen für dCI

Hoch- bzw. niederfrequente Stimulation (HFS/LFS) verursachten homo- bzw. heterosynaptisch eine Langzeitpotenzierung oder -depression (LTP/LTD).

Diese heterosynaptischen Effekte können nicht durch eine direkte Stimulation der SC- oder Kommissuralfasern verursacht worden sein. Eine solche direkte, homosynaptische Stimulation der SC würde bei HFS zu einer LTP führen (Schwartzkroin und Wester, 1975) und bei LFS eine LTD auslösen (Dudek und Bear, 1992). Ähnliche Studien über heterosynaptische Effekte einer dCI-Stimulation auf die Signaltransduktion in den Schaffer-Kollateralen zeigten eine heterosynaptische Beeinflussung der „spike generation“ in CA1 Pyramidenzellen (Dvorak-Carbone und Schuman, 1999b; Remondes und Schuman, 2002). Remondes und Schuman (2003) konnten, trotz vergleichbarem Versuchsaufbau, keine heterosynaptische Beeinflussung der synaptischen Plastizität der SC durch HFS des dCI zeigen. Verantwortlich sind möglicherweise geringfügige Abweichungen bei der Anfertigung der Hirnschnittpräparate, das geringere Alter der Versuchstiere oder die Rasse der verwendeten Ratten. Um zu sehen, ob die Höhe der in einem Präparat auslösbaren homosynaptischen LTD im Zusammenhang mit der Höhe der im gleichen Präparat auslösbaren heterosynaptischen LTP steht, wurden die zusammengehörenden Werte für LTD und LTP korreliert. Unter vorliegenden Versuchsbedingungen konnte keine Korrelation der Werte beobachtet werden. Vermutlich ist der Grund hierfür in den vielfältigen Verknüpfungen der Neurone und Interneurone von Präparat zu Präparat zu sehen. Auch ist anzunehmen, dass das auf dem Bienenstock-Cooper-Munro-Modell der „sliding-threshold-plasticity“ basierende Phänomen der sogenannten Metaplastizität in diesem Zusammenhang bedeutsam ist. Es besagt, dass die in der Vergangenheit verursachte synaptische Aktivität sich auf die Fähigkeit der Synapsen auswirkt, LTP oder LTD aufzubauen (Bienenstock et al., 1982; Abraham und Bear, 1996). Demzufolge kann eine Synapse, die beispielsweise bereits ein hohes Maß an LTP erfahren hat, schwierig weiter potenziert, aber leicht depotenziert oder deprimiert werden, und umgekehrt. Auf welchem Potenzierungsniveau sich die einzelnen Synapsen der jeweiligen verwendeten Hirnschnittpräparate befinden, ist jedoch unbekannt. Ebenso wenig kann gesagt werden, welche der vielen synaptischen Efferenzen einer - in diesem Fall durch LFS - konditionierten Nervenzelle eine LTD entwickelt und welche nicht, denn es ist bekannt, dass nicht alle efferenten Synapsen einer stimulierten Zelle Plastizität entwickeln (Levy und Steward, 1979).

5.3. Befunde nach Badapplikation ausgewählter Rezeptorantagonisten

Um die Bedeutung der verschiedenen an der Entstehung und Aufrechterhaltung von synaptischer Plastizität an zuvor beschriebener, durch LFS hervorgerufener homosynaptischer LTD und heterosynaptischer LTP beteiligten Rezeptorgruppen zu studieren, wurden durch Badapplikation die Auswirkungen verschiedener Rezeptor-Antagonisten getestet: Blocker der GABA_A- und GABA_B-Rezeptoren, Blocker der ionotropen und liganden-gesteuerten NMDA- und nicht-NMDA-Glutamat-Rezeptoren (Kainat-Rezeptoren) und Blocker der metabotropen, G-Protein-abhängigen Glutamat-Rezeptoren (mGluR) wurden eingesetzt.

