

Aus dem Universitätsklinikum Münster
Institut für Physiologie I
- Geschäftsführender Direktor: Univ.-Prof. Dr. Hans-Christian Pape -

**Wirkung von Spreading Depression auf die intrazelluläre
Aktivität von Neuronen im Hirnschnitt der Maus.**

INAUGURAL - DISSERTATION
zur
Erlangung des doctor medicinae dentium
der Medizinischen Fakultät
der Westfälischen Wilhelms–Universität Münster

vorgelegt von Kotzian, Martyna
aus Ratibor (Polen)

2009

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Westfälischen
Wilhelms-Universität Münster

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. Wilhelm Schmitz

1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Ali Gorji

2. Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. med. Hansdetlef Wassmann

Tag der mündlichen Prüfung: 01.09.2009

Aus dem Universitätsklinikum Münster
Institut für Physiologie I
- Geschäftsführender Direktor: Univ.-Prof. Dr. Hans-Christian Pape -
Referent: Prof. Dr. med. Ali Gorji
Koreferent: Univ.-Prof. Dr. med. Hansdetlef Wassmann

ZUSAMMENFASSUNG

Wirkung von Spreading Depression auf die intrazelluläre Aktivität von Neuronen im Hirnschnitt der Maus.

Kotzian Martyna

Ziel der vorliegenden Untersuchung war es, die Wirkung von Spreading Depression auf die intrazelluläre Aktivität von Neuronen zu analysieren. In vorausgegangenen Experimenten wurde nachgewiesen, dass dieses Phänomen die synaptische Aktivität beeinträchtigt.

Die Untersuchungen wurden an kombinierten Amygdala-Hippocampus-Cortex-Schnittpräparaten der Maus durchgeführt. Spreading Depression wurde durch Applikation von 3M KCl induziert. Die Parameter der einzelnen Neurone des Hippocampus, der lateralen Amygdala und des Neocortex und das Feldpotential wurden mit Hilfe von Mikroelektroden abgeleitet. Durch intrazelluläre Strominjektion wurde das Entladungsverhalten der Zellen charakterisiert.

Es konnte gezeigt werden, dass durch die Auslösung einer kortikalen Depolarisationwelle die Dauer für ein Aktionspotential bei halber Amplitude im Hippocampus bei spontaner Aktivität und bei Injektion eines konstanten depolarisierenden Stroms signifikant verlängert wird. Auch die Amplituden der Depolarisation bei Injektion positiver elektrischer Rechteckstrompulse nahmen signifikant zu.

Bei den Versuchen an der lateralen Amygdala konnte eine signifikante Zunahme der Frequenz bei spontaner Aktivität sowie bei konstanter Depolarisation beobachtet werden.

Die Aktionspotentiale im Neocortex zeigten nach der KCl-Injektion eine signifikante Verlängerung der Dauer des Aktionspotentials bei halber Amplitude und eine Abnahme der Frequenz während einer Hyperpolarisation der Membran. Bei Depolarisation der Membran zeigte sich ein signifikanter Unterschied für die Frequenz und während spontaner Aktivität eine signifikante Verkleinerung der Amplitude für hyperpolarisierende Nachpotentiale. Außerdem nahm die Amplitude der Depolarisation bei Injektion positiver elektrischer Rechteckstrompulse ab, wobei auch das Interspikeintervall signifikant kleiner geworden ist.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Ergebnisse die komplexe Wirkung von SD auf die intrazelluläre neuronale Aktivität darstellen und im Zusammenhang mit den synaptischen Veränderungen nach SD stehen, sowie eine wichtige Rolle in der Pathophysiologie der SD-bezogenen neurologischen Erkrankungen spielen.

Tag der mündlichen Prüfung: 01.09.2009

Die Tierexperimente wurden vom Regierungspräsidenten Münster im Schreiben von 19.02.2002 (Aktenzeichen 50.0835.1.0 (G 79/2002)) genehmigt.

***In Liebe
meinen Eltern***

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung.....	1
1.1 Spreading Depression	1
1.1.1 Geschichte der Spreading Depression.....	1
1.1.2 Elektrophysiologische Veränderungen und Ionenverschiebungen.....	3
1.2 Pathophysiologische Bedeutung von SD	6
1.2.1 SD und Migräne	6
1.2.1.1 Klinische Nachweise der Migräneaura.....	8
1.2.1.2 SD und Migräneprophylaxe	10
1.2.1.3 SD, Migräne und Epilepsie	10
1.2.2 SD und Epilepsie.....	11
1.2.3 SD und Zerebrovaskuläre Erkrankungen	12
1.2.3.1 Ischemischer Infarkt.....	13
1.2.3.2 Intrakranielle Blutungen	14
1.2.4 Schädel-Hirn-Trauma	15
1.2.5 SD und Transiente globale Amnesie (TGA)	15
1.3 SD und synaptische Aktivität	16
1.4 Fragestellung und Zielsetzung	18
2. Material und Methoden.....	19
2.1 Versuchstiere und Präparation	19
2.2 Versuchskammer und Lösungen	20
2.3 Methoden zur Messung neuronaler Aktivität.....	21
2.3.1 Intrazelluläre Signableitung	21
2.3.2 Extrazelluläre Signableitung	22
2.4 Versuchsprotokoll	23
2.4.1 Versuchsreihe 1 (nicht SD-Bedingungen)	23
2.4.2 Versuchsreihe 2 (SD-Bedingungen).....	24
2.5 Verfahren zur Auswertung und Darstellung der Messergebnisse	25
2.5.1 Die Messvorschriften zur Auswertung der FP- Änderung.....	25
2.5.2 Die Messvorschriften zur Auswertung der MP-Änderung.....	26
3. Ergebnisse	28

3.1 Änderungen des Feldpotentials im Neocortex nach KCl-Applikation	28
3.2 Der Effekt von SD auf die intrazelluläre Aktivität.....	29
3.2.1 Der Effekt von SD auf die intrazelluläre Aktivität im Hippocampus ..	30
3.2.1.1 Kontrollversuche	30
3.2.1.2 Auswirkungen von SD auf das Aktionspotential	32
3.2.2.1 Kontrollversuche	44
3.2.2.2 Auswirkungen von SD auf das Aktionspotential	45
3.2.3.1 Kontrollversuche	55
3.2.3.2 Auswirkungen von SD auf das Aktionspotential	56
4. Diskussion	68
5. Literaturverzeichnis	76
6. Danksagung	97
7. Curriculum Vitae.....	98
8. Anhang	I
8.1 Abbildungsverzeichnis	I
8.2 Tabellenverzeichnis	II
8.3 Abkürzungsverzeichnis	IV

1. Einleitung

1.1 Spreading Depression

Das zentrale Nervensystem ist sehr komplex, mit vielen parallel laufenden Prozessen die für die Durchführung zahlreicher bekannter Funktionen im Körper notwendig sind. Zusätzlich gibt es auch Phänomene, bei denen nicht genau klar ist welchen Zweck sie erfüllen. Ein solches Phänomen ist die Spreading Depression (SD). Die Fähigkeit zur Generierung und Vermehrung von SD gehört zu den inhärenten Eigenschaften des Gehirns.

1.1.1 Geschichte der Spreading Depression

Der Neurologe Lashley beobachtete 1941 die Ausbreitung eines Skotoms in seinem Gesichtsfeld während einer Migräneaura und bestimmte die Ausbreitungsgeschwindigkeit mit etwa 2-3 mm/min (Lashley, 1941). Einige Jahre später beschrieb der Brasilianer Leão (1944; 1987) bei Experimenten am Kaninchencortex, erstmals eine sich über eine Hirnhemisphäre ausbreitende Unterdrückung der EEG-Wellen, die er „spreading depression of electroencephalographic activity“ nannte (Abb. 1-1). Auch dieses Phänomen hatte eine Ausbreitungsgeschwindigkeit von etwa 2-3 mm/min. 1958 wurde durch Milner ein möglicher Zusammenhang zwischen „spreading depression“ und Migräneaura postuliert (Milner, 1958). Anfang der achtziger Jahre war es möglich geworden, die Blutflussveränderungen während Migräneaura mit der intrakarotidialen ¹³³Xe-Methode beim Menschen zu messen. Dabei fand sich eine Minderperfusion, die im occipitalen Cortex einsetzte, um von dort in andere Hirnregionen zu wandern. Die Minderperfusion folgte nicht den vaskulären Territorien, sondern der zytoarchitektonischen Struktur des Hirns. Die Ausbreitungsgeschwindigkeit betrug 2-3 mm/min. Das Phänomen wurde als Spreading Oligaemia im Sinne der letzten Phase der Blutflussantwort auf SD interpretiert, wie sie aus Tierexperimenten bekannt war (Lauritzen, 1944). Das

es sich dabei nicht um einen Artefakt handelte, bestätigte sich später in Studien mit Positronenemissionstomographie (Woods *et al.*, 1994) und funktioneller Kernspintomographie (Cutrer *et al.*, 1998).

Bei der SD handelt es sich demnach, um eine sich ausbreitende neuronal-gliale Depolarisationswelle, die Unterdrückung der EEG-Aktivität ist ein Folgeprozess, begründet in der verminderten neuronalen Erregbarkeit nach der massiven Depolarisation.

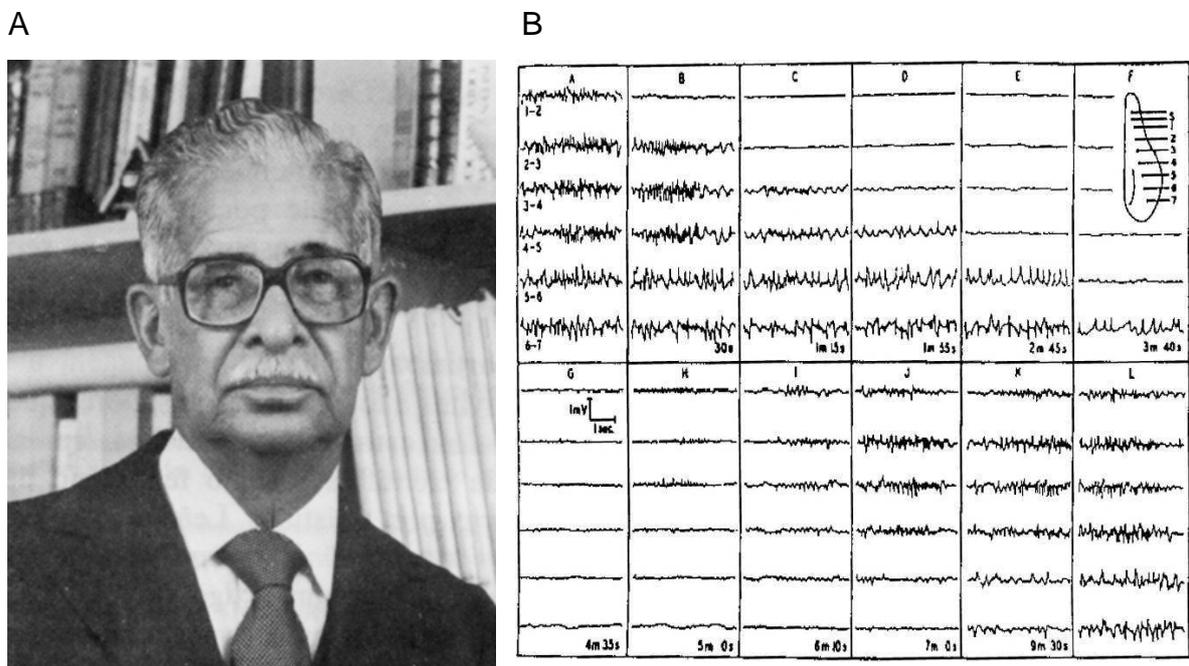


Abb. 1-1: (A) Aristides Azevedo Pacheco Leão. *Journal of Neurophysiology*, 1944, (B) Änderungen physiologischer Parameter während einer SD. Leão's originale Illustration einer SD von 1944. Die Spuren zeigen eine räumlich und zeitlich aufgelöste elektrokortikographische Ableitung vom Kaninchencortex nach elektrischer Stimulation. Im Schema rechts oben sind die Positionen der Stimulations- und Ableitelektroden eingezeichnet.

1.1.2 Elektrophysiologische Veränderungen und Ionenverschiebungen

Die Neurone und Gliazellen in der Hirnrinde werden bei der SD temporär depolarisiert, was zu einer Negativierung des kortikalen Gleichspannungs (DC)-Potentials um 20–35 mV führt. Eine SD breitet sich ähnlich wie eine Wasserwelle über die Hirnoberfläche aus. Diese Ausbreitung kann mit mehreren, räumlich versetzten Elektroden auf der Hirnoberfläche oder im Neocortex nachgewiesen werden (Abb.1-2). Eine SD dauert in dem Neocortex an einem bestimmten Messort durchschnittlich 1-2 min, danach kommt es zu einer Rückbildung der Potenzial- und Ionenkonzentrationsänderung bis zum Ausgangsniveau. Die Verteilung von Ionen und Wasser während der SD zwischen dem extra- und intrazellulären Raum verläuft wie folgt: Na^+ , Ca^{2+} und Cl^- strömen zusammen mit Wasser in die Zellen ein, der Extrazellulärraum schrumpft dabei transient um bis zu 57%. Mit einer extrazellulären kaliumselektiven Mikroelektrode kann nachgewiesen werden, dass parallel zur DC-Verschiebung, K^+ die Zellen verlässt, und Konzentrationen von bis zu 60 mM/l im Extrazellulärraum erreicht (Kraig *et al.*, 1978; Grafstein, 1963; Hansen *et al.*, 1981). Außerdem wird eine extrazelluläre pH-Verschiebung beobachtet. Es kommt, beginnend mit der Negativierung des DC-Potenzials, zunächst zu einer Alkalisierung des pH-Wertes um 0,3. Diese dauert etwa so lange wie die Auslenkung des DC-Potenzials an und geht dann in eine Verschiebung des pH-Wertes zu sauren Werten über, die das Ausgangsniveau um 0,05–0,1 unterschreitet (Lehmenkühler *et al.*, 1981). Für die Rückbildung der Depolarisation und Wiederherstellung des Ausgangszustands sind energieabhängige Pumpmechanismen in den Zellmembranen der Neurone und Gliazellen (Na^+/K^+ -ATPase) verantwortlich. Die SD ist somit ein energieverbrauchender Vorgang, der aber vom mit Blut versorgten gesunden Hirngewebe ohne permanente Schädigung bewältigt wird (Somjen *et al.*, 1992). Parallel zur neuronalen Depolarisation kommt es zur einer kurzanhaltenden temporären Vasodilatation in pialen und kortikalen Blutgefäßen, die einen Anstieg des regionalen Blutflusses (>100% Anstieg) bewirkt und in eine anhaltende Reduktion des kortikalen Blutflusses bis zur restitutio ad integrum

nach ca. 30 min mündet. Die zerebrale Hyperperfusion erscheint elementar für die Wiederherstellung der Homöostase des Gehirns zu sein. Sofern die Hyperperfusion tierexperimentell durch lokal hohe K^+ -Konzentrationen und eine Inhibition der Stickstoffmonoxid generierenden Enzyme blockiert wird, kommt es zur Ausbildung einer kortikalen zerebralen Ischämie im Rahmen der SD (Dreier *et al.*, 1998). Diese Untersuchung unterstreicht eindeutig, dass es sich bei den zerebralen SD- assoziierten Blutflussveränderungen (Hyperperfusion) um kein unbedeutendes Phänomen, sondern um einen elementaren Mechanismus zur Aufrechterhaltung bzw. Wiederherstellung der Homöostase des Gehirns während und nach der Aura handelt. Die Messung der Änderung von Gefäßdurchmessern in der Pia mater bzw. lokaler Änderungen der zerebralen Durchblutung gaben außerdem Hinweise auf die Freisetzung vasoaktiver Substanzen wie calcitonin gene-related peptide (CGRP) und Stickstoffmonoxid, aber auch von Serotonin (Gold *et al.*, 1998) während einer SD.

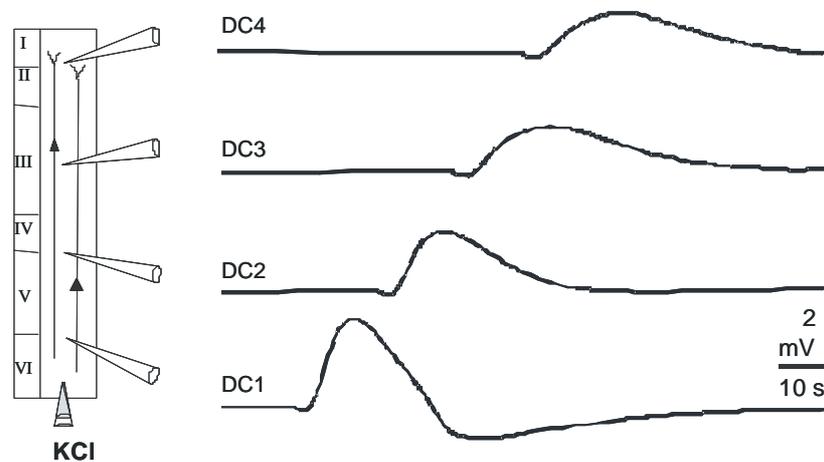


Abb. 1-2: Darstellung einer DC-Potentialwelle nach Injektion von KCl (3M) am menschlichem Neocortex. Die Anordnung der Injektions- und der Feldpotentialelektroden (DC1-DC4): wie gezeigt (Gorji *et al.*, 2001).

Auslöser der SD können in Tierexperimenten mechanische Stimuli (Nadelstich als lokale Verletzung von Neuronen mit Ausfluss von K^+ und Neurotransmittern) sein. Auch eine Applikation von K^+ auf die Cortexoberfläche (lokale Depolarisation), die Applikation exzitatorischer Aminosäuren (Glutamat, N-Methyl-D-Aspartat (NMDA) zur Aktivierung glutamaterger Rezeptoren) oder die elektrische Reizung des Hirngewebes d. h. Vorgänge, die die neuronal-gliale Homöostase lokal stören und zur Freisetzung von K^+ und/oder Glutamat führen können SD auslösen (Bures *et al.*, 1974).

SD wurde auch im neocorticalen menschlichen Gewebe *in vitro* (Avoli *et al.*, 1991, 1995; Witte *et al.*, 2000; Gorji *et al.*, 2001) und im menschlichen Hippocampus, sowie Striatum (Sramka *et al.*, 1977) und Neocortex (Mayevsky *et al.*, 1996) *in vivo* beobachtet. Schwierig dagegen ist es SD am Hirnstamm auszulösen. Der Hirnstamm ist in der Regel resistent für die SD-Vermehrung was auf eine niedrige Zelldichte zurückzuführen ist (Bures *et al.*, 1974, Gorji *et al.*, 2004).

Wiederum scheint das Primatenhirn gegenüber SD besser geschützt zu sein als das Hirn anderer Säugetierfamilien (Strong *et al.*, 2000). Dieses Phänomen wurde *in vivo* in verschiedenen Tierexperimenten und *in vitro* an Gehirnschnitten beobachtet (Bures *et al.*, 1974). Außerdem konnte SD bei Menschen *in vivo* während stereotaktischer Neurochirurgie (Sramka *et al.*, 1977), nach Schädel-Hirn-Trauma (SHT) (Mayevsky *et al.*, 1996), bei Patienten mit spontaner intrazerebraler Blutung (Strong *et al.*, 2002; Fabricius *et al.*, 2006) und nach Subarachnoidalblutung (SAB) nachgewiesen werden (Dreier *et al.*, 2006).

Der Anstieg der extrazellulären K^+ -Konzentration gilt seit Grafstein (1956) als ein wesentlicher Propagator der SD. Van Harreveld ergänzte 1959 das Konzept der SD-Ausbreitung um die exzitatorische Aminosäure Glutamat. Beide Vorstellungen sind bis heute allgemein akzeptiert und ein gemeinsames Wirken ist sehr wahrscheinlich. Wichtig für die Ausbreitung der SD sind verschiedene spannungsabhängige Kalziumkanäle „voltage-gated calcium channels“. So kommt es im Tierexperiment zu einer Verschlechterung der SD-Auslösbarkeit und Verminderung der SD-Anzahl, wenn der P/Q- Ca^{2+} -Kanal genetisch

verändert ist (Ayata *et al.*, 2000) oder dieser Kanal durch Gifte wie das ω -agatoxin IVA spezifisch blockiert wird. Eine Blockade der NMDA-Rezeptoren durch MK-801 beendet die Ausbreitung der SD (Marrannes *et al.*, 1988).

SD gehört zu dem Gebiet der Pathophysiologie des Gehirns und es gibt Anlass zu glauben, dass es in einigen klinischen Erkrankungen einschließlich Migräne, Epilepsie, zerebrovaskuläre Erkrankungen, Kopfverletzungen und transiente globale Amnesie eine wichtige Rolle spielt (Gorji, 2001).

1.2 Pathophysiologische Bedeutung von SD

1.2.1 SD und Migräne

Die Migräne zählt mit einer Prävalenz von 33% für Frauen und 13% für Männer zu den häufigsten neurologischen Erkrankungen (Launer *et al.*, 1999). Sie ist gekennzeichnet durch einen attackenartig auftretenden starken, zumeist unilateralen frontotemporalen Kopfschmerz mit einer Dauer von 6-72 h (IHS, 1998). Klinisch zeichnet sie sich durch wiederkehrende, meist halbseitige Kopfschmerzattacken und starke vegetative Begleiterscheinungen aus. In 20–30% der Fälle berichten Betroffene im Vorfeld über neurologische Reiz- oder Ausfallsymptome– eine Aura. Die Diagnose beruht analog zu den anderen primären Kopfschmerzerkrankungen auf der Anamnese, Zusatzuntersuchungen dienen lediglich der Ausschlussdiagnostik. Die verschiedenen Formen der Migräne sind dabei durch die Kriterien der Internationalen Kopfschmerzgesellschaft definiert (IHS, 2004).

Die Migräne wird heute teilweise als genetisch determinierte Erkrankung angesehen, wobei exogene Einflüsse wie die klassischen Triggerfaktoren (Stress, Wetterveränderungen, helles Sonnenlicht, Gerüche, Nahrungsmittel) Migräneattacken auslösen (Robbins, 1994). Experimentell kann Migräne durch Stickstoffmonoxid-(NO-) Donorem ausgelöst werden (Iversen, 2001).

Bei 10-15% der Migränepatienten treten in unregelmäßiger Häufigkeit vor dem Migränekopfschmerz fokale neurologische Defizite mit einer Dauer von 15-60 min, die sog. Migräneaura, auf. Herausstechend unter den verschiedenen Typen der Aura ist die visuelle Aura, die in ca. 90% der Fälle besteht (Rasmussen *et al.*, 1992). Sie wurde erstmals im Detail von Lashley (1941) und später von Milner (1958) beschrieben. Zu Beginn einer typischen visuellen Aura entstehen zumeist Szintillationen im Zentrum des Gesichtsfeldes, die sich unidirektional mit einer Geschwindigkeit von ca. 3 mm/min in die Peripherie des Gesichtsfeldes ausbreiten. Diese Positivphänomene sind gefolgt von einem ebenfalls expandierenden Skotom, welches anschließend langsam vom Zentrum des Gesichtsfeldes remittiert. Andere Darstellungsmöglichkeiten der Migräneaura (<10%) sind unilaterale, wandernde Sensibilitätsstörungen oder Paresen der Extremitäten, die sich häufig von distal nach proximal ausbreiten (Russell *et al.*, 1994). Weitere Phänomene die innerhalb von 24-48 h vor Beginn des Migränekopfschmerzes auftreten können sind u. a. Konzentrationsstörungen und Heißhungerattacken, die bisher pathophysiologisch nicht eindeutig zugeordnet werden können (Giffin *et al.*, 2003).

Skotome und visuelle Fortifikationen während der Migräneaura bewegen sich mit der gleichen Ausbreitungsgeschwindigkeit über das Gesichtsfeld der Patienten wie die SD. Blutflussmessungen bei Migränepatienten zeigten eine „spreading oligoemia“, also eine Minderdurchblutung des Gehirns, die sich ebenfalls mit 2-3 mm/min über den Cortex ausbreitet. Aufgrund dieser beiden Fakten wird die SD als Korrelat der Migräneaura betrachtet (Lauritzen, 1944). Es gibt allerdings Hinweise, dass bei Migränepatienten möglicherweise eine Übererregbarkeit des Cortex vorliegt (Aurora *et al.*, 1998). Die SD-Theorie (Moskowitz *et al.*, 1993) geht davon aus, dass durch die kortikale Aktivierung während der SD die nozizeptiven Fasern in der über diesem Cortexareal liegenden Dura aktiviert oder sensibilisiert werden. Dadurch soll eine neurogene Entzündung der Meningen hervorgerufen werden, die dann die Fasern kontinuierlich aktiviert und so zum Migränekopfschmerz führt. In der Tat wurde

bei Migränepatienten im venösen Abfluss vom Kopf während der Kopfschmerzphase eine erhöhte Konzentration des für die neurogene Entzündung typischen Neuropeptids CGRP gemessen (Goadsby *et al.*, 1991).

Die Aura, als eine mögliche Ursache des Beginns der Kopfschmerzphase, ist experimentell vielfach untersucht worden. Es wurde gezeigt, dass SD ipsilateral den N. trigeminus aktivieren kann (Bolay *et al.*, 2002). Eine SD als Korrelat der Aura wurde jedoch auch in „stummen“ Arealen wie dem Kleinhirn (Ebner *et al.*, 2003), dem Hypothalamus und vorderen Hirnstamm nachgewiesen (Geraud *et al.*, 2005). Ferner konnte tierexperimentell beidseitig eine SD im Bereich des Hippocampus nachgewiesen werden, mit funktionellen Auswirkungen auf den trigeminalen Nucleus caudalis (Kunkler *et al.*, 2003). Möglicherweise kommt es also auch bei Patienten ohne Aura zu einer SD, die in stummen Arealen zu unspezifischen Symptomen wie Gedächtnisstörungen, Schwindel, Übelkeit oder Stimmungsänderungen führt. Auf molekularer Ebene bewirkt die SD proinflammatorische Effekte und eine gesteigerte oxidative Stressantwort was zu einer Aktivierung des trigeminalen Systems führt (Sanchez del Rio *et al.*, 2004). Interessant sind zwei Proteine, die ein Bindeglied darstellen könnten. Zum einen ist eine gesteigerte Galaninfreisetzung im Cortex nach SD gefunden worden. Galanin kann zahlreiche Neurotransmitter freisetzen und ist an der Nozizeption beteiligt (Liu *et al.*, 2002). Zum anderen kommt es zu einer gesteigerten Produktion der Matrixmetalloproteinase-9, was zu einer Schädigung der Blut-Hirn-Schranke führt (Gursoy-Ozdemir *et al.*, 2004). Dadurch kommt es möglicherweise zu einer Aktivierung schmerzsensitiver trigeminaler Fasern der Meningen.

1.2.1.1 Klinische Nachweise der Migräneaura

In klinischen Untersuchungen konnte mit Hilfe der Magnetresonanztomographie gezeigt werden, dass es während einer visuellen Aura zu einer temporär sich ausbreitenden Reduktion des zerebralen Blutvolumens, des zerebralen Blutflusses und einer Verlängerung der mittleren Transitzeit im zum klinisch

betroffenen visuellen Hemifeld kontralateral gelegenen visuellen Cortex kommt. Diese Beobachtungen weisen somit auf eine passagere Minderperfusion für die Dauer von insgesamt 2 h in dieser Region hin (Cutrer *et al.*, 1998). Bereits einige Jahre vorher war es mittels Positronen-Emissions-Tomographie (PET) gelungen, eine sich frontal ausbreitende, verminderte zerebrale Perfusion während einer spontanen Migräneattacke zu beobachten. Diese hatte große Ähnlichkeit zu der später im Magnetresonanztomographie (MRT) beschriebenen, über die Dauer der Aura hinaus anhaltenden Hypoperfusion (Woods *et al.*, 1994). Mit Hilfe einer weiteren MR-Technik, dem sog. BOLD-Verfahren (blood oxygenation level dependent) wurden neue Erkenntnisse über die Aura gewonnen (Hadjikhani *et al.*, 2001). Das BOLD-Signal stellt eine Kombination aus neuronaler Aktivität und regionaler Blutflussänderung dar (Logothetis, 2003). Während einer visuellen Migräneaura wurden sich über den visuellen Cortex ausbreitende Signalveränderungen beobachtet, die eine Welle neuronaler Erregung gefolgt von neuronaler Untererregbarkeit repräsentieren und mit einer Geschwindigkeit von 3-4 mm/min parallel zu der Ausbreitung der Migräneaura im Gesichtsfeld des Patienten über den Cortex wandern (Hadjikhani *et al.*, 2001). Man fand eine initiale, kurzzeitige Hyperperfusion, die sich mit $3,5 \pm 1,1$ mm/min ausbreitete und von einer Hypoperfusion gefolgt war. Die BOLD-Signaländerungen während der Aura endeten an den großen Hirnsulci. Lichtevozierte Potenziale waren während der Auraphase unterdrückt und erreichten erst nach 15 min wieder 80% der Ausgangsamplitude. Die Hirngebiete die zuerst von den Veränderungen betroffen waren, normalisierten ihre Funktion auch als erste.

Eine Welle neuronaler Erregung wurde ebenfalls mit Hilfe der Magnetenzephalographie (MEG) während visuell induzierter Auren beobachtet (Bowyer *et al.*, 2001). Diese im MRT und MEG beobachteten Veränderungen während der Migräneaura entsprachen der SD (Olesen *et al.*, 1981) und traten nicht bei gesunden Kontrollpersonen auf, was den Hinweis auf eine gesteigerte neuronale Aktivierbarkeit bei Migränepatienten bestätigte. Die Ursachen für diese veränderte kortikale Aktivierbarkeit sind bisher nicht eindeutig aufgeklärt.

Das Sexualhormon Östrogen setzt im Tierexperiment die Schwelle für SDs herab und modifiziert möglicherweise auch die Erregbarkeit nozizeptiver Neurone im Trigeminuskern (Sachs *et al.*, 2007). Genetische Faktoren sollen eine nicht unbedeutende Rolle spielen, denn die Vererbung von Migräne ist seit langem beschrieben (Goadsby, 2006).

1.2.1.2 SD und Migräneprophylaxe

Untersuchungen von Medikamenten zur Migräneprophylaxe stützen die Vorstellung, dass die SD ein Auslöser des Migränekopfschmerzes sein kann. Für β -Blocker, Topiramat, Methysergid, Valproinsäure und Amitriptylin konnte tierexperimentell gezeigt werden, dass eine mehrwöchige Vorbehandlung zu einer Abnahme der kaliuminduzierten SD und damit zu reduzierten Exzitabilität führt (Ayata *et al.*, 2006). Nur kurz dauernde Behandlungen, bis zu sieben Tagen, sind unwirksam. Hiermit stimmt die klinische Beobachtung überein, dass Medikamente zur Migräneprophylaxe meist erst nach 2–3 Monaten wirken. Hierzu passt auch ein Bericht, wonach die SD durch einen Glutamatrezeptorantagonisten gehemmt werden kann (Bolay *et al.*, 2002). Topiramat beispielsweise hemmt u. a. die Wirkung von Glutamat an AMPA-Rezeptoren (α -Amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazol-Propionsäure).

1.2.1.3 SD, Migräne und Epilepsie

Angesichts der hohen Prävalenz in der Bevölkerung weist Migräne zahlreiche Assoziationen zu anderen Erkrankungen auf, u. a. zu der Epilepsie. Die Verknüpfung zu den Epilepsien ist ohne eine spezifische Abhängigkeit zu bestimmten Anfallstypen (Förderreuther *et al.*, 2002; Leniger *et al.*, 2001, 2003). Als pathophysiologische Grundlage ist eine erhöhte zerebrale Erregbarkeit beider Erkrankungen anzunehmen. Die erhöhte zerebrale Erregbarkeit führt zu einem Auslösen von SD, die ein Risikofaktor für Migräneanfällen sowie epileptische Anfälle darstellt. Damit könnte erklärt werden, dass 34–56% der

periiktalen Kopfschmerzen migräneartig sind (Leniger *et al.*, 2003; Terwindt *et al.*, 1997) und das ein signifikanter Risikofaktor für periiktale migräneartige Kopfschmerzen eine anfallsunabhängige Migräne ist (Förderreuther *et al.*, 2002; Leniger *et al.*, 2001). Neben den oben genannten Risikofaktoren, zerebrale Erregbarkeit und SD, sind aber weitere Risikofaktoren als Voraussetzung für das jeweilige Auftreten der Erkrankungen bei komorbiden Patienten zu vermuten. So beklagen alle Patienten mit einer Migräneanamnese auch migräneartige Kopfschmerzen nach einem Schlaganfall (Ferro *et al.*, 1995).

1.2.2 SD und Epilepsie

Epilepsien gehören mit einer weltweiten Prävalenz von 0,5 bis 1 % aller Menschen (Zielinski, 1974; Hauser *et al.*, 1975) zu den häufigsten Erkrankungen des zentralen Nervensystems. Sie äußern sich klinisch in paroxysmalen Phänomenen motorischer, sensorischer, vegetativer oder psychischer Art. Jeder Mensch kann unter entsprechenden Bedingungen einen epileptischen Anfall erleiden.