Die vorliegende Studie zeigt, dass homosynaptische LTD durch den hochwirksamen selektiven GABA_B-Rezeptor-Antagonisten CGP 55845 (Davies et al., 1993) blockiert wird. Der Kainat-Rezeptor-Antagonist UBP 296 verhindert ebenfalls die homosynaptische LTD und führt darüber hinaus zu einer homosynaptischen LTP. Überraschenderweise war diese homosynaptische LTP verringert, wenn UBP zusammen mit MK-801 appliziert wurde.

Desweiteren wurde gezeigt, dass die durch LFS des dCI hervorgerufene heterosynaptische LTP der SC-CA1-Synapsen verhindert ist, wenn Bicucullin oder Gabazin vor der LFS eingewaschen werden, was vermuten lässt, dass GABAerge Interneurone an der Induktion der heterosynaptischen LTP beteiligt sind. Während der Antagonist der Gruppe-I-mGluR, 4-CPG, keine Wirkung auf homosynaptische LTD hatte, war er gleichzeitig in der Lage, die heterosynaptische LTP zu verhindern. UBP 296, das die homosynaptische LTD umkehrte und eine LTP erzeugte, verstärkte auch die heterosynaptische LTP.

5.3.1. Homosynaptische Effekte

Die Rezeptoren, die an den Veränderungen der homosynaptischen LTD beteiligt sind, werden in (Abb. 23A) zusammengefasst.

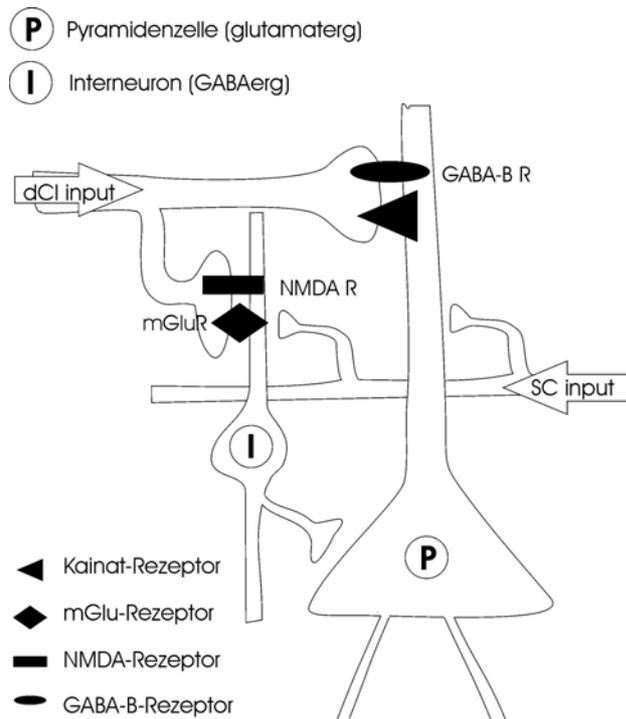


Abbildung 23:

Hypothetische Rezeptorlokalisierung bei homosynaptischer LTD

Homosynaptische LTD im dCI ist empfindlich gegenüber Blockade von Kainat- und GABA_B-Rezeptoren. LTD wird unter Einfluß des Kainat-Rezeptor-Antagonisten in eine LTP umgewandelt. Koapplikation von UBP und MK-801 verringert diesen Effekt. Homosynaptische LTD ist unempfindlich gegenüber GABA_A- und alleiniger Applikation von NMDA-Rezeptor-Antagonisten.