Als Auslöser kommen zahlreiche zerebrale Erkrankungen oder äußere Noxen, wie beispielweise Fieber (v. a. im Kindesalter), Alkoholentzug oder Schlafentzug in Betracht. Wenn epileptische Anfälle ohne unmittelbar erkennbare Auslöser chronisch rezidivierend auftreten, spricht man von einer Epilepsie (Matthes *et al.*, 1999). Ursache epileptischer Anfälle ist eine hochsynchrone rhythmische Aktivität zerebraler Neurone. Diese epileptische Aktivität erzeugt im umliegenden Gewebe charakteristische Potentialschwankungen, welche mit Hilfe von Elektroden von der Schädeloberfläche abgeleitet werden können.

Die meisten Methoden derer sich die experimentelle Epilepsieforschung bedient, können nicht am Menschen angewandt werden. Unumgänglich ist es daher Tiermodelle zu entwickeln.

SD ist ein bekanntes Phänomen in der experimentellen Epilepsievorschung. SD wurde in einer Vielzahl von in vitro und in vivo Epilepsiemodellen untersucht.

So führt eine:

- Verringerung der extrazellulären Mg^{2+} -Konzentrationen,
- Aktivierung von NMDA-Rezeptoren,
- Blockierung der K^+ -Kanäle; wie z.B. von 4-aminopyridine,
- erhöhte extrazelluläre K^+ -Konzentration,
- Blockierung von Na^+ - K^+ -ATPase; z.B. durch Ouabain,
- Blockierung von Ca^{2+} -Kanäle; z.B. durch $NiCl_2$,
- Sperrung der GABA-Rezeptoren (Gamma-aminobutyric acid); z.B. durch Picrotoxin

in experimentellen Modellen zu epileptiformen Aktivitäten und SD (Balestrino *et al.*, 1999; Gorji *et al.*, 2000, 2001; Leão, 1944; Petsche *et al.*, 1973; Psarropoulou *et al.*, 1992; Traynelis *et al.*, 1988).

Es stellte sich heraus, dass SD die Erregbarkeit des neuronalen Gewebes möglicherweise durch Änderungen in der Aktivität des synaptischen Netzwerkes verstärkt (Berger *et al.*, 2008; Wernsmann *et al.*, 2006; Dehbandi *et al.*, 2008).

Ebenso kann die Ausbreitung von SD über einen epileptischen Bereich im Gehirn einen epileptischen Anfall bei einigen Patienten auslösen (Gorji *et al.*, 2004).

1.2.3 SD und Zerebrovaskuläre Erkrankungen

Zerebrovaskuläre Erkrankungen sind eine der führenden Todesursachen und eine wesentliche Ursache für dauerhafte berufliche und soziale Einschränkungen. Die Symptome der meisten zerebrovaskulären Erkrankungen zeichnen einen plötzlichen Beginn mit nonconvulsiven und fokalen neurologischen Defiziten aus, die bis zum Koma oder andererseits zu neurologischen Symptomen führen, die so mild sind, dass der Patient denen keine Bedeutung schenkt (Oppenheimer *et al.*, 1992). Die Symptome können

sich im Verlauf rasch verbessern oder schrittweise verschlechtern. Schwere Migräneattacken und prolongierter partieller Status epilepticus, begleitet durch einen kortikalen Infarkt, sind besonders exponiert bei Patienten mit mitochondrialer Myopathie, Enzephalopathie, Laktatazidose und Schlaganfallähnlichen Episoden (MELAS Syndrom) (Andermann *et al.*, 1986; Montagna *et al.*, 1988). Wie bereits bei Migräne beschrieben, gibt es auch bei den zerebrovaskulären Erkrankungen Hinweise auf die Mitwirkung von SD an diesen Erkrankungen. Es gibt zwei große Kategorien von zerebrovaskulären Krankheiten, den zerebralen ischämischen Infarkt und intrakranielle Blutungen.

1.2.3.1 Ischemischer Infarkt

Beim ischämischen Schlaganfall beginnt die Schädigung des Hirngewebes fast unmittelbar nach dem arteriellen Verschluss im Kern des Versorgungsgebietes der betroffenen Arterie. Experimentelle Untersuchungen bei Tieren und Menschen unterstützen das Konzept, dass es einen Kern von schwerer Ischämie, den "ischämischen Kern" und das umgebende Gewebe mit eingeschränkter Perfusion, die "ischämische Penumbra" gibt. Die Schädigung breitet sich nach dem Verschluss räumlich in die Randzone aus. Untersuchungen an experimentell induzierten fokalen ischämischen Hirninfarkt zeigen, dass in dieser Randzone repetitive SD-ähnliche Periinfarktdepolarisationen (PID) häufig periodisch auftreten (Back *et al.*, 1994; Nedergaard *et al.*, 1993; Dietrich *et al.*, 1994). Die SD ähnliche Erhöhungen der extrazellulären Kaliumkonzentration wurden erstmals im Periinfarktbereich von Pavianen beobachtet (Branston *et al.*, 1977).

In einer Vielzahl experimenteller Schlaganfallmodelle wurden ähnliche Depolarisationen nachgewiesen (Hossmann, 1996). Wie Kernspintomographische Untersuchungen der fokalen Ischämie zeigen, entsteht die PID in der Randzone und breitet sich wie die SD mit einer Geschwindigkeit von 2-5 mm/min aus. Die Repolarisationsdauer hängt direkt von dem Ausmaß der Perfusionsminderung ab. Je ausgeprägter die

Perfusionsminderung ist, desto länger benötigen die ischämischen Zellen für die Repolarisation (Röther *et al.*, 1996) bis hin zum Verlust der Fähigkeit zur Erholung und damit zum Übergang in eine terminale Depolarisation und zum Gewebeuntergang (Umegaki *et al.*, 2005; Hubschmann *et al.*, 1980).

Charakteristisch sind PID die periodisch Auftreten und den Infarktkern umkreisen. Eine enge Korrelation zwischen der Anzahl der Umkreisungen und der Größenzunahme des ischämischen Areal weist darauf hin, dass es sich bei dieser Form der Ausbreitung der PID um eine sekundäre Schädigung nach einem ischämischen Schlaganfall handelt.

1.2.3.2 Intrakranielle Blutungen

Die Hirnblutungen werden nach ihrer Lokalisation von außen nach innen in epidurale, subdurale, subarachnoidale (SAB) oder intracerebrale Blutung (ICB) unterteilt. Die Lokalisation der Blutung sagt bedingt etwas über den Ursprung und die Ursache der Blutung aus. Die klinische Relevanz der SD wird häufiger im Zusammenhang mit SAB gesehen als mit ICB (Gorji, 2001).

Schon in den achtziger Jahren wurde ein pathophysiologischer Zusammenhang zwischen SAB und SD postuliert (Hubschmann *et al.*, 1980; Hansen *et al.*, 1984). Bei den SAB gibt es zwei Phasen zu unterscheiden, die Akutphase und die Phase des Vasospasmus nach der Blutung. 1998 wurde das Auftreten von SD in der Akutphase experimentell im Tierversuch mit funktioneller Kernspintomographie bewiesen (Busch *et al.*, 1998). Außerdem wird vom Auftreten visueller migräneaura-ähnlichen Ereignissen bei Patienten nach SAB berichtet (Dreier *et al.*, 2001).

In der zweiten Phase, zwischen dem 4. und 14. Tag kommt es bei 20-30% der Patienten zum Auftreten von DIND (delayed ischaemic neurological Deficit), also dem symptomatischem Vasospasmus. Der zerebrale Vasospasmus stellt die Hauptkomplikation nach einer SAB dar. Er kann zu schweren neurologischen Defiziten führen. Patienten mit SAB zeigen in bis zu 75% der angiographischen Untersuchungen eine Gefäßverengung. DINDs werden als

die wichtigsten Komplikationen nach SAB gesehen und führen bei ca. 6% der SAB-Patienten zu einer lebenslangen, schweren Behinderung und bei 7% zum Tod (Kassell *et al.*, 1990).

Es gibt Hinweise die auf eine Beteiligung von SD an den ischämischen Defiziten bei SAB hindeuten. Eine komplexe Beziehung zwischen extrazellulären K^+ , Hämoglobin (Hb) und NO spielt die Hauptrolle in dieser Hypothese. Im Laufe der Hämolyse stellt die Freisetzung von Hb und K^+ in den extrazellulären Raum die wichtigste Änderung dar (Ohta *et al.*, 1980; Pluta *et al.*, 1998).

1.2.4 Schädel-Hirn-Trauma

Auch beim SHT wurden SD-artige Depolarisationen im Tiermodell beschrieben (Echlin, 1948). 1996 gelang es Mayevsky auch bei Patienten eine Depolarisation aufzuzeichnen (Mayevsky *et al.*, 1996). Er erfasste die extrazelluläre K^+ -Konzentration, den zerebralen Blutfluss und das Blutvolumen. Es blieb jedoch zu jenem Zeitpunkt ungeklärt ob sich diese Veränderung ausbreitet oder nicht.

Mit Hilfe der Elektrokortikographie gelang es Strong bei Patienten mit SHT eine episodische Amplitudenänderung aufzunehmen, welche sich mit einer Geschwindigkeit von 0,6-5 mm/min über den Neocortex ausbreitet (Strong *et al.*, 2002).

1.2.5 SD und Transiente globale Amnesie (TGA)

Die TGA ist eine nicht seltene, ätiologisch nicht geklärte, plötzlich einsetzende, selbstlimitierende und vorübergehende Funktionsstörung aller Gedächtnisinhalte von 1h bis zu 24h Dauer, während der es zu einer anterograden und retrograden Amnesie kommt. Etwa die Hälfte der Fälle tritt spontan auf, in den übrigen Fällen gehen der Symptomatik körperliche oder

emotional bewegende bzw. belastende Ereignisse voraus. Sie tritt vorzugsweise in der zweiten Lebenshälfte, mit einem Altersgipfel in der sechsten Dekade ohne Geschlechtspräferenz, auf (Caplan, 1990; Fisher *et al.*, 1964).

Obwohl TGA in Zusammenhang mit verschiedenen Erkrankungen wie z. B. transiente Ischämie oder epileptischen Anfällen gesehen wird (Cantor, 1971; Dugan *et al.*, 1981; Heathfield *et al.*, 1973), scheint SD als die wahrscheinlichste Erklärung für die TGA zu sein. In experimentellen Studien, bei denen kortikal oder subkortikal SD ausgelöst wurde, verursachte dieser eine Amnesie und die Unfähigkeit zur Erlangung von neuen Erkenntnissen. Es wurde gezeigt, dass SD im Cortex, Hippocampus und Thalamus das reversible Lernen beeinträchtigen kann (Buresova *et al.*, 1965; Bures, 1959; Bures *et al.*, 1963; Hughes, 1969). Eine bilaterale Hippocampus oder kortikale SD Applikation löste unmittelbar nach dem Erwerb einer passiven Vermeidungsreaktion eine partielle Amnesie aus (Bures *et al.*, 1974). In einem anderen Versuch am Hippocampus wurde über eine KCl-Injektion 24 h nach dem Erlernen einer Tätigkeit SD ausgelöst, welche zu einer reversiblen retrograden Amnesie bei Ratten geführt hat. Diese retrograde Amnesie war für Ereignisse, die 10 s vor der KCl-Injektion stattgefunden haben, unumkehrbar (Avis *et al.*, 1968; Kapp *et al.*, 1971). SD hat einen Amnesie-Effekt abhängig von der Dauer und Dichte des Phänomens. Repetitive SD führen zu einer viel stärkeren retrograden Amnesie als ein oder zwei SDs (Bures *et al.*, 1963; Albert, 1966).

1.3 SD und synaptische Aktivität

In vielen Bereichen des Gehirns, wie z.B. im Cortex, der Amygdala, dem Kleinhirn und im Hippocampus kommen glutamaterge Synapsen vor. Das wichtigste Merkmal dieser Synapsen ist das Vorhandensein von AMPA-Rezeptoren sowie NMDA-Rezeptoren. Der NMDA-Rezeptor hebt sich von den anderen ionotropen Glutamat-Rezeptoren dadurch ab, dass er eine sehr große

Leitfähigkeit für Ca^{2+} -Ionen aufweist und bei hyperpolarisierter Membran von außen durch ein Mg^{2+} -Ion verschlossen ist.

Unter LTP (long-term potentiation) versteht man eine langandauernde Verstärkung der synaptischen Aktivität. An den Synapsen kommt es bei LTP zu Erregung der postsynaptischen Membran durch Glutamat, was zu Entstehung von Erregenden Postsynaptischen Feldpotenzialen (fEPSP) führt.

In vielen unterschiedlichen Studien wurde die Wirkung von SD auf fEPSP untersucht.

So fand Berger *et al.*, 2008 bei in vitro Untersuchungen an menschlichen Neocortex, dass SD deutlich die Amplitude der fEPSP verbessert und so auch die Wirksamkeit der synaptischen Übertragung steigert.

Ebenso wurde die Auswirkung von SD auf fEPSP und LTP in anderen Hirnregionen untersucht. Die Induktion von SD in kombinierten Hippocampus-Cortex-Schnitten von Ratten, bei denen die DC-negativen Ausschläge vom Neocortex nicht zum Hippocampus weitergeleitet wurden, erhöhte sich die fEPSP-Amplitude nach LTP im Hippocampus. Die Ausbreitung der SD über Neocortex und Hippocampus führte allerdings zu einer vorübergehenden Unterdrückung, gefolgt von einer Wiederherstellung der Amplitude der fEPSP auf den Ausgangswert zurück (Wernsmann *et al.*, 2006).

Bei einer in vitro Untersuchung mit kombinierten Amygdala-Hippocampus-Cortex-Schnitten von Ratten stellte sich heraus, dass mehr als 75% der im Cortex induzierten SD sich bis zur lateralen Amygdala (LA) ausbreiten. Die Daten ergaben außerdem, dass SD zu Verstärkung der synaptischen Aktivität nach LTP führt (Dehbandi *et al.*, 2008). Die Veränderungen der synaptischen Aktivität nach SD, welche in den oben genannten Studien untersucht wurden, können somit eine wichtige Rolle in der Pathophysiologie der SD-bezogenen neurologischen Erkrankungen spielen (Obrenovitch *et al.*, 1997; Gorji, 2001; Wernsmann *et al.*, 2006; Hauser *et al.*, 1975; Berger *et al.*, 2008).

1.4 Fragestellung und Zielsetzung

Trotz der raschen Akkumulation von Informationen in den vergangenen Jahrzehnten ist unser Wissen über die Grundlagen der Physiologie und Biochemie des Nervensystems und detaillierte Pathophysiologie der meisten neurologischen Störungen bei weitem noch nicht abgeschlossen. Obwohl Leão schon 1944 das Phänomen SD entdeckte, weckt dieses nach wie vor das Interesse von vielen Gruppen, inzwischen seit mehr als einem halben Jahrhundert und auch die Rolle von SD in vielen Aspekten der Neurowissenschaft wurde jährlich immer deutlicher. Heute steht fest, dass SD eine sehr wahrscheinliche Erklärung der verschiedenen neurologischen Erkrankungen und Verhaltensstörungen sein kann.

In den Publikationen (Berger *et al.*, 2008; Wernsmann *et al.*, 2006; Dehbandi *et al.*, 2008) wurde die Auswirkung von SD auf die synaptische Aktivität im Hippocampus, in der Amygdala und im Neocortex untersucht und so ein Zusammenhang festgestellt. Bisher ist jedoch relativ wenig darüber bekannt, wie die komplexen SD-Vorgänge auf intrazellulärer Ebene verarbeitet werden. Das Ziel meiner Arbeit ist es, ein Verständnis darüber zu erhalten, wie einzelne Nervenzellen im Neocortex, Hippocampus und lateraler Amygdala auf SD relevante Veränderungen reagieren.

2. Material und Methoden

Den vorliegenden Experimenten liegen Untersuchungen an den Neuronen des Hippocampus, der lateralen Amygdala und des Neocortex bei Mäusen zugrunde. Es wurden intra- sowie extrazelluläre Ableitungen durchgeführt.

2.1 Versuchstiere und Präparation

Als Versuchstiere dienten männliche, adulte Mäuse der Stämme Black 6 (Harlan Winkelmann) mit einem Gewicht von ca. 26-28 Gramm.

Die Anästhesie der Tiere erfolgte in einem „Glastopf“ mit Isofluran (1-chloro-2, 2, 2-trifluoroethyl-difluoromethylether). Dabei wurden ca. 0,2 ml des Isoflurans auf einen Gazetupfer im leeren Topf aufgeträufelt und der Gittereinsatz eingesetzt. Auf diesen wurde die Maus gesetzt und der Deckel geschlossen. Das betäubte Tier wurde decapitiert und das Gehirn entnommen, welches dann in eine eisgekühlte, mit Carbogen (5% CO₂ in O₂) begaste Präinkubationslösung (Lsg.1, Tab. 2-1) gegeben wurde.

Mit einem Vibratom (Series 3000 Plus) wurden von dem Präparat 500 µm dicke Kominationsschnitte (Amygdala-Hippocampus-Cortex-Schnitte) hergestellt (Abb. 2-1) und in ein Präinkubationsbad mit 28°C warmen und mit Carbogen begasten Lösung überführt, wo sie für 60 min blieben. Nach 30 min wurde die Calciumkonzentration der Lösung durch die Zugabe von 0,45 ml Calciumchlorid erhöht. Es stellte sich ein pH-Wert von ca. 7,35 ein.

Für die tierexperimentellen Untersuchungen liegt eine Genehmigung der Bezirksregierung Münster vor (Schreiben vom 19.12.2002; AZ: 50.0835.1.0 (G 79/2002) siehe Anhang).



Abb. 2-1: Übersicht über den Hirnschnitt in der Ableitkammer. Darstellung der Applikationsstelle von KCl zur Auslösung von SD. CA1: Hippocampus CA1 Region, LA: laterale Amygdala, EC: entorhinaler Cortex, TC: temporaler Cortex.

2.2 Versuchskammer und Lösungen

Nach dem Ablauf der Präinkubationszeit wurde zur Durchführung der Versuche der Schnitt aus dem Präinkubationsbad mit einer Kunststoffsaugpipette in die Versuchskammer gebracht. Diese bestand aus einem Block mit einer in der Mitte eingelassenen Vertiefung zur Aufnahme des Hirngewebes. Bei der zur Superfusion verwendeten Lösung handelt es sich um die Yamamoto II-Lösung (Lsg.2, Tab. 2-1). Die Versuchslösung gelang über Teflonschläuche aus dem Vorratsgefäß in die Kammer. Die Einstellung der Geschwindigkeit konnte am Präzisionstropfenregler, der zwischengeschaltet war, eingestellt werden und lag im Bereich von 35-45 Tropfen/min was einer Durchflussgeschwindigkeit von etwa 2 ml/min entspricht. Die Temperatur der Badlösung wurde durchgehend mit einer Temperatursonde gemessen und auf 30,8 °C eingestellt. Während der gesamten Versuchsdauer wurde die Begasung der Lösung im Vorratsgefäß mit Carbogen sichergestellt. Der pH-Wert wurde in regelmäßigen Abständen im Vorratsgefäß gemessen und durch Regulierung des Carbogen-Volumenstroms

im Bereich von 7,35-7,45 gehalten. Die optische Kontrolle der Schnitte erfolgte durch ein über der Kammer angebrachtes Mikroskop.

	Name	NaCl (mmol/l)	KCl (mmol/l)	NaH ₂ PO ₄ (mmol/l)	MgSO ₄ (mmol/l)	NaHCO ₃ (mmol/l)	CaCl ₂ (mmol/l)	Glucose (mmol/l)
1	Präinkubations- Lösung (Y I)	124	4	1,24	1,3	26	1	10
2	Präinkubations- Lösung (Y II)	124	4	1,24	1,3	26	2	10

Tab. 2-1: Zusammensetzung der verwendeten Lösungen (Y I: Yamamoto I, Y II: Yamamoto II, Yamamoto, 1972).

2.3 Methoden zur Messung neuronaler Aktivität

2.3.1 Intrazelluläre Signalleitung

Neuronale elektrische Aktivität kann sowohl extrazellulär als auch intrazellulär gemessen werden. Bei klassischen Ansätzen der intrazellulären Ableitung wird die Spitze einer mit Elektrolytlösung gefüllten Mikroelektrode in ein Neuron gestochen, so dass das Membranpotenzial der Zelle durch Messung der Spannung zwischen der Glaspipette und einer Referenzelektrode im Medium bestimmt werden kann. Zur Herstellung der Mikroelektroden wurden Filamentborosilikatglaskapillaren mit einem Außendurchmesser von 1,5 mm und Innendurchmesser von 0,87 mm verwendet. Diese wurden in einem horizontalen Elektrodenziehgerät zu Spitzendurchmessern von ca. 0,2 µm ausgezogen. Die zur intrazellulären Ableitung bestimmten Elektroden wurden mit 2 mol/l Kaliummethylsulfatlösung gefüllt und über einem Ag-AgCl-Draht mit dem Verstärker verbunden. Die Elektrodenwiderstände lagen zwischen 80 MΩ und 160 MΩ. Mit Hilfe einer Brückenschaltung konnten Strominjektionen über die intrazelluläre Elektrode vorgenommen werden.

2.3.2 Extrazelluläre Signalleitung

Die Feldpotentiale (FP) der Neurone wurden auch mit einer Glasmikroelektrode gegen eine in der Badlösung befindliche Referenzelektrode abgeleitet. Die Mikroelektroden wurden mit Hilfe eines vertikalen Elektrodenziehgerätes aus Filamentborosilikatglaskapillaren mit einem Außendurchmesser von 1,5 mm und einem Innendurchmesser von 0,87 mm hergestellt. Die Spitzen wurden auf einen Durchmesser von 8 μm bis 10 μm zurück gebrochen. Nach der Füllung mit der Inkubationslösung lagen Elektrodenwiderstände zwischen 0,5 M Ω und 2 M Ω vor. Die Elektroden zur Ableitung sowie die Referenzelektrode wurden durch KCl-Ag/AgCl-Brücken mit den Feldpotentialverstärkern verbunden und durch Mikromanipulatoren in dem Schnittpräparat platziert. Die Ableitung der Potentiale erfolgte aus drei Hirnregionen:

1. Hippocampus
2. Laterale Amygdala
3. Neocortex

Als Referenzelektrode diente eine KCl-Ausflusselektrode, die sich im Bad befand.

SD wurde im Schnitt durch Druckapplikation von etwa 10 nl KCl ausgelöst. Dazu wurde eine Glaselektrode mit 3 M KCl gefüllt und leicht in der Oberfläche des Schnitts versenkt (Abb. 2-1). Die Druckapplikation wurde über eine Druckpumpe (Pneumatic PicPump) gesteuert.

Um Störungen durch Erschütterungen und durch elektromagnetische Felder zu minimieren, war der gesamte Versuchsaufbau auf elastischen Sockeln gelagert und in einem Faradayschen Käfig untergebracht.

2.4 Versuchsprotokoll

Die Versuche zur Wirkung von SD auf die Neurone des Hippocampus, der lateralen Amygdala und des Neocortex wurden in zwei Versuchsreihen durchgeführt.

2.4.1 Versuchsreihe 1 (nicht SD-Bedingungen)

In der ersten Versuchsreihe ($n = 40$) wurden die Experimente unter Kontrollbedingungen, das heißt ohne die Erzeugung einer Depolarisationswelle durchgeführt.

Ein Gewebeschnitt wurde in die Versuchskammer gebracht und mit Inkubationslösung (Lsg.2, Tab. 2-1) superfundiert. Die MP-Elektrode (intrazelluläre Elektrode) wurde auf der Oberfläche des Gewebeschnittes über der zu untersuchten Region positioniert und anschließend mittels eines elektrisch gesteuerten Mikromanipulators in 2,5 μm großen Schritten in einem Winkel von ca. 60° zur Horizontalen durch den Gewebeschnitt bewegt. Ein Absinken der von der MP-Elektrode dabei gemessenen Potentialdifferenz zur Referenzelektrode auf Werte um -60 mV sowie ein Registrieren von Aktionspotentialen – entweder spontan oder bei Injektion eines positiven elektrischen Stroms über die MP-Elektrode - zeigten die angestrebte intrazelluläre Lage der Elektrodenspitze an. Durch die Injektion eines konstanten positiven bzw. negativen Stroms wurde das MP der Zelle gesenkt bzw. erhöht.

Über die intrazellulär liegende Mikroelektrode wurden positive sowie negative Rechteckstimpulse unterschiedlicher Amplitude von 100 und 200 ms Dauer injiziert. Die intrazelluläre Lage der Mikroelektrode wurde so lange wie möglich aufrechterhalten und die MP-Registrierungen dokumentiert. Experimente der Versuchsreihe 1 dienten zum Vergleich der 2. Versuchsreihe. Die Ausgangssignale wurden nach Digitalisierung mittels eines Analog-Digital-Wandlers (Digidata 1322A, Axon Instruments) durch das Datenerfassungsprogramms AxoScope aufgezeichnet (Version10.1, Axon Instruments).

2.4.2 Versuchsreihe 2 (SD-Bedingungen)

In einer zweiten Versuchsreihe ($n = 38$) wurden die Experimente unter Erzeugung einer Depolarisationswelle durchgeführt. Sie gliederten sich in zwei Phasen. Nach einer ersten Versuchsphase, bei welcher der Schnitt mit Inkubationslösung (Lsg.2, Tab. 2-1) superfundiert wurde, erfolgte die Druckinjektion einer KCl-Lösung (1-1,5 bar für 100 ms) über eine peripher am Neocortex angebrachten Elektrode. Bei den Versuchen dieser Reihe wurde stets darauf geachtet, dass der Gewebeschnitt so positioniert war, damit die KCl-Injektion gegen die Flussrichtung der Kammer erfolgen konnte. Der Zeitpunkt der Auslösung der Injektion wurde als $t=0$ definiert. Zudem wurde in jeder Versuchsreihe jeweils eine Vergleichselektrode in eine andere Region eingebracht, als die, die gerade untersucht wurde. Das heißt wenn Amygdala oder Hippocampus untersucht wurden, war auch eine Elektrode im Neocortex platziert und bei Versuchen am Neocortex dann entsprechend im Hippocampus oder Amygdala.

Die Injektion von KCl rief eine Änderung des Feldpotentials in Form einer zunächst negativen, gefolgt von positiven Veränderungen hervor, welche durch die FP-Elektrode im Neocortex registriert wurde. Die Amplitude und Dauer der SD-Welle wurden dokumentiert. Nach dem Erreichen des Ausgangswertes des Feldpotentials begann die zweite Versuchsphase, die der intrazellulären Ableitung in der 1. Versuchsreihe gleicht. Ließ sich zwei Stunden nach der KCl-Injektion, keine intrazelluläre Lage der MP Elektrode registrieren, so wurde der entsprechende Gewebeschnitt verworfen.

2.5 Verfahren zur Auswertung und Darstellung der Messergebnisse

2.5.1 Die Messvorschriften zur Auswertung der FP- Änderung

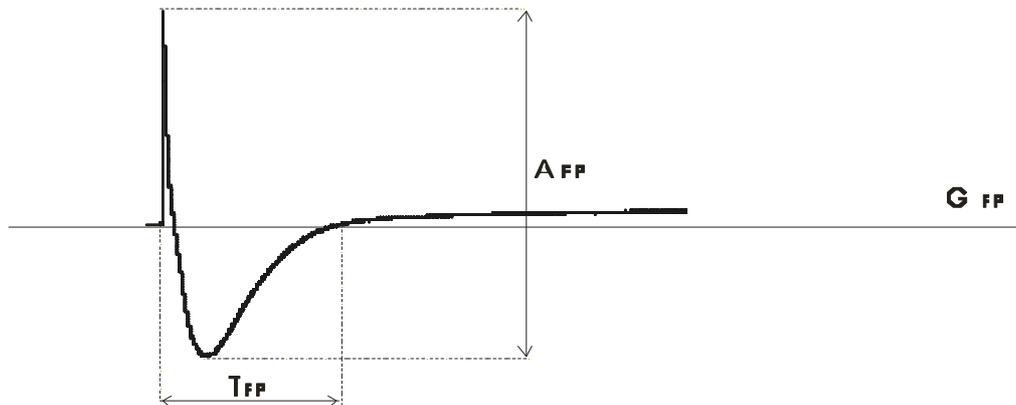


Abb. 2-2: Darstellung der Messmethode anhand einer Registrierung der Feldpotentiale nach dem Auslösen von SD. G_{FP} : Grundlinie, A_{FP} : maximale Auslenkung der FP-Fluktuation, T_{FP} : Dauer der FP-Fluktuation.

Bei der Ausmessung der DC-Fluktuation wurde die Amplitude (A_{FP}) als Spitze-Spitze-Abstand (Maxima der Kurve in positiver und negativer Richtung) zugrunde gelegt. Zur Ermittlung der Dauer der Depolarisationswelle wurde Anfang und Ende der FP-Fluktuation (T_{FP}) bestimmt und ausgemessen.

2.5.2 Die Messvorschriften zur Auswertung der MP-Änderung

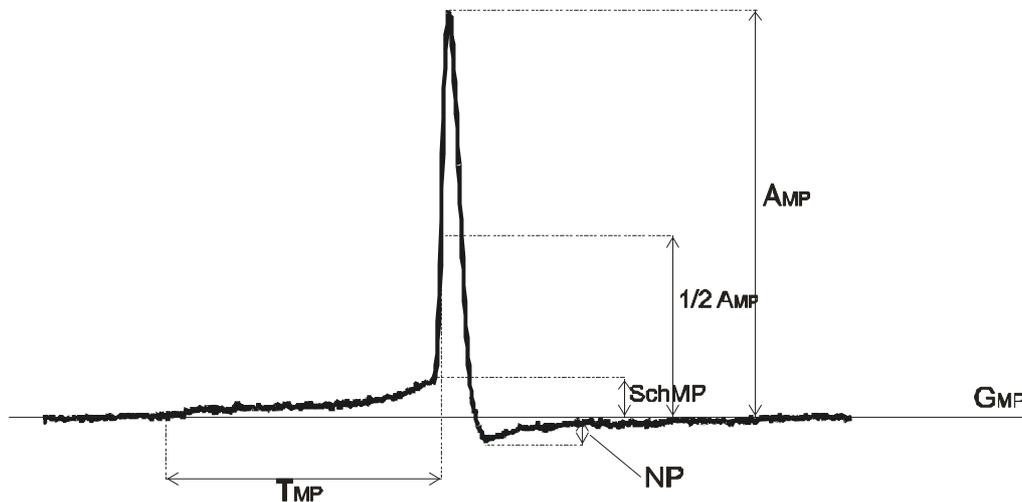


Abb. 2-3: Darstellung der Messmethode für die MP-Fluktuation. G_{MP} : Grundlinie, Sch_{MP} : Schwellenpotential, NP : Nachhyperpolarisation, A_{MP} : Amplitude, $\frac{1}{2} A_{MP}$: halbe Amplitude, T_{MP} : Dauer des Aktionspotentials bei halber Amplitude.

Die aufgenommenen Aktionspotentiale wurden einzeln mittels Cursor vermessen. Hierbei wurden folgende Werte gemessen:

- das Ruhemembranpotential (RMP), Grundlinie (G_{MP})
- Differenz zwischen Ruhemembranpotential und Schwellenwert (Sch_{MP})
- Nachpotential (NP)
- Dauer des Aktionspotentials bei halber Amplitude (T_{MP})
- Interspikeintervall (ISI)
- Frequenz

Aus mindestens sechs Werten einer Messung wurde ein Mittelwert gebildet. Diese Werte wurden für die verschiedenen Versuche gegeneinander aufgetragen und statistisch ausgewertet. Die Ergebnisse wurden als Mittelwert (MW) und \pm mittlerer Fehler des Mittelwertes (SEM) angegeben. Hierzu wurde das Programm Sigma Plot 10.0 verwendet. Die statistische Signifikanz der

Unterschiede wurde mit Sigma Stat bestimmt. Die Höhe der Signifikanz wurde auf $P \leq 0,05$ festgelegt.

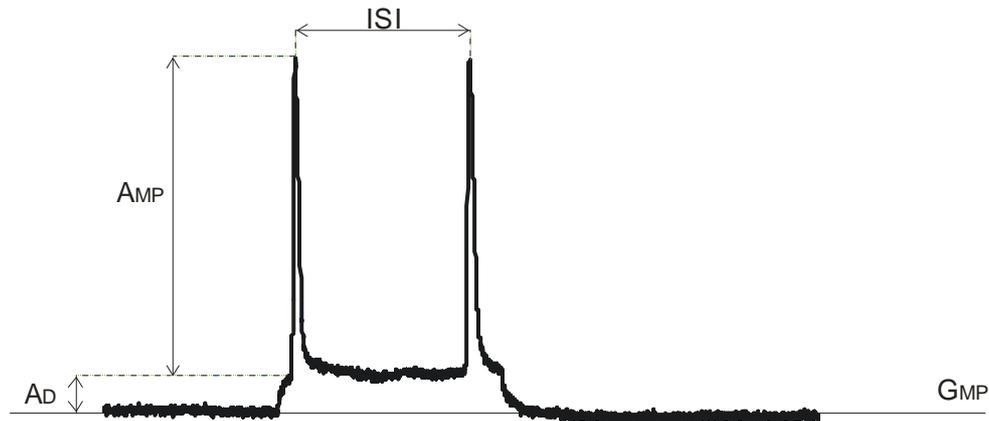


Abb. 2-4: Messvorschriften zur Auswertung der FP-Fluktuation bei Applikation der Stromimpulse. A_{MP} : Amplitude des Aktionspotentials, A_D : Amplitude der Depolarisation, ISI: Interspikeintervall.