Es wurde gezeigt, dass homosynaptische LTD im dCI nicht auf eine Blockade der NMDA-Rezeptoren, aber auf eine Blockade der Kainat-Rezeptoren reagiert. Dies lässt vermuten, dass Kainat-Rezeptoren an dieser Form von synaptischer Plastizität teilhaben. Über Kainat-Rezeptoren wurde zunächst berichtet, dass sie die synaptische Plastizität zwischen Moosfasern und CA3-Pyramidenzellen vermitteln (Castillo et al., 1997). Danach wurde die Bedeutung der Kainat-Rezeptoren auch für andere Gehirnabschnitte bestätigt (Li und Rogawski, 1998; Li et al., 1999) und auch, dass sie für eine durch LFS induzierte LTD wichtig sind (Kemp und Bashir, 1999). Auffällig war, dass unter Einfluß des Kainat-Rezeptor-Antagonisten eine LFS des dCI eine homosynaptische LTP auslöste, wo unter Standardbedingungen eine LTD zu sehen war. Diese LTP war bei gleichzeitiger Applikation des NMDA-Rezeptor-Antagonisten MK-801 stark reduziert. Dies lässt vermuten, dass zwei entgegengesetzte Effekte die Plastizität in dCI-CA1-Synapsen regeln. Der eine ist Kainat-Rezeptor-abhängig, der andere ist - zumindest teilweise - NMDA-Rezeptor-abhängig. Da das aufgezeichnete Feldpotential gleichzeitig von aktivierten Pyramidenzellen und Interneuronen stammt, kann nicht geklärt werden, ob betreffende Kainat-Rezeptoren an dCI-CA1-Pyramidenzellsynapsen oder an dCI-CA1-Interneuronen-Synapsen lokalisiert sind. Die Tatsache, dass homosynaptische LTD in LTP verwandelt wird, deutet auf eine Lokalisation der Kainat-Rezeptoren an den Synapsen zwischen dCI und CA1-Pyramidenzellen hin. Ein weiterer deutlicher Befund war die verhinderte Induktion der homosynaptischen dCI-LTD durch Badapplikation des GABA_B-Rezeptor-Antagonisten CGP 55845. Das starke

Ansprechen der durch LFS induzierten dCI-LTD auf die GABA_B-Rezeptor-Blockade passt gut zu Befunden von Remondes und Schuman (2003), bei denen die durch HFS ausgelöste dCI-LTP durch CGP beeinträchtigt wurde. Die Beteiligung der GABA_B-Rezeptoren an synaptischer Plastizität wurde auch für den Gyrus dentatus (Mott und Lewis, 1991) und die Area CA1 beschrieben (Patenaude et al., 2003). GABA_B-Rezeptoren können an präsynaptischen GABAergen und glutamatergen Terminalen exprimiert werden (Deisz und Prince, 1989). Auch eine Expression an Pyramidenzellen ist möglich (Newberry und Nicoll, 1984). Es wurde auch gezeigt, dass spezielle Interneurone - Basket Zellen und Axo-Axonische Zellen - das GABA_B-Signal postsynaptisch vermitteln (Aradi et al., 2002). Möglicherweise trägt eine Aktivierung dieser Interneurone durch den dCI zur Induktion der dCI-induzierten LTD bei. Leider ist es nicht möglich, eine Aussage zu treffen, ob es sich um prä- oder postsynaptische Prozesse handelt, die an der Induktion der homosynaptischen dCI-LTD beteiligt sind, da die Paired-Pulse-Fazilitation weder unter Kontrollbedingungen, noch nach Badapplikation der entsprechenden Rezeptor-Antagonisten eine signifikante Veränderung ihrer Paired-Pulse-Ratio zeigte.