Als Kriterium zur Analyse der Bursts auf die applizierten Rechteckstromimpulse wurden neben der Amplitude auch Parameter herangezogen, welche Burstcharakteristika darstellen. Dabei handelte es sich um folgende Parameter:

- Änderung des Membranpotentials in Richtung Depolarisation (A_D)
- Interspikeintervall (ISI) innerhalb eines Bursts
- Amplitude (A_{MP})
- Entladungsmuster.
 - fast adapting (FA)
 - slow adapting (SA)
 - intrinsically bursting (IB)

3. Ergebnisse

Im nachfolgenden Kapitel werden die Ergebnisse aller durchgeführten Versuche dargestellt. Es galt zu untersuchen, wie SD die intrazelluläre Aktivität beeinflusst.

3.1 Änderungen des Feldpotentials im Neocortex nach KCl-Applikation

Eine Applikation von 3M KCl ($n = 19$) löste im Bereich des Neocortex (Abb. 2-1) eine Änderung des Feldpotentials aus. Versuche bei denen die SD-Welle sich bis zum Hippocampus oder bis zur LA ausgebreitet hat, wurden von der weiteren Analyse ausgeschlossen. Die SD-Fluktuation war in Form einer zunächst negativen gefolgt von einer positiven Änderung des DC-Potentials sichtbar (Abb. 3-1). Die Auswertung der Depolarisationswellen (Abb. 2-2) zeigte Amplituden zwischen 4,8 mV und 30,9 mV mit einem Mittelwert (MW) von $15,5 \pm 1,2$ mV und einer Dauer von 3,4 min bis 41,4 min (MW: $22,8 \pm 2,8$ min).

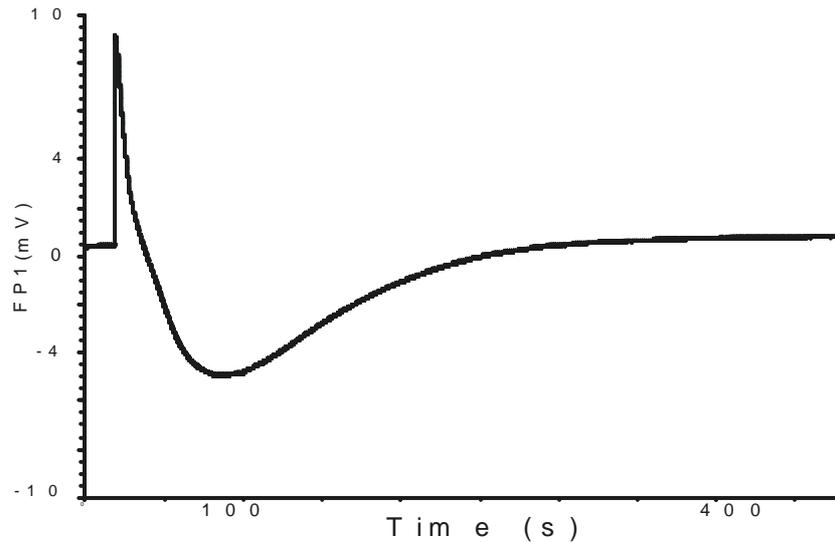


Abb. 3-1: Originalregistrierung einer SD-Welle im Neocortex. Die Depolarisationswelle wurde durch eine KCl-Injektion peripher am Neocortex ausgelöst. Die DC-Parameter zeigen erst eine Negativierung gefolgt von einer Positivierung des Potentials. Maus, Amygdala-Hippocampus-Cortex-Schnittpräparat.

3.2 Der Effekt von SD auf die intrazelluläre Aktivität

Im nachfolgenden Teil wird untersucht wie SD die intrazelluläre Aktivität von Neuronen in bestimmten Hirnregionen beeinflusst. Wie bereits erwähnt wurde eine Depolarisationswelle am Neocortex ausgelöst, die FP-Änderungen wurden registriert und nach Erreichen des Ausgangswertes des DC-Potentials begann eine Zwischenphase, die bis zum Erreichen der angestrebten intrazellulären Lage der MP-Elektrode andauerte. Im Hippocampus betrug die Zeit für diese Phase von 19,0 min bis 133,0 min mit einem Mittelwert von $86,8 \pm 8,7$ min, in der Amygdala 48,0 min bis 132,0 min (MW: $92,1 \pm 7,4$ min) und im Neocortex von 37,0 min bis 123,0 min (MW: $70,6 \pm 6,6$ min), (Tab. 3-1).

	Hippocampus	Amygdala	Neocortex	Hippocampus Amygdala Neocortex
MW ± SEM (min)	86,8 ± 8,7	92,1 ± 7,4	70,6 ± 6,6	82,2 ± 4,5
max. Zeit-min. Zeit (min)	19,0-133,0	48,0-132,0	37,0-123,0	19,0-133,0

Tab. 3-1: Durchschnittliche Zeit +/- SEM und min.-max. Zeit bis zu Erreichen einer intrazellulären Lage der MP- Elektrode nach SD. MW: Mittelwert, SEM: mittlerer Fehler des Mittelwertes, min: Minuten, min.: minimal, max.: maximal. Maus, Amygdala-Hippocampus-Cortex-Schnittpräparat.

3.2.1 Der Effekt von SD auf die intrazelluläre Aktivität im Hippocampus

3.2.1.1 Kontrollversuche

Es wurden 14 Neurone im Hippocampus der Maus unter Kontrollbedingungen untersucht. Die Zelle zeigte Ruhemembranpotentiale (RMP) zwischen -40,4 mV und -79,6 mV (MW: $-59,3 \pm 3,2$ mV, Tab. 3-2, Abb. 3-2 B). Das Schwellenpotential (Sch_{MP}) als Differenz zum RMP lag im Bereich von 1,6 mV bis 5,6 mV (MW: $2,7 \pm 0,3$ mV, Tab. 3-2). Für die Dauer der Aktionspotentiale bei halber Amplitude (T_{MP}) ergaben sich Werte von 2,6 ms bis 43,2 ms (MW: $9,3 \pm 2,6$ ms, Tab. 3-2, Abb. 3-4 B). Beim RMP traten nach dem Entladen hyperpolarisierende Nachpotentiale (NP) im Bereich von 0,5 mV bis 5,0 mV (MW: $1,6 \pm 0,3$ mV, Tab. 3-2, Abb. 3-5 B) auf. Die Aktionspotentiale zeigten eine Frequenz (F) von 15,0/min bis 620,0/min (MW: $317,9 \pm 49,7$ /min, Tab. 3-2, Abb. 3-6 B).

Darüber hinaus wurden die Neurone durch negative bzw. positive konstante Strominjektion über die intrazelluläre Mikroelektrode hyperpolarisiert bzw. depolarisiert. Während der Depolarisation der Membran lag das Membranpotential (MP) bei Werten zwischen -26,7 mV und -72,9 mV (MW: $-48,4 \pm 3,2$ mV, Tab. 3-3, Abb. 3-2 A). Das Schwellenpotential (Sch_{MP}) lag im

Bereich von 1,2 mV bis 4,8 mV (MW: $2,5 \pm 0,2$ mV, Tab. 3-3). Für die Dauer der Aktionspotentiale bei halber Amplitude (T_{MP}) ergaben sich Werte von 4,0 ms bis 11,4 ms (MW: $6,9 \pm 0,6$ ms, Tab. 3-3, Abb. 3-4 A). Während der Depolarisation der Membran traten hyperpolarisierende Nachpotentiale (NP) auf, deren Amplituden zwischen 0,3 mV und 2,5 mV (MW: $1,1 \pm 0,2$ mV, Tab. 3-3, Abb. 3-5 A) lagen. Die Frequenz variierte von 82,5/min bis 1740,0/min (MW: $553,1 \pm 124,5$ /min, Tab.3-3, Abb. 3-6 A).

Bei der Hyperpolarisation lag das MP zwischen -57,6 mV und -159,9 mV (MW: $-84,6 \pm 7,8$ mV, Tab. 3-4, Abb. 3-2 C). Die gemessenen Zahlen für Sch_{MP} gehen von 1,9 mV bis 8,4 mV (MW: $3,8 \pm 0,5$ mV, Tab. 3-4, Abb. 3-3 A). Bei hyperpolarisierendem Strom zeigten die Aktionspotentiale bei halber Amplitude eine Dauer von 2,4 ms bis 92,4 ms (MW: $16,7 \pm 6,1$ ms, Tab. 3-4). Die Werte für hyperpolarisierende Nachpotentiale reichen von 0,7 mV bis 5,4 mV (MW: $2,2 \pm 0,6$ mV, Tab. 3-4, Abb. 3-5 C). Die Frequenz erstreckt sich über 9,5 Aktionpotentiale pro min bis 255,0/min (MW: $61,3 \pm 19,5$ /min, Tab. 3-4, Abb. 3-6 C).

In alle Neurone der Kontrollreihe wurden positive elektrische Ströme von 100 pA, 500 pA, 900 pA injiziert. Die dadurch ausgelösten Verschiebungen des MP in Richtung Depolarisation sowie die maximalen Amplituden der registrierten Aktionspotentiale, der ISI und das Entladungsmuster sind in Tab. 3-5 dargestellt. Bei Injektion eines Stroms von 100 pA ergaben sich Depolarisationen (A_D) um 1,8 mV bis 16,25 mV (MW: $6,5 \pm 1,0$ mV, $n = 14$, Abb. 3-7 A) sowie Amplituden (A_{MP}) der Aktionspotentiale von 16,0 mV bis 67,3 mV (MW: $48,3 \pm 4,4$ mV, $n = 13$, Abb. 3-7 A). Der ISI lag im Bereich von 20,0 ms bis 76,7 ms (MW: $36,3 \pm 6,3$ ms, $n = 8$, Abb. 3-7 A). Elf der 14 Zellen zeigten das Entladungsmuster schnell-adaptierende (FA), eine Zelle war langsam-adaptierend (SA), zwei Neurone zeigten kein Aktionspotential (Abb. 3-7 A). Bei Injektion eines Stroms von 500 pA resultierten Depolarisationen von 2,9 mV bis 35,4 mV (MW: $14,5 \pm 3,0$ mV, $n = 14$, Abb. 3-7 B), die maximalen Amplituden der Aktionspotentiale lagen zwischen 18,1 mV und 71,5 mV (MW: $45,9 \pm 4,6$ mV, $n = 13$, Abb. 3-7 B). Der ISI lag im Bereich von 9,4 ms bis 70,6 ms (MW: $24,4 \pm 4,9$ ms, $n = 12$, Abb. 3-7 B). Vier der Zellen zeigten das

Entladungsmuster FA, neun SA und ein Neuron zeigte kein Aktionspotential (Abb. 3-7 B). Die Depolarisationen bei Injektion eines Stroms von 900 pA hatten Amplituden zwischen 4,8 mV und 64,6 mV (MW: $25,5 \pm 5,8$ mV, $n = 14$, Abb. 3-7 C). Die Aktionspotentiale erreichten maximale Amplituden von 12,1 mV bis 69,5 mV (MW: $41,9 \pm 4,7$ mV, $n = 14$, Abb. 3-7 C). Der ISI lag bei Werten von 10,6 ms bis 19,8 ms (MW: $14,7 \pm 0,9$ ms, $n = 10$, Abb. 3-7 C). Vier der Neurone zeigten das Entladungsmuster FA und zehn SA (Abb. 3-7 C).

3.2.1.2 Auswirkungen von SD auf das Aktionspotential

Es wurden 12 Neurone im Hippocampus der Maus nach SD untersucht. Die Zellen zeigten RMP zwischen -36,9 mV und -69,4 mV (MW: $-53,4 \pm 3,3$ mV, $P = 0,210$, Tab. 3-2, Abb. 3-2 E). Das Schwellenpotential (Sch_{MP}) lag im Bereich von 1,3 mV bis 4,5 mV (MW: $2,7 \pm 0,3$ mV, $P = 0,930$, Tab. 3-2). Für die Dauer der Aktionspotentiale bei halber Amplitude (T_{MP}) ergaben sich Werte von 7,1 ms bis 25,5 ms (MW: $15,2 \pm 1,9$ ms, $P = 0,002$, Tab. 3-2, Abb. 3-4 D). Es besteht ein signifikanter Unterschied zwischen den Kontrollversuchen und den SD-Versuchen für T_{MP} . Beim RMP traten nach dem Entladen hyperpolarisierende Nachpotentiale (NP) im Bereich von 0,4 mV bis 5,2 mV (MW: $1,9 \pm 0,4$ mV, $P = 0,777$, Tab. 3-2, Abb. 3-5 E) auf. Die Aktionspotentiale zeigten eine Frequenz (F) von 1,5/min bis 1440,0/min (MW: $482,9 \pm 139,4$ /min, $P = 0,898$, Tab. 3-2, Abb. 3-6 E).

Darüber hinaus wurden auch hier die Neurone durch negative bzw. positive konstante Strominjektion über die intrazelluläre Mikroelektrode hyperpolarisiert bzw. depolarisiert. Während der Depolarisation der Membran lag das Membranpotential (MP) bei Werten zwischen -12,5 mV und -61,2 mV (MW: $-37,7 \pm 4,9$ mV, $P = 0,173$, Tab. 3-3, Abb. 3-2 D). Das Schwellenpotential (Sch_{MP}) lag im Bereich von 1,1 mV bis 4,7 mV (MW: $2,7 \pm 0,3$ mV, $P = 0,635$, Tab. 3-3). Für die Dauer der Aktionspotentiale bei halber Amplitude (T_{MP}) ergaben sich Werte von 4,5 ms bis 33,8 ms (MW: $15,2 \pm 2,9$ ms, $P = 0,005$, Tab. 3-3, Abb. 3-4 C). Es besteht ein signifikanter Unterschied zwischen den

Kontrollversuchen und den SD-Versuchen für T_{MP} . Während der Depolarisation der Membran traten hyperpolarisierende Nachpotentiale (NP) auf deren Amplituden zwischen 0,4 mV und 2,9 mV (MW: $1,5 \pm 0,2$ mV, $P = 0,208$, Tab. 3-3, Abb. 3-5 D) lagen. Die Frequenz variierte von 60,0/min bis 1560,0/min (MW: $493,0 \pm 128,5$ /min, $P = 0,741$, Tab.3-3, Abb. 3-6 D).

Bei der Hyperpolarisation lag das MP zwischen -55,0 mV und -99,7 mV (MW: $-73,3 \pm 3,5$ mV, $P = 0,456$, Tab. 3-4, Abb. 3-2 F). Die ermittelten Zahlen für Sch_{MP} gehen von 1,5 mV bis 5,0 mV (MW: $3,0 \pm 0,3$ mV, $P = 0,186$, Tab. 3-4, Abb. 3-3 B). Bei hyperpolarisierendem Strom zeigten die Aktionspotentiale bei halber Amplitude eine Dauer von 4,9 ms bis 32,0 ms (MW: $16,2 \pm 2,3$ ms, $P = 0,227$, Tab. 3-4). Die Werte für hyperpolarisierende Nachpotentiale erstrecken sich von 0,5 mV bis 3,8 mV (MW: $1,5 \pm 0,3$ mV, $P = 0,563$, Tab. 3-4, Abb. 3-5 F). Die Aktionspotentiale zeigen eine Frequenz von 15,0/min bis 348/min (MW: $72,9 \pm 28,9$ /min, $P = 0,681$, Tab. 3-4, Abb. 3-6 F).

In alle Neurone dieser Versuchreihe wurden positive elektrische Ströme von 100 pA, 500 pA und 900 pA injiziert. Die dadurch ausgelösten Verschiebungen des MP in Richtung Depolarisation sowie die maximalen Amplituden der registrierten Aktionspotentiale, der ISI und das Entladungsmuster wurden ermittelt (Tab. 3-5).

Bei Injektion eines Stroms von 100 pA ergaben sich Depolarisationen (A_D) um 4,5 mV bis 43,7 mV (MW: $19,2 \pm 3,5$ mV, $P = 0,004$, $n = 12$, Abb. 3-7 D) sowie Amplituden (A_{MP}) der Aktionspotentiale von 35,5 mV bis 69,9 mV (MW: $57,5 \pm 3,0$ mV, $P = 0,201$, $n = 12$, Abb. 3-7 D). Es besteht ein signifikanter Unterschied zwischen den Kontrollversuchen und den SD-Versuchen für A_D bei einer Injektion von 100 pA Strom. Der ISI lag im Bereich von 23,7 ms bis 74,9 ms (MW: $40,3 \pm 5,3$ ms, $P = 0,773$, $n = 11$, Abb. 3-7 D). Acht der 12 Zellen zeigten das Entladungsmuster schnell-adaptierend und vier Zellen waren langsam-adaptierend (Abb. 3-7 D). Bei Injektion eines Stroms von 500 pA resultierten Depolarisationen von 8,1 mV bis 98,0 mV (MW: $54,8 \pm 9,2$ mV, $P = 0,001$, $n = 12$, Abb. 3-7 E), die maximalen Amplituden der Aktionspotentiale lagen zwischen 25,5 mV und 69,5 mV (MW: $50,1 \pm 3,7$ mV, $P = 0,493$, $n = 12$, Abb. 3-7 E). Es besteht ein signifikanter Unterschied zwischen den Kontrollversuchen

und den SD-Versuchen für A_D bei einer Injektion von 500 pA Strom. Der ISI lag im Bereich von 13,1 ms bis 37,4 ms (MW: $21,9 \pm 2,1$ ms, $P = 0,829$, $n = 11$, Abb. 3-7 E). Eine der Zellen zeigte das Entladungsmuster FA und elf SA (Abb. 3-7 E). Die Depolarisationen bei Injektion eines Stroms von 900 pA hatten Amplituden zwischen 12,6 mV und 182,4 mV (MW: $92,5 \pm 16,8$ mV, $P = 0,002$, $n = 11$, Abb. 3-7 F). Es besteht ein signifikanter Unterschied zwischen den Kontrollversuchen und den SD-Versuchen für A_D bei einer Injektion von 900 pA Strom.

Die Aktionspotentiale erreichten maximale Amplituden von 4,0 mV bis 64,9 mV (MW: $44,7 \pm 5,0$ mV, $P = 0,848$, $n = 11$, Abb. 3-7 F). Der ISI lag bei Werten von 9,0 ms bis 28,24 ms (MW: $17,6 \pm 1,8$ ms, $P = 0,174$, $n = 10$, Abb. 3-7 F). Neun der Neurone zeigten das Entladungsmuster SA, eine Zelle war ein gruppiert feuerndes Neuron (IB), (Abb. 3-7 F).

	$R_{MP}(mV)$	$Sch_{MP}(mV)$	$T_{MP}(ms)$	$NP(mV)$	Frequenz min^{-1}
1. MW \pm SEM	-59,3 \pm 3,2	2,7 \pm 0,3	9,3 \pm 2,6	1,6 \pm 0,3	317,9 \pm 47,9
2. MW \pm SEM	-53,4 \pm 3,3	2,7 \pm 0,3	15,2 \pm 1,9	1,9 \pm 0,4	482,9 \pm 139,4
P =	0,210	0,930	0,002	0,777	0,898

Tab. 3-2: Mittelwerte (MW) für Ruhemembranpotential (RMP), Schwellenpotential (Sch_{MP}), Dauer des Aktionspotentials bei halber Amplitude (T_{MP}), Nachpotential (NP) und Frequenz im Hippocampus, \pm mittlerer Fehler des Mittelwertes (SEM), P = Signifikanz in Bezug zur Kontrolle (Mann-Whitney-Rank-Sum-Test). Es besteht ein signifikanter Unterschied zwischen den Kontrollversuchen und den SD-Versuchen für T_{MP} . 1: Kontrollversuche (Lsg.2, Tab. 2-1), 2: SD-Versuche (Lsg.2, Tab. 2-1 und KCI zur Auslösung von SD). Maus, Amygdala-Hippocampus-Cortex-Schnittpräparat.

	$R_{MP}(mV)$	$Sch_{MP}(mV)$	$T_{MP}(ms)$	$NP(mV)$	Frequenz min^{-1}
1. MW \pm SEM	-48,4 \pm 3,2	2,5 \pm 0,2	6,9 \pm 0,6	1,1 \pm 0,2	553,1 \pm 124,5
2. MW \pm SEM	-37,7 \pm 4,9	2,7 \pm 0,3	15,2 \pm 2,9	1,5 \pm 0,2	493,0 \pm 128,5
P =	0,173	0,635	0,005	0,208	0,741

Tab. 3-3: Mittelwerte (MW) für Ruhemembranpotential (RMP), Schwellenpotential (Sch_{MP}), Dauer des Aktionspotentials bei halber Amplitude (T_{MP}), Nachpotential (NP) und Frequenz bei Depolarisation mit konstanter Strominjektion im Hippocampus, \pm mittlerer Fehler des Mittelwertes (SEM), P = Signifikanz in Bezug zur Kontrolle (Mann-Whitney-Rank-Sum-Test). Es besteht ein signifikanter Unterschied zwischen den Kontrollversuchen und den SD-Versuchen für T_{MP} . 1: Kontrollversuche (Lsg.2, Tab. 2-1), 2: SD-Versuche (Lsg.2, Tab. 2-1 und KCI zur Auslösung von SD). Maus, Amygdala-Hippocampus-Cortex-Schnittpräparat.

	$R_{MP}(mV)$	$Sch_{MP}(mV)$	$T_{MP}(ms)$	$NP(mV)$	Frequenz min^{-1}
1. MW \pm SEM	$-84,6 \pm 7,8$	$3,8 \pm 0,5$	$16,7 \pm 6,1$	$2,2 \pm 0,6$	$61,3 \pm 19,5$
2. MW \pm SEM	$-73,3 \pm 3,5$	$3,0 \pm 0,3$	$16,2 \pm 2,3$	$1,5 \pm 0,3$	$72,9 \pm 28,9$
P =	0,456	0,186	0,227	0,563	0,681

Tab. 3-4: Mittelwerte (MW) für Ruhemembranpotential (RMP), Schwellenpotential (Sch_{MP}), Dauer des Aktionspotentials bei halber Amplitude (T_{MP}), Nachpotential (NP) und Frequenz bei Hyperpolarisation mit konstanter Strominjektion im Hippocampus, \pm mittlerer Fehler des Mittelwertes (SEM), P = Signifikanz in Bezug zur Kontrolle (Mann-Whitney-Rank-Sum-Test). Es sind anhand der P - Werte keine signifikanten Unterschiede zwischen den Kontrollversuchen und den SD-Versuchen auszumachen. 1: Kontrollversuche (Lsg.2, Tab. 2-1), 2: SD-Versuche (Lsg.2, Tab. 2-1 und KCl zur Auslösung von SD). Maus, Amygdala-Hippocampus-Cortex-Schnittpräparat.

	100 pA			500 pA			900 pA		
	A_D	A_{MP}	ISI	A_D	A_{MP}	ISI	A_D	A_{MP}	ISI
1.MW	6,5	48,3	36,3	14,5	45,9	24,4	25,5	41,9	14,7
\pm SEM	$\pm 1,0$	$\pm 4,4$	$\pm 6,3$	$\pm 3,0$	$\pm 4,6$	$\pm 4,9$	$\pm 5,8$	$\pm 4,7$	$\pm 0,9$
2.MW	19,2	57,5	40,3	54,8	50,1	21,9	92,5	44,7	17,6
\pm SEM	$\pm 3,5$	$\pm 3,0$	$\pm 5,3$	$\pm 9,2$	$\pm 3,7$	$\pm 2,1$	$\pm 16,8$	$\pm 5,0$	$\pm 1,8$
P =	0,004	0,201	0,773	0,001	0,493	0,829	0,002	0,848	0,174

Tab. 3-5: Änderung des MP einzelner Neurone bei Injektion positiver elektrischer Rechteckstimpulse über die intrazelluläre Mikroelektrode und Charakterisierung des Entladungsverhaltens im Hippocampus. MW: Mittelwert, SEM: mittlerer Fehler des Mittelwertes, A_D : Amplitude der Depolarisation, A_{MP} : Amplitude des Aktionspotentials, ISI: Interspikeintervall, P = Signifikanz in Bezug zur Kontrolle (Mann-Whitney-Rank-Sum-Test). Es sind anhand der P - Werte signifikante Unterschiede zwischen den Kontrollversuchen und den SD-Versuchen für A_D bei Injektion von 100 pA, 500 pA und 900 pA Strom auszumachen. 1: Kontrollversuche (Lsg.2, Tab. 2-1), 2: SD-Versuche (Lsg.2, Tab. 2-1 und KCl zur Auslösung von SD). Maus, Amygdala-Hippocampus-Cortex-Schnittpräparat.

Hippocampus
Membranpotential

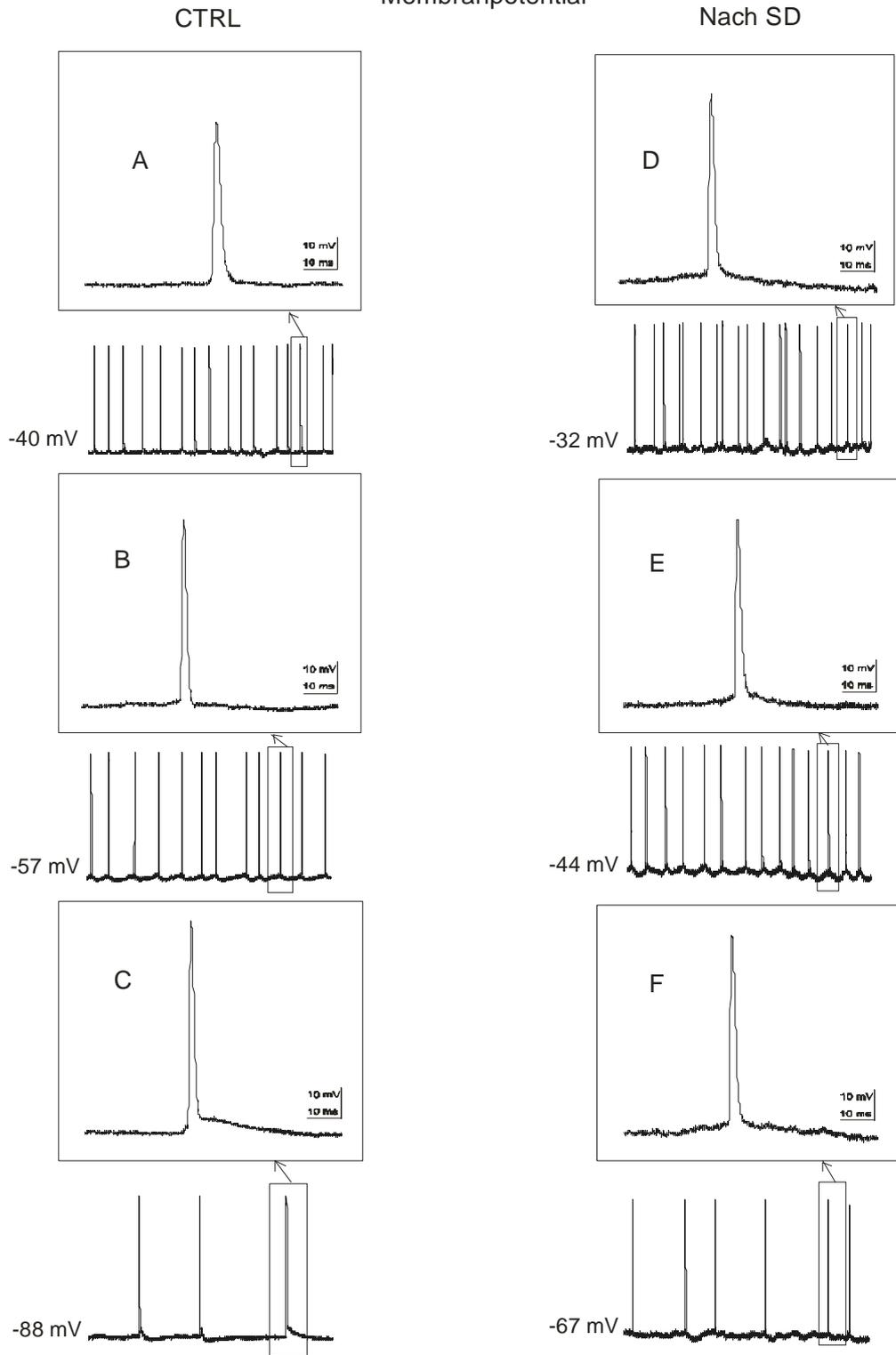


Abb. 3-2: (Legende siehe nächste Seite)

Abb. 3-2: Originalmessung von intrazellulärer Aktivität bei Neuronen im Hippocampus. Vergleich des Membranpotentials während konstanter Strominjektion über intrazelluläre Mikroelektrode (depolarisierender Strom (A, D), hyperpolarisierender Strom (C, F)) und spontaner Aktivität (B, E) zwischen Kontrollversuchen (CTRL) und Versuchen nach Auslösen von SD. Maus, Amygdala-Hippocampus-Cortex-Schnittpräparat.

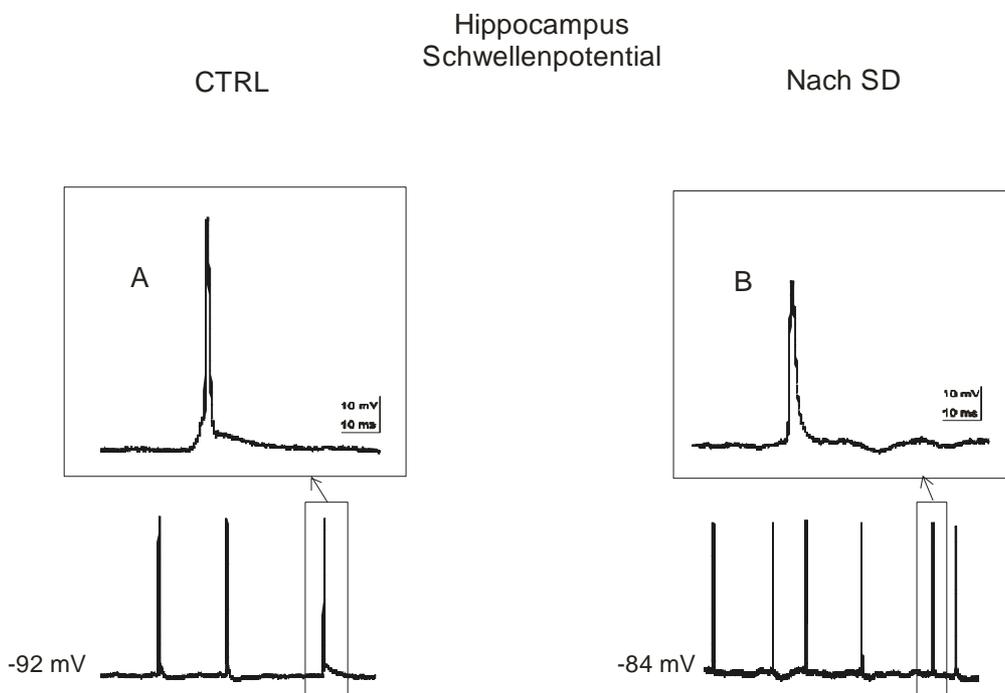


Abb. 3-3: Originalmessung von intrazellulärer Aktivität bei Neuronen im Hippocampus. Vergleich des Schwellenpotentials während konstanter Strominjektion über intrazelluläre Mikroelektrode (hyperpolarisierender Strom (A, B)) zwischen Kontrollversuchen (CTRL) und Versuchen nach Auslösen von SD. Maus, Amygdala-Hippocampus-Cortex-Schnittpräparat.