5.3.2. Heterosynaptische Effekte

Bei Untersuchung des Einflusses der verschiedenen Rezeptor-Antagonisten auf die durch LFS auslösbare heterosynaptische LTP (Abb. 23B) zeigte sich, dass diese unterbunden wurde, wenn vor LFS Bicucullin oder Gabazin badappliziert wurde. Daraus ließe sich folgern, dass die Zunahme der Potentiale durch Disinhibition ausgelöst wird. Die Voraussetzung hierfür wäre, dass Interneurone in diesem Bereich die Fähigkeit zur synaptischen Plastizität besitzen. Interneurone erhalten über glutamaterge Neurone eine starke, erregende Aktivierung und es ist viel darüber diskutiert worden, ob ihre Synapsen Mechanismen einer „long-term-plasticity“ zeigen, die mit denen der Pyramidenzellen vergleichbar ist. Tatsächlich ist Plastizität an Interneuronen möglich und wurde für einige Interneurone des Stratum radiatum und Stratum lacunosum-moleculare beschrieben, die ebenfalls durch die Schaffer-Kollaterale innerviert werden (Ouardouz und Lacaille, 1995; Perez et al., 2001). Die Befunde dieser Arbeit legen den Schluß nahe, dass es nach Stimulation des dCI zu vergleichbaren Effekten kommt. Möglicherweise wird die Erregbarkeit der Interneurone, die durch den dCI innerviert werden, reduziert. Diese Interneurone würden dann, nach Aktivierung durch Schaffer-Kollaterale, weniger GABA ausschütten und in Folge wäre die Feed-Forward-Inhibition, wie sie für gewöhnlich durch Erregung von Fasern im Stratum radiatum ausgelöst wird, vermindert. Die Folge ist die beobachtete heterosynaptische LTP. In Frage kommende Interneurone müssen zwei Eigenschaften erfüllen: Erstens müssen ihre Dendriten durch den entorhinalen Kortex erregt werden können, und zweitens, müssen ihre Terminalen in der Nähe des Somas der CA1-Pyramidenzellen liegen. Mehrere Interneurone im Stratum lacunosum-moleculare der Area CA1, deren Axone und Dendriten im Stratum radiatum und im Stratum lacunosum-moleculare gefunden wurden, kommen in Frage (Lacaille und Schwartzkroin, 1988). Auch die Axo-Axinoschen Zellen, deren Dendritenbaum bis ins Stratum lacunosum-moleculare reicht (Li et al., 1992) und parvalbuminhaltige Chandelier- und Basketzellen (Kiss et al., 1996) sind im Gespräch. Somit ist es sehr wahrscheinlich, dass LTD/LTP-Induktion an CA1-Interneuronen zu den beobachteten heterosynaptischen Effekten sowohl nach LFS als auch nach HFS beiträgt. Die heterosynaptische LTP wurde durch den Kainat-Rezeptor-Antagonisten UBP 296 vergrößert. Daraus lässt sich folgern, dass die Induktion von LTD an Interneuronen zwar nicht Kainat-Rezeptor-abhängig ist, jedoch diese Rezeptoren die Stärke der heterosynaptischen LTP beeinflussen können. So kommt es, dass sich während der Blockade der Kainat-Rezeptoren eine Interneuronen-LTD entwickeln kann, die in der Lage ist, die intrinsische Erregbarkeit der Area CA1 zu verändern. Interessanterweise ist nach Koapplikation des Kainat-Rezeptor-Antagonisten zusammen mit dem NMDA-Rezeptor-Antagonisten MK-801, die heterosynaptische LTP aufgehoben und es kommt zur Ausbildung einer LTD. Dies lässt darauf schließen, dass die synaptische Übertragung in den in Frage kommenden Interneuronen NMDA-Rezeptor abhängig ist.

Während CGP 55845 die homosynaptische LTD blockierte, hatte es keinen Einfluß auf heterosynaptische LTP. Dies weist darauf hin, dass postsynaptische GABA_B-Rezeptoren an Interneuronen nicht zu den beobachteten heterosynaptischen Effekten beitragen. Somit ist die Übertragung zwischen dCl und Interneuronen anders gesteuert als die Übertragung zu den Pyramidenzellen. Diese Aussage wird auch gestützt durch die Beobachtung, dass auch der Gruppe-I-metabotrope-Glutamat-Rezeptoren-Antagonist 4-CGP keinen Effekt auf die homosynaptische LTD hatte, jedoch die heterosynaptische LTP unterdrückte. Diese Beobachtungen stimmen mit Befunden anderer Arbeitsgruppen überein, die besagen, dass Gruppe-I-metabotrope-Glutamat-Rezeptoren postsynaptisch lokalisiert sind (Zhang et al., 2006) und mGluR1-Rezeptoren der Area CA1 vornehmlich an Interneuronen exprimiert werden (Ferraguti et al., 2004).

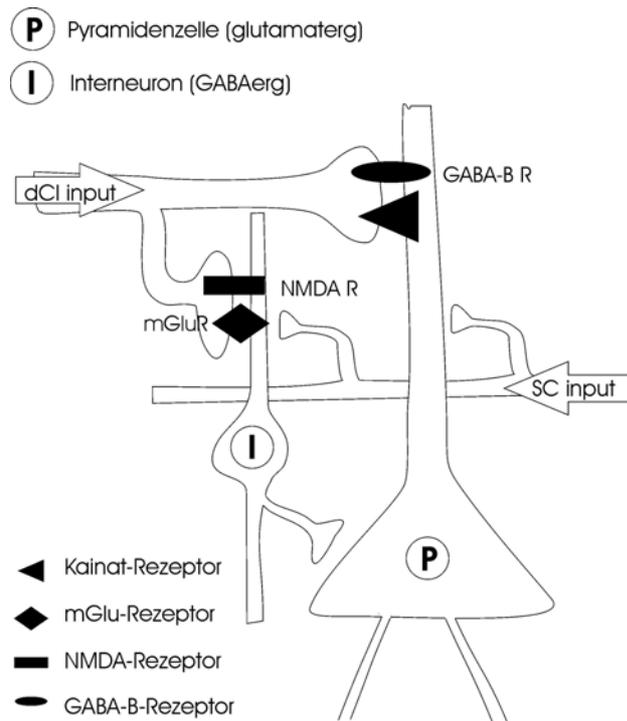


Abbildung 24:

Hypothetische Rezeptorbeteiligung bei heterosynaptischer LTP

Heterosynaptische LTP ist unter Einfluß des GABA_A-Rezeptor-Antagonisten unterdrückt, was auf Disinhibition durch Interneurone hinweist. Blockade von mGlu-Rezeptoren führt zu einer Störung der heterosynaptischen LTP, was vermuten lässt, dass sie postsynaptisch auf Interneuronen lokalisiert sind. Die heterosynaptische LTP ist verstärkt, wenn Kainat-Rezeptoren blockiert werden. Dieser Effekt wird verringert, wenn Kainat- und NMDA-Rezeptoren zeitgleich blockiert werden.

5.4. MK-801-Modell

In den soeben diskutierten Versuchen durch Badapplikation verschiedener Rezeptorblocker wurde deutlich, dass eine Änderung der synaptischen Effizienz an CA1-Interneuronen, durch LFS oder HFS, durch Abschwächung oder Verstärkung der Inhibition, zu den jeweiligen beobachteten heterosynaptischen Effekten beiträgt. Ebenfalls wurde gezeigt, dass NMDA-Rezeptoren auf die synaptische Übertragung der dCI-Signale auf CA1-Interneurone einen Einfluß hat. Die Bedeutung der NMDA-Rezeptoren soll nun am MK-801-Modell weiter diskutiert werden.