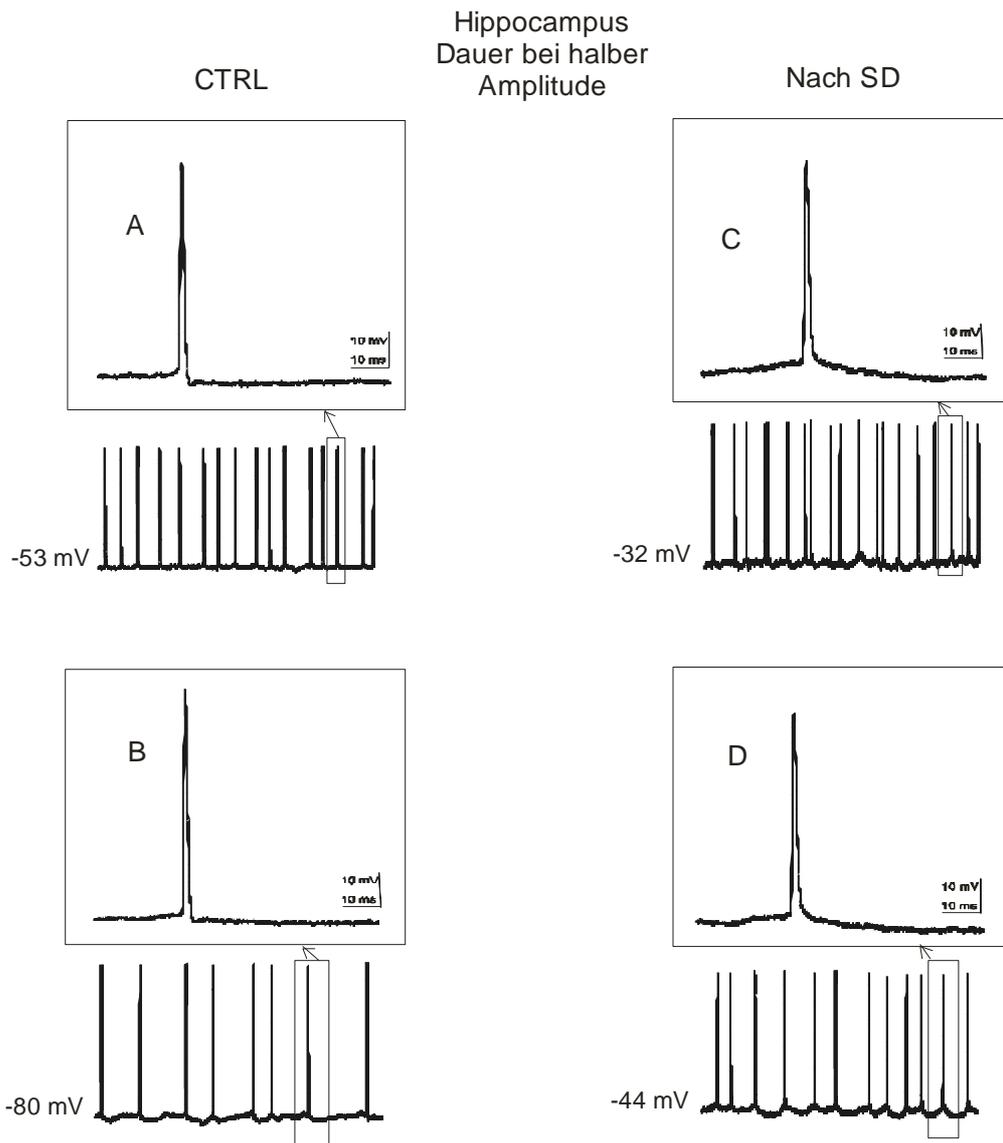


Abb. 3-4: Originalmessung von intrazellulärer Aktivität bei Neuronen im Hippocampus. Vergleich der Dauer des Aktionspotentials bei halber Amplitude während konstanter Strominjektion über intrazelluläre Mikroelektrode (depolarisierender Strom (A, C)) und spontaner Aktivität (B, D) zwischen Kontrollversuchen (CTRL) und Versuchen nach Auslösen von SD. Maus, Amygdala-Hippocampus-Cortex-Schnittpräparat.

Hippocampus
Nachhyperpolarisation

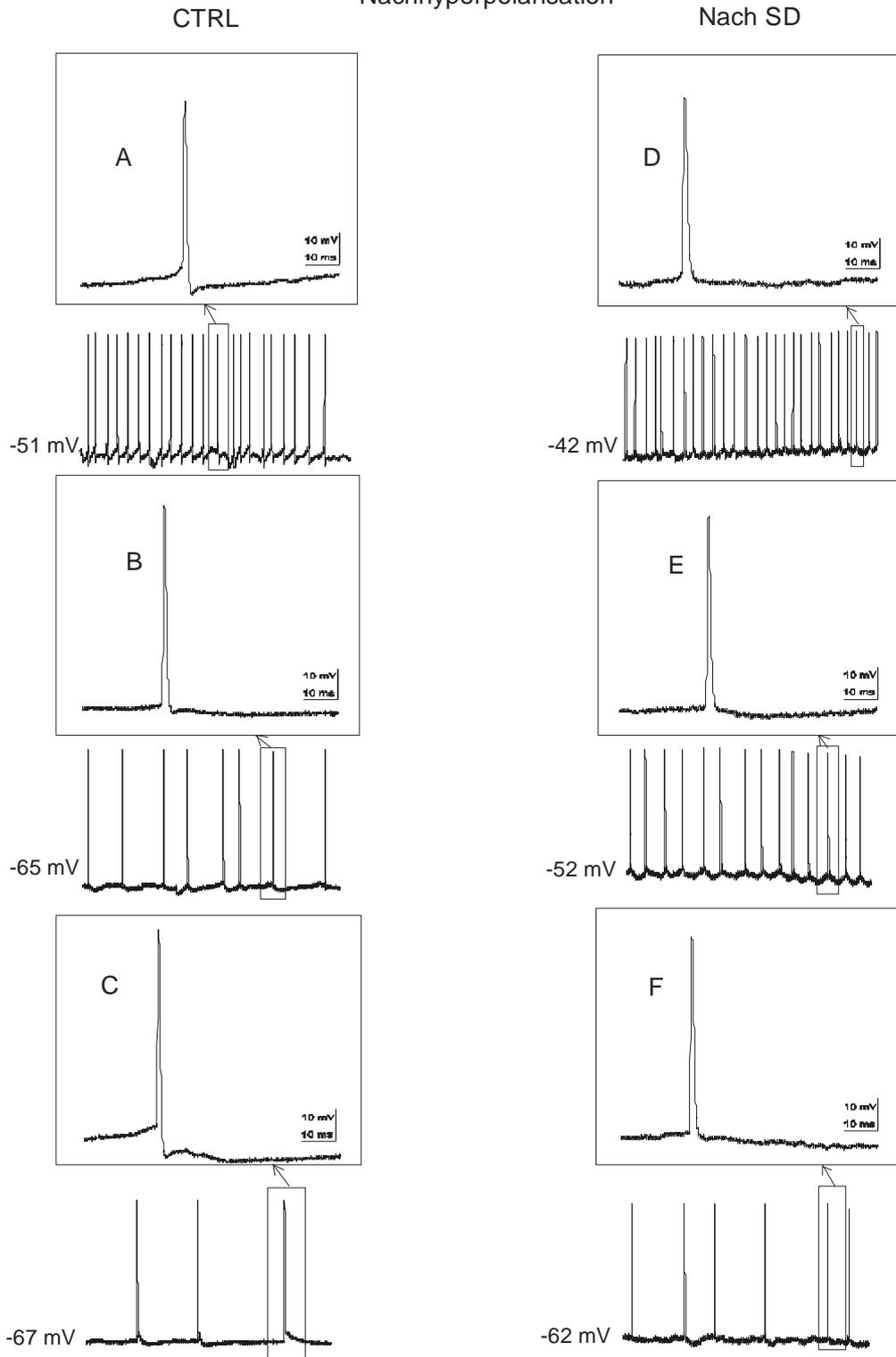


Abb. 3-5: (Legende siehe nächste Seite)

Abb. 3-5: Originalmessung von intrazellulärer Aktivität bei Neuronen im Hippocampus. Vergleich des Nachpotentials während konstanter Strominjektion über intrazelluläre Mikroelektrode (depolarisierender Strom (A, D), hyperpolarisierender Strom (C, F)) und spontaner Aktivität (B, E) zwischen Kontrollversuchen (CTRL) und Versuchen nach Auslösen von SD. Maus, Amygdala-Hippocampus-Cortex-Schnittpräparat.

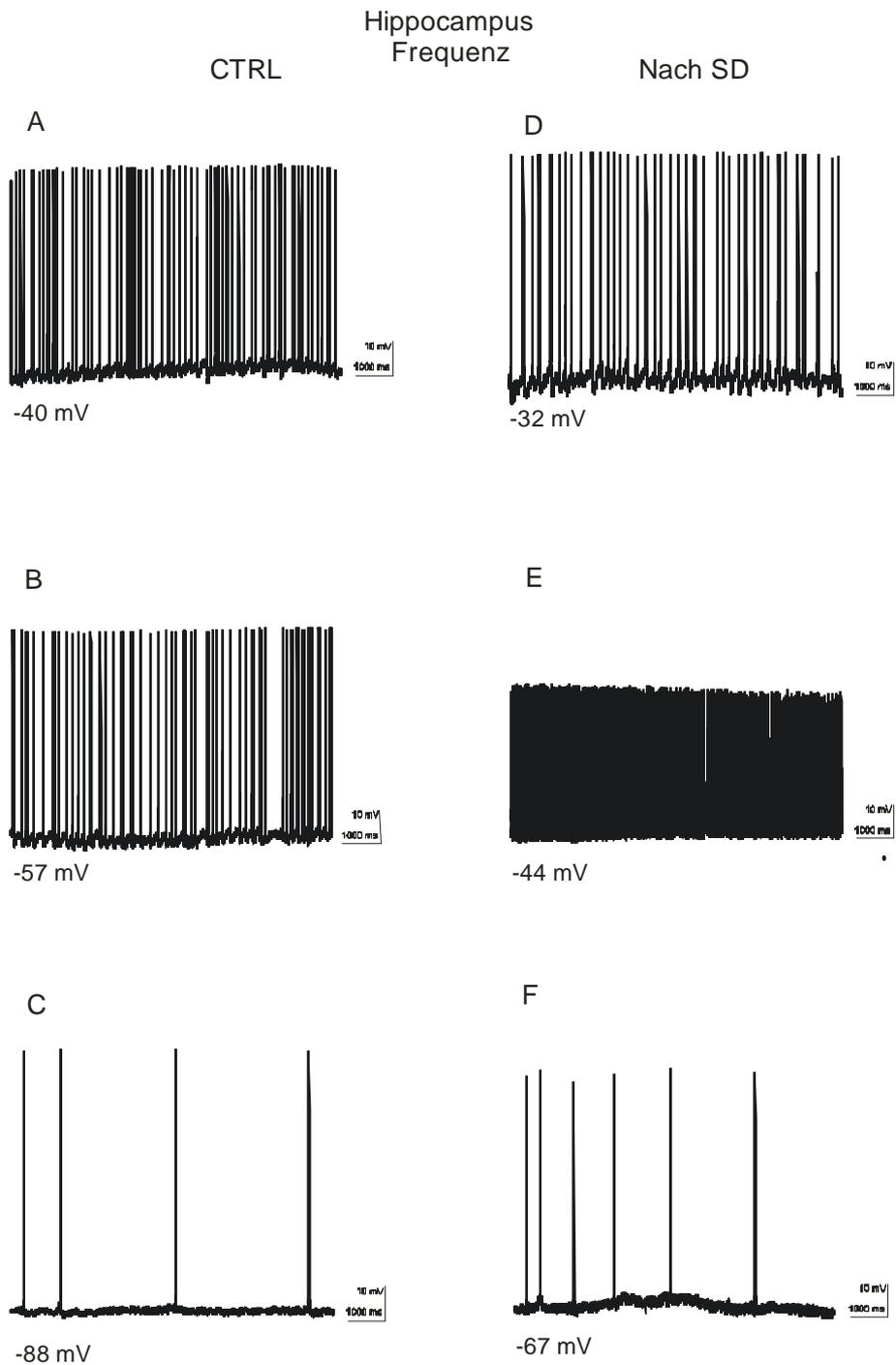


Abb. 3-6: Originalmessung von intrazellulärer Aktivität bei Neuronen im Hippocampus. Vergleich der Frequenz während konstanter Strominjektion über intrazelluläre Mikroelektrode (depolarisierender Strom (A, D), hyperpolarisierender Strom (C, F)) und spontaner Aktivität (B, E) zwischen Kontrollversuchen (CTRL) und Versuchen nach Auslösen von SD. Maus, Amygdala-Hippocampus-Cortex-Schnittpräparat.

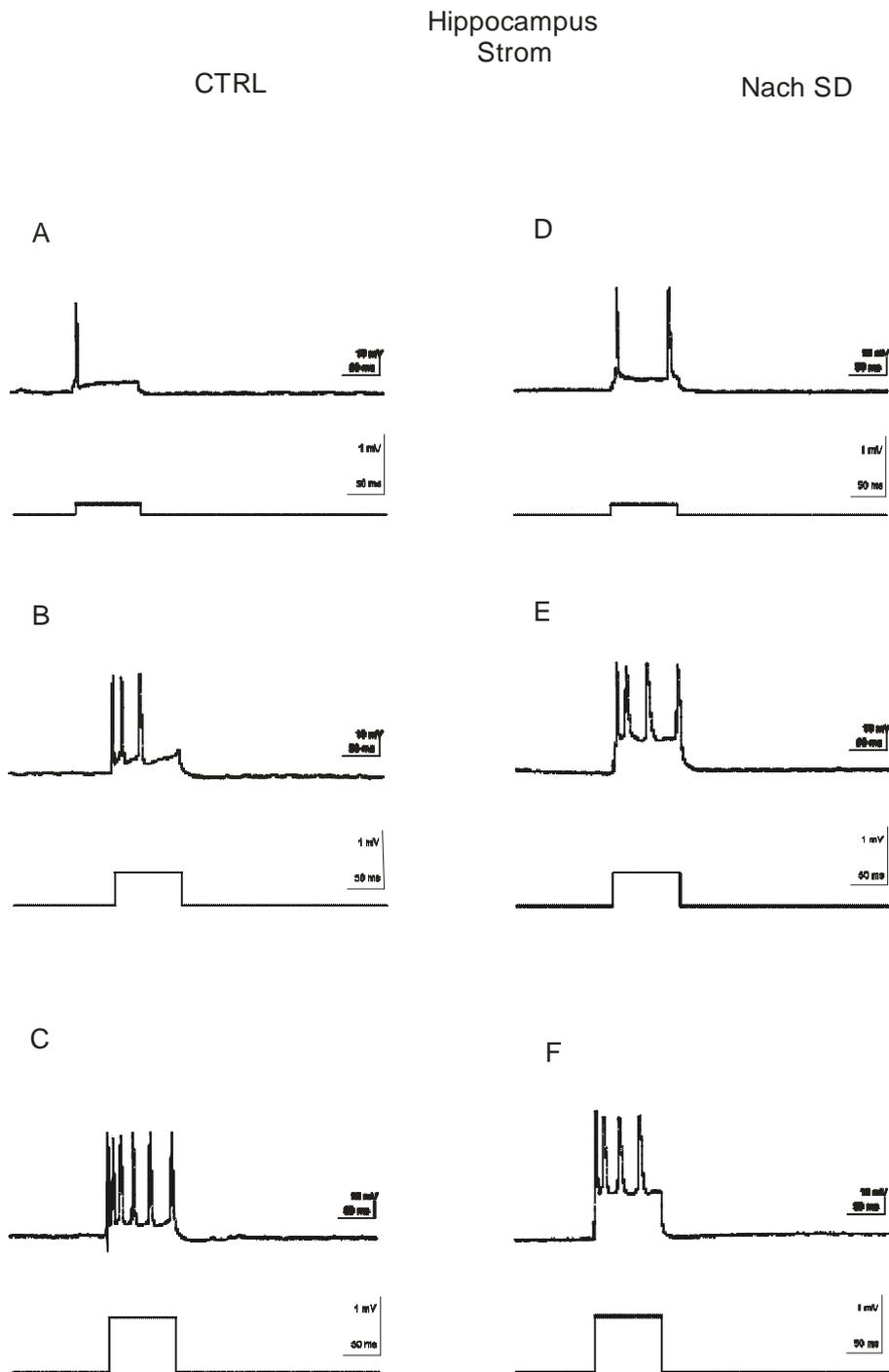


Abb. 3-7: Entladungsverhalten der Neurone im Hippocampus in Reaktion auf Depolarisation der Membran durch intrazelluläre Strominjektion unterschiedlicher Stärke (A+D-100 pA, B+E-500 pA, C+F-900 pA). SD wurde durch Applikation von 3M KCl-Lösung ausgelöst. CTRL: Kontrollversuche (Lsg.2, Tab. 2-1). Maus, Amygdala-Hippocampus-Cortex-Schnittpräparat.

3.2.2 Der Effekt von SD auf die intrazelluläre Aktivität in der Amygdala

3.2.2.1 Kontrollversuche

Es wurden 12 Neurone in der Amygdala der Maus unter Kontrollbedingungen untersucht. Die Zelle zeigten Ruhemembranpotentiale (RMP) zwischen -24,0 mV und -62,7 mV (MW: $-46,8 \pm 3,0$ mV, Tab. 3-6, Abb. 3-8 A). Das Schwellenpotential (Sch_{MP}) als Differenz zum RMP lag im Bereich von 1,6 mV bis 6,2 mV (MW: $4,5 \pm 0,4$ mV, Tab. 3-6). Für die Dauer der Aktionspotentiale bei halber Amplitude (T_{MP}) ergaben sich Werte von 2,2 ms bis 92,8 ms (MW: $35,6 \pm 9,3$ ms, Tab. 3-6). Beim RMP traten nach dem Entladen hyperpolarisierende Nachpotentiale (NP) im Bereich von 0,9 mV bis 7,4 mV (MW: $3,2 \pm 0,6$ mV, Tab. 3-6) auf. Die Aktionspotentiale zeigten eine Frequenz (F) von 10,5/min bis 960,0/min (MW: $201,7 \pm 74,5$ /min, Tab. 3-6, Abb. 3-12 B).