Die synaptische Plastizität der Schaffer-Kollateralen-Projektion im Stratum radiatum zwischen Area CA3 und Area CA1 ist abhängig von der Funktionfähigkeit der lokalen NMDA-Rezeptoren (Bliss und Collingridge, 1993). Auch die Induktion der durch eine HFS im dCI ausgelösten homosynaptischen LTP hängt von NMDA-Rezeptoren ab (Remondes und Schuman, 2003). Dies stimmt mit den in vorliegender Arbeit beobachteten Ergebnissen zur MK-801-Badapplikation vor Anwendung der HFS überein. Ein bemerkenswerter Befund war, dass die Badapplikation von MK-801 nicht nur die homosynaptische LTP der dCI-CA1 Synapsen blockiert, sondern auch die heterosynaptische LTD in eine LTP umzuwandeln vermag. Dies untermauert die Befunde aus den LFS-Untersuchungen und besagt, dass heterosynaptische Plastizität auf einer NMDA-Rezeptor-vermittelten Änderung der Effizienz der synaptischen Übertragung zwischen dCI und CA1-Interneuronen basiert, die in der Lage ist, die Erregbarkeit der CA1 Pyramidenzellen zu modulieren. Sogesehen ist es nicht überraschend, dass die Badapplikation von MK-801 am Hirnschnittpräparat der Ratte die homosynaptische LTP-Induktion unterdrückt. Was tatsächlich erstaunt, ist die Beobachtung, dass dieser Effekt mit einer Demaskierung einer heterosynaptischen LTP der Schaffer-Kollateralen-CA1-Synapsen verbunden ist. Möglicherweise beeinflusst homosynaptische Plastizität auf eine NMDA-Rezeptor-unabhängige Art die Induktion der Interneuronen-LTP. Wie gezeigt wurde, kann homeostatische Plastizität unabhängig von LTP und LTD durch Änderungen der zur Verfügung stehenden Ionenkanäle ausgelöst werden (van Welie et al., 2004; Turrigiano und Nelson, 2004) und kann somit verantwortlich sein für die beobachtete heterosynaptische LTP während MK-801-verursachter NMDA-Rezeptor-Blockade.

Um Veränderungen, die im Zusammenhang mit einer akuten schizophreniformen Psychose stehen, zu modellieren, wurde das MK-801-Modell der Schizophrenie eingesetzt. MK-801 ist ein nichtkompetitiver NMDA-Rezeptor-Antagonist (Wong et al., 1986). Die nichtkompetitiven NMDA-Rezeptor-Antagonisten, wie Ketamin und Phencyclidin, sind in der Lage, beim Menschen eine akute psychotische Episode auszulösen. Eine solche Psychose umfasst sowohl die schizophreniformen Positivsymptome als auch die Negativsymptome (Javitt und Zukin, 1991), die wochenlang anhalten können (Luby et al., 1959; Davies et al., 1988)(siehe 2.2.3.2.). Bei Ratten kann MK-801 Bewegungs- und Verhaltensveränderungen sowie ein gestörtes Sozialverhalten verursachen. Diese Veränderungen können durch Gabe verschiedener Neuroleptika verhindert werden, wobei ihre Wirksamkeit mit dem Grad ihrer antipsychotischen Wirkung beim Menschen korreliert (Andine et al., 1999). Somit kann angenommen werden, dass dieses Tiermodell ein adäquates Hilfsmittel darstellt, um ein tieferes Verständnis für die Pathophysiologie der Psychose zu erlangen (Anis et al., 1983; Olney et al., 1989; Olney et al., 1999).

5.4.1. Befunde nach systemischer MK-801-Behandlung

Die Hypothese ist, dass mit einer einzigen Injektion von 5,0 mg/kg Körpergewicht des NMDA-Rezeptor-Antagonisten MK-801 Formen synaptischer Plastizität der Area CA1 gestört werden, die für die Ausbildung und das Abrufen von räumlichem Gedächtnis essenziell sind. Diese Plastizitätsformen sind die Langzeitpotenzierung (LTP) und die Langzeitdepression (LTD) (Dudek und Bear, 1992; Mulkey und Malenka, 1992).

Im Unterschied zu den Studien über die Auswirkungen einer LFS wurde hier zusätzlich eine HFS in den Schaffer-Kollateralen verabfolgt und, analog zu den Messungen der homosynaptischen dCI-Plastizität, die Auswirkung dieses konditionierenden Stimulus auf die

homosynaptische SC-Plastizität beobachtet, indem vor und nach HFS der SC die durch Testreize in den SC ausgelösten Summenaktionspotential-Amplituden aufgezeichnet und verglichen wurden. Was die Befunde der homosynaptischen dCI-LTP betrifft, ist zu sagen, dass erst nach Abschluss der Messreihen zu heterosynaptischer dCI-LTD und homosynaptischer SC-LTP mit der Studie der homosynaptischen dCI-LTP an MK-801-behandelten Tieren begonnen wurde. Um weniger Tiere mit MK-801 behandeln zu müssen, wurde auf Untersuchung einer 6-Stunden-Gruppe verzichtet.

Wie in Tabelle 3 dargestellt, wurde gezeigt, dass 6 und 24 Stunden nach systemischer Gabe von MK-801 sowohl die homo- als auch die heterosynaptische Plastizität nach HFS des dCI, als auch die homosynaptische LTP nach HFS der SC verhindert waren.

	Kontrollen	6 Stunden	24 Stunden	1 Woche	4 Wochen
HO HFS dCI	√	n	∅	∅	(√)
HE HFS dCI	√	∅	∅	∅	(√)
HO HFS SC	√	∅	∅	√	(√)

Tabelle 3: Befunde nach systemischer Gabe von MK-801

Gegenüberstellung der Befunde bei Kontrolltieren (Kontrollen), sowie 6 und 24 Stunden, bzw. 1 und 4 Wochen nach einmaliger intraperitonäaler Gabe von 5 mg/kg Körpergewicht MK-801. HFS und Testreize wurden beide im dCI verabfolgt (HO HFS dCI); HFS wurde im dCI, Testreize im SC verabfolgt (HE HFS dCI); HFS und Testreize wurden im SC verabfolgt (HO HFS SC). Die HFS konnte entweder eine LTD oder ein LTP auslösen (√), zeigte keinen Effekt (∅) oder sie zeigte einen Effekt, der jedoch geringer war als bei den Kontrolltieren ((√)). Das Symbol (n) bedeutet, dass HO HFS dCI zu diesem Zeitpunkt nicht untersucht wurde.

Wenn man bedenkt, dass die Plasmahalbwertszeit von MK-801 ein bis vier Stunden beträgt (Hucker et al., 1983) und die Erneuerung von NMDA-Rezeptor-Untereinheiten 16 - 24 Stunden dauert (Huh und Wenthold, 1999), scheint es nachvollziehbar, dass die Blockade 24 Stunden nach MK-801-Behandlung weiter besteht. Zusätzlich wurde gezeigt, dass eine systemische Gabe von MK-801 die Expression der NR1-Untereinheiten verringern kann (Rujescu et al., 2006), die sich mit NR2-Untereinheiten zu funktionsfähigen NMDA-Rezeptoren vereinigen (Moriyoshi et al., 1991). Die verminderte Wirksamkeit des eingesetzten Stimulationsprotokolls, Plastizität auszulösen, kann also auch an einer verminderten Funktionsfähigkeit der NMDA-Rezeptoren liegen. Eine verringerte Expression von NMDA-Rezeptor-Untereinheiten im Hippokampus ist auch bei post-mortem-Untersuchungen bei schizophrenen Menschen beobachtet worden (Gao et al., 2000; Rujescu et al., 2006), was auf eine Verbindung zwischen NMDA-Rezeptor-Dysfunktion und Schizophrenie hinweist. Desweiteren wird vermutet, dass eine herabgesetzte Funktionalität der NMDA-Rezeptoren zusammen mit einem verringerten dopaminergen Tonus im dCI für die bei Schizophrenen beobachteten Defizite im verbalen Gedächtnis verantwortlich sein könnte (Siekmeier et al., 2007). Vermutlich liegt in der vorliegenden Studie eine Unterfunktion der NMDA-Rezeptoren des Hippokampus vor, wie es bereits für andere kortikale und limbische Regionen im Zusammenhang mit schizophreniformen Psychosen berichtet wurde (Olney et al., 1999). Mit dem Namen "Olney" kommt noch ein Aspekt in die Diskussion, nämlich das Paradoxon, durch Blockade eines erregenden Rezeptors eine Erregungssteigerung auszulösen. Führt man sich das Zusammenspiel der inhibitorischen GABAergen Interneurone und der erregenden glutamatergen Pyramidenzellen nochmals vor Augen, wird verständlich, dass der Wegfall der Aktivierung von GABAergen Interneuronen via NMDA-Rezeptoren die Inhibition der exzitatorischen Pyramidenzellen aufheben kann (Olney et al., 1991). Zusätzlich wurde gezeigt, dass GABAerge Interneurone eine höhere Empfindlichkeit gegenüber einer NMDA-Rezeptor-Blockade aufweisen als Pyramidenzellen

(Grunze et al., 1996), was die Disinhibition weiter verstärkt. Funktionale Bildgebung am Hirn von Schizophreniekranken während der Durchführung einer Gedächtnisübung, die die Aktivität des Hippokampus erfordert, zeigte, daß diese Patienten sehr schlecht abschnitten und eine Aktivierung des Hippokampus nicht möglich war (Heckers, 2001). Der Grund hierfür liegt vermutlich, in Übereinstimmung mit der Metaplastizitätstheorie, dass die basale Aktivität bereits derart erhöht ist, wie es bei Gesunden erst während des Gedächtnistests der Fall ist und es keine Steigerungsmöglichkeit mehr gibt (sogenannter „ceiling effect“).

Nach ein und vier Wochen Behandlungsdauer zeigen sich folgende Veränderungen: Eine anhaltende Störung der homosynaptischen dCI-LTP und heterosynaptischen dCI-LTD nach einer Woche und eine unvollständige „Erholung“ nach vier Wochen, sowie eine scheinbare „Erholung“ der homosynaptischen SC-LTP nach einer Woche, die sich nach vier Wochen jedoch als unvollständig erweist. Bedenkt man die lange Persistenz von LTP, kann der beschriebene „ceiling-effect“ auch für diese Langzeitfolgen verantwortlich gemacht werden. Um die beobachtete scheinbare „Erholung“ der heterosynaptischen SC-LTP nach der ersten Behandlungswoche zu erklären, benötigte man detailliertere Informationen über den Zeitgang der durch MK-801 ausgelösten Veränderungen an Interneuronen. Im Zusammenhang mit Berichten über die möglicherweise durch Disinhibition ausgelöste „excitotoxicity“, die Schädigung von Neuronen durch ein Überangebot von Glutamat (Farber et al., 2002), wurde untersucht, ob eine systemische Gabe von 5 mg/kg MK-801 Zellschäden in Area CA1 auslösen kann. Mein Kollege Sven Eisenach zeigte, dass weder in Area CA1 noch im enthorinalen Kortex Zelluntergang beobachtet werden kann (Wöhrl et al., 2007), was auf funktionelle Veränderungen in Area CA1 als Auslöser für die beobachteten Langzeiteffekte ein und vier Wochen nach MK-801-Behandlung schließen lässt. Um diese Wissenslücke zu füllen, wäre, in Ergänzung zu der hier vorliegenden Arbeit, eine Badapplikationsstudie mit den hier bereits eingesetzten Rezeptor-Antagonisten an MK-801-behandelten Tieren sicherlich erfolversprechend.

Es lässt sich der Schluß ziehen, dass die 6 und 24 Stunden nach Behandlung mit MK-801 beobachteten akuten Auswirkungen auf die synaptische Plastizität in Area CA1 zu den Symptomen einer akuten schizophreniformen Psychose beitragen könnten. Es ist denkbar, dass diese massive Störung der Informationsverarbeitung durch Beeinträchtigung der Feedforward-Inhibition der hippokampalen Homeostase die Entstehung von schizophreniformen Positiv- und Negativsymptomen begünstigt. Scheinbar beeinträchtigt MK-801 nicht nur die Speicherung neuer Informationen, sondern kann auch zu fehlerhaftem Abrufen von bereits gespeicherten Informationen führen, denn für beide Prozesse ist der Informationsfluss zwischen EC und Area CA1 unerlässlich. Die Langzeiteffekte ihrerseits könnten einige der lang anhaltenden Symptome, wie z.B. Denkstörungen, wie sie noch Wochen nach einer akuten psychotischen Episode gesehen werden, erklären.