Darüber hinaus wurden die Neurone durch negative bzw. positive konstante Strominjektion über die intrazelluläre Mikroelektrode hyperpolarisiert bzw. depolarisiert. Während der Depolarisation der Membran lag das Membranpotential (MP) bei Werten zwischen -17,1 mV und -52,2 mV (MW: $-36,8 \pm 3,6$ mV, Tab. 3-7). Das Schwellenpotential (Sch_{MP}) lag im Bereich von 2,2 mV bis 6,8 mV (MW: $4,1 \pm 0,4$ mV, Tab. 3-7, Abb. 3-9 A). Für die Dauer der Aktionspotentiale bei halber Amplitude (T_{MP}) ergaben sich Werte von 2,9 ms bis 50,4 ms (MW: $26,4 \pm 4,6$ ms, Tab. 3-7). Während der Depolarisation der Membran traten hyperpolarisierende Nachpotentiale (NP) auf deren Amplituden zwischen 0,6 mV und 9,0 mV (MW: $3,9 \pm 0,8$ mV, Tab. 3-7, Abb. 3-11 A) lagen. Die Frequenz variierte von 21,0/min bis 795,0/min (MW: $305,2 \pm 72,3$ /min, Tab.3-7, Abb. 3-12 A).

Bei der Hyperpolarisation lag das MP zwischen -27,8 mV und -100,2 mV (MW: $-59,5 \pm 5,0$ mV, Tab. 3-8, Abb. 3-8 B). Die gemessenen Zahlen für Sch_{MP} gehen von 1,7 mV bis 9,6 mV (MW: $5,0 \pm 0,7$ mV, Tab. 3-8). Bei hyperpolarisierendem Strom zeigten die Aktionspotentiale bei halber Amplitude eine Dauer von 1,8 ms bis 139,1 ms (MW: $39,0 \pm 12,4$ ms, Tab. 3-8, Abb. 3-10 A). Die Werte für hyperpolarisierende Nachpotentiale reichen von 1,8 mV bis 5,2 mV (MW: $3,6 \pm$

0,4 mV, Tab. 3-8, Abb. 3-11 B). Die Frequenz erstreckt sich über 1,0 Aktionspotential pro min bis 1187,0/min (MW: $135,3 \pm 97,5$ /min, Tab. 3-8, Abb. 3-12 C).

In alle Neurone der Kontrollreihe wurden positive elektrische Ströme von 100 pA, 500 pA und 900 pA injiziert. Die dadurch ausgelösten Verschiebungen des MP in Richtung Depolarisation sowie die maximalen Amplituden der registrierten Aktionspotentiale, der ISI und das Entladungsmuster sind in Tab. 3-9 dargestellt. Bei Injektion eines Stroms von 100 pA ergaben sich Depolarisationen (A_D) um 4,1 mV bis 35,3 mV (MW: $13,0 \pm 2,9$ mV, $n = 12$) sowie Amplituden (A_{MP}) der Aktionspotentiale von 28,8 mV bis 77,3 mV (MW: $56,6 \pm 4,8$ mV, $n = 12$). Der ISI lag im Bereich von 31,3 ms bis 118,3 ms (MW: $59,0 \pm 8,3$ ms, $n = 11$). Sechs der 12 Zellen zeigten das Entladungsmuster schnell-adaptierend (FA) und sechs waren langsam-adaptierend (SA). Bei Injektion eines Stroms von 500 pA resultierten Depolarisationen von 5,6 mV bis 87,7 mV (MW: $33,4 \pm 8,5$ mV, $n = 12$), die maximalen Amplituden der Aktionspotentiale lagen zwischen 24,9 mV und 75,1 mV (MW: $52,6 \pm 5,3$ mV, $n = 12$). Der ISI lag im Bereich von 16,2 ms bis 37,7 ms (MW: $23,9 \pm 2,1$ ms, $n = 11$). Eine Zelle zeigte das Entladungsmuster FA und elf SA. Die Depolarisationen bei Injektion eines Stroms von 900 pA hatten Amplituden zwischen 8,9 mV und 151,6 mV (MW: $55,2 \pm 15,9$ mV, $n = 11$). Die Aktionspotentiale erreichten maximale Amplituden von 16,9 mV bis 534,0 mV (MW: $48,5 \pm 5,7$ mV, $n = 11$). Der ISI lag bei Werten von 10,8 ms bis 26,1 ms (MW: $17,5 \pm 1,8$ ms, $n = 10$). Eine Zelle zeigte das Entladungsmuster FA, zehn SA und eine Zelle zeigte kein Aktionspotential bei der Strominjektion.

3.2.2.2 Auswirkungen von SD auf das Aktionspotential

Es wurden 12 Neurone in der lateralen Amygdala der Maus nach SD untersucht. Die Zellen zeigten RMP zwischen -40,4 mV und -63,1 mV (MW: $-51,4 \pm 2,0$ mV, $P = 0,208$, Tab. 3-6, Abb. 3-8 C). Das Schwellenpotential (Sch_{MP}) lag im Bereich von 1,4 mV bis 7,8 mV (MW: $4,4 \pm 0,5$ mV, $P = 0,919$,

Tab. 3-6). Für die Dauer der Aktionspotentiale bei halber Amplitude (T_{MP}) ergaben sich Werte von 7,2 ms bis 81,7 ms (MW: $35,4 \pm 6,8$ ms, $P = 0,985$, Tab. 3-6). Beim RMP traten nach dem Entladen hyperpolarisierende Nachpotentiale (NP) im Bereich von 0,5 mV bis 6,0 mV (MW: $3,5 \pm 0,6$ mV, $P = 0,632$, Tab. 3-6) auf. Die Aktionspotentiale zeigten eine Frequenz von 68,0/min bis 500,0/min (MW: $255,5 \pm 35,0$ /min, $P = 0,050$, Tab. 3-6, Abb. 3-12 E). Es besteht ein signifikanter Unterschied zwischen den Kontrollversuchen und den SD-Versuchen für die Frequenz.

Darüber hinaus wurden auch hier die Neurone durch negative bzw. positive konstante Strominjektion über die intrazelluläre Mikroelektrode hyperpolarisiert bzw. depolarisiert. Während der Depolarisation der Membran lag das Membranpotential (MP) bei Werten zwischen -23,6 mV und -49,1 mV (MW: $-37,4 \pm 2,2$ mV, $P = 0,881$, Tab. 3-7). Das Schwellenpotential (Sch_{MP}) lag im Bereich von 1,3 mV bis 8,5 mV (MW: $5,1 \pm 0,7$ mV, $P = 0,252$, Tab. 3-7, Abb. 3-9 B). Für die Dauer der Aktionspotentiale bei halber Amplitude (T_{MP}) ergaben sich Werte von 6,7 ms bis 48,4 ms (MW: $24,9 \pm 4,0$ ms, $P = 0,812$, Tab. 3-7). Während der Depolarisation der Membran traten hyperpolarisierende Nachpotentiale auf deren Amplituden zwischen 0,2 mV und 9,9 mV (MW: $5,3 \pm 0,9$ mV, $P = 0,264$, Tab. 3-7, Abb. 3-11 C) lagen. Die Frequenz variierte von 260,0/min bis 1680,0/min (MW: $693,3 \pm 114,4$ /min, $P = 0,009$, Tab. 3-7, Abb. 3-12 D). Es besteht ein signifikanter Unterschied zwischen den Kontrollversuchen und den SD-Versuchen für die Frequenz bei Depolarisation.

Bei der Hyperpolarisation lag das MP zwischen -51,6 mV und -79,1 mV (MW: $-61,4 \pm 2,5$ mV, $P = 0,742$, Tab. 3-8, Abb. 3-8 D). Die ermittelten Zahlen für Sch_{MP} gehen von 2,1 mV bis 9,2 mV (MW: $5,1 \pm 0,5$ mV, $P = 0,707$, Tab. 3-8). Bei hyperpolarisierendem Strom zeigten die Aktionspotentiale bei halber Amplitude eine Dauer von 8,9 ms bis 154,1 ms (MW: $53,7 \pm 12,2$ ms, $P = 0,260$, Tab. 3-8, Abb. 3-10 B). Die Werte für hyperpolarisierende Nachpotentiale erstrecken sich von 0,6 mV bis 6,4 mV (MW: $4,2 \pm 0,7$ mV, $P = 0,464$ Tab. 3-8, Abb. 3-11 D). Die Aktionspotentiale zeigen eine Frequenz von 7,0/min bis 180,0/min (MW: $42,5 \pm 14,1$ /min, $P = 0,341$, Tab. 3-8, Abb. 3-12 F).

In alle Neurone dieser Versuchreihe wurden positive elektrische Ströme von 100 pA, 500 pA und 900 pA injiziert. Die dadurch ausgelösten Verschiebungen des MP in Richtung Depolarisation sowie die maximalen Amplituden der registrierten Aktionspotentiale, der ISI und das Entladungsmuster wurden ermittelt (Tab. 3-9).

Bei Injektion eines Stroms von 100 pA ergaben sich Depolarisationen (A_D) um 4,5 mV bis 60,2 mV (MW: $21,3 \pm 4,9$ mV, $P = 0,166$, $n = 11$) sowie Amplituden (A_{MP}) der Aktionspotentiale von 11,5 mV bis 76,3 mV (MW: $56,8 \pm 5,9$ mV, $P = 0,979$, $n = 11$). Der ISI lag im Bereich von 29,2 ms bis 142,6 ms (MW: $68,4 \pm 11,2$ ms, $P = 0,502$, $n = 10$). Fünf der 12 Zellen zeigten das Entladungsmuster schnell-adaptierend, sechs Zellen waren langsam-adaptierend, eine Zelle zeigte kein Aktionspotential. Bei Injektion eines Stroms von 500 pA resultierten Depolarisationen von 8,1 mV bis 139,0 mV (MW: $49,6 \pm 10,7$ mV, $P = 0,248$, $n = 12$). Die maximalen Amplituden der Aktionspotentiale lagen zwischen 22,6 mV und 76,4 mV (MW: $55,1 \pm 5,8$ mV, $P = 0,748$, $n = 12$). Der ISI lag im Bereich von 19,4 ms bis 44,2 ms (MW: $28,3 \pm 3,3$ ms, $P = 0,362$, $n = 9$). Drei Zellen zeigten das Entladungsmuster FA und neun SA. Die Depolarisationen bei Injektion eines Stroms von 900 pA hatten Amplituden zwischen 18,0 mV und 204,6 mV (MW: $83,9 \pm 17,2$ mV, $P = 0,186$, $n = 12$). Die Aktionspotentiale erreichten maximale Amplituden von 22,5 mV bis 72,0 mV (MW: $50,1 \pm 5,9$ mV, $P = 0,849$, $n = 12$). Der ISI lag bei Werten von 12,7 ms bis 29,0 ms (MW: $19,5 \pm 2,0$ ms, $P = 0,488$, $n = 9$). Drei der Neurone zeigten das Entladungsmuster FA, neun SA.

	R_{MP}(mV)	Sch_{MP}(mV)	T_{MP}(ms)	NP(mV)	Frequenz min⁻¹
1. MW ± SEM	-46,8 ± 3,0	4,5 ± 0,4	35,6 ± 9,3	3,2 ± 0,8	201,7 ± 74,5
2. MW ± SEM	-51,4 ± 2,0	4,4 ± 0,5	35,4 ± 6,8	3,5 ± 0,6	255,5 ± 35,0
P =	0,208	0,919	0,985	0,632	0,050

Tab. 3-6: Mittelwerte (MW) für Ruhemembranpotential (RMP), Schwellenpotential (Sch_{MP}), Dauer des Aktionspotentials bei halber Amplitude (T_{MP}), Nachpotential (NP) und Frequenz in der Amygdala, ± mittlerer Fehler des Mittelwertes (SEM), *P* = Signifikanz in Bezug zur Kontrolle (Mann-Whitney-Rank-Sum-Test). Es besteht ein signifikanter Unterschied zwischen den Kontrollversuchen und den SD-Versuchen für die Frequenz. 1: Kontrollversuche (Lsg.2, Tab. 2-1), 2: SD-Versuche (Lsg.2, Tab. 2-1 und KCl zur Auslösung von SD). Maus, Amygdala-Hippocampus-Cortex-Schnittpräparat.

	R_{MP}(mV)	Sch_{MP}(mV)	T_{MP}(ms)	NP(mV)	Frequenz min⁻¹
1. MW ± SEM	-36,8 ± 3,6	4,1 ± 0,4	26,4 ± 4,6	3,9 ± 0,8	305,2 ± 72,3
2. MW ± SEM	-37,4 ± 2,2	5,1 ± 0,7	24,9 ± 4,0	5,3 ± 0,9	693,3 ± 114,4
P =	0,881	0,252	0,812	0,264	0,009

Tab. 3-7: Mittelwerte (MW) für Ruhemembranpotential (RMP), Schwellenpotential (Sch_{MP}), Dauer des Aktionspotentials bei halber Amplitude (T_{MP}), Nachpotential (NP) und Frequenz bei Depolarisation mit konstanter Strominjektion in der Amygdala, ± mittlerer Fehler des Mittelwertes (SEM), *P* = Signifikanz in Bezug zur Kontrolle (Mann-Whitney-Rank-Sum-Test). Es besteht ein signifikanter Unterschied zwischen den Kontrollversuchen und den SD-Versuchen für die Frequenz. 1: Kontrollversuche (Lsg.2, Tab. 2-1), 2: SD-Versuche (Lsg.2, Tab. 2-1 und KCl zur Auslösung von SD). Maus, Amygdala-Hippocampus-Cortex-Schnittpräparat.

	$R_{MP}(mV)$	$Sch_{MP}(mV)$	$T_{MP}(ms)$	$NP(mV)$	Frequenz min^{-1}
1. MW \pm SEM	-59,5 \pm 5,0	5,0 \pm 0,7	39,0 \pm 12,4	3,6 \pm 0,4	135,3 \pm 97,5
2. MW \pm SEM	-61,4 \pm 2,5	5,1 \pm 0,5	53,7 \pm 12,2	4,2 \pm 0,7	42,5 \pm 14,1
P =	0,742	0,707	0,260	0,464	0,341

Tab. 3-8: Mittelwerte (MW) für Ruhemembranpotential (R_{MP}), Schwellenpotential (Sch_{MP}), Dauer des Aktionspotentials bei halber Amplitude (T_{MP}), Nachpotential (NP) und Frequenz bei Hyperpolarisation mit konstanter Strominjektion in der Amygdala, \pm mittlerer Fehler des Mittelwertes (SEM), P = Signifikanz in Bezug zur Kontrolle (Mann-Whitney-Rank-Sum-Test). Es sind anhand der P - Werte keine signifikanten Unterschiede zwischen den Kontrollversuchen und den SD-Versuchen auszumachen. 1: Kontrollversuche (Lsg.2, Tab. 2-1), 2: SD-Versuche (Lsg.2, Tab. 2-1 und KCl zur Auslösung von SD). Maus, Amygdala-Hippocampus-Cortex-Schnittpräparat.

	100 pA			500 pA			900 pA		
	A_D	A_{MP}	ISI	A_D	A_{MP}	ISI	A_D	A_{MP}	ISI
1.MW \pm SEM	13,0 \pm 2,9	56,6 \pm 4,8	59,0 \pm 8,3	33,4 \pm 8,5	52,6 \pm 5,3	23,9 \pm 2,1	55,2 \pm 15,9	48,5 \pm 5,7	17,5 \pm 1,8
2.MW \pm SEM	21,3 \pm 4,9	56,8 \pm 5,9	68,4 \pm 11,2	49,6 \pm 10,7	55,1 \pm 5,8	28,3 \pm 3,3	83,9 \pm 17,2	50,1 \pm 5,9	19,5 \pm 2,0
P =	0,166	0,979	0,502	0,248	0,748	0,362	0,186	0,849	0,488

Tab. 3-9: Änderung des MP einzelner Neurone bei Injektion positiver elektrischer Rechteckstimpulse über die intrazelluläre Mikroelektrode und Charakterisierung des Entladungsverhaltens in der Amygdala. MW: Mittelwert, SEM: mittlerer Fehler des Mittelwertes, A_D : Amplitude der Depolarisation, A_{MP} : Amplitude des Aktionspotentials, ISI: Interspikeintervall, P = Signifikanz in Bezug zur Kontrolle (Mann-Whitney-Rank-Sum-Test). Es sind anhand der P - Werte keine signifikanten Unterschiede zwischen den Kontrollversuchen und den SD-Versuchen auszumachen. 1: Kontrollversuche (Lsg.2, Tab. 2-1), 2: SD-Versuche (Lsg.2, Tab. 2-1 und KCl zur Auslösung von SD). Maus, Amygdala-Hippocampus-Cortex-Schnittpräparat.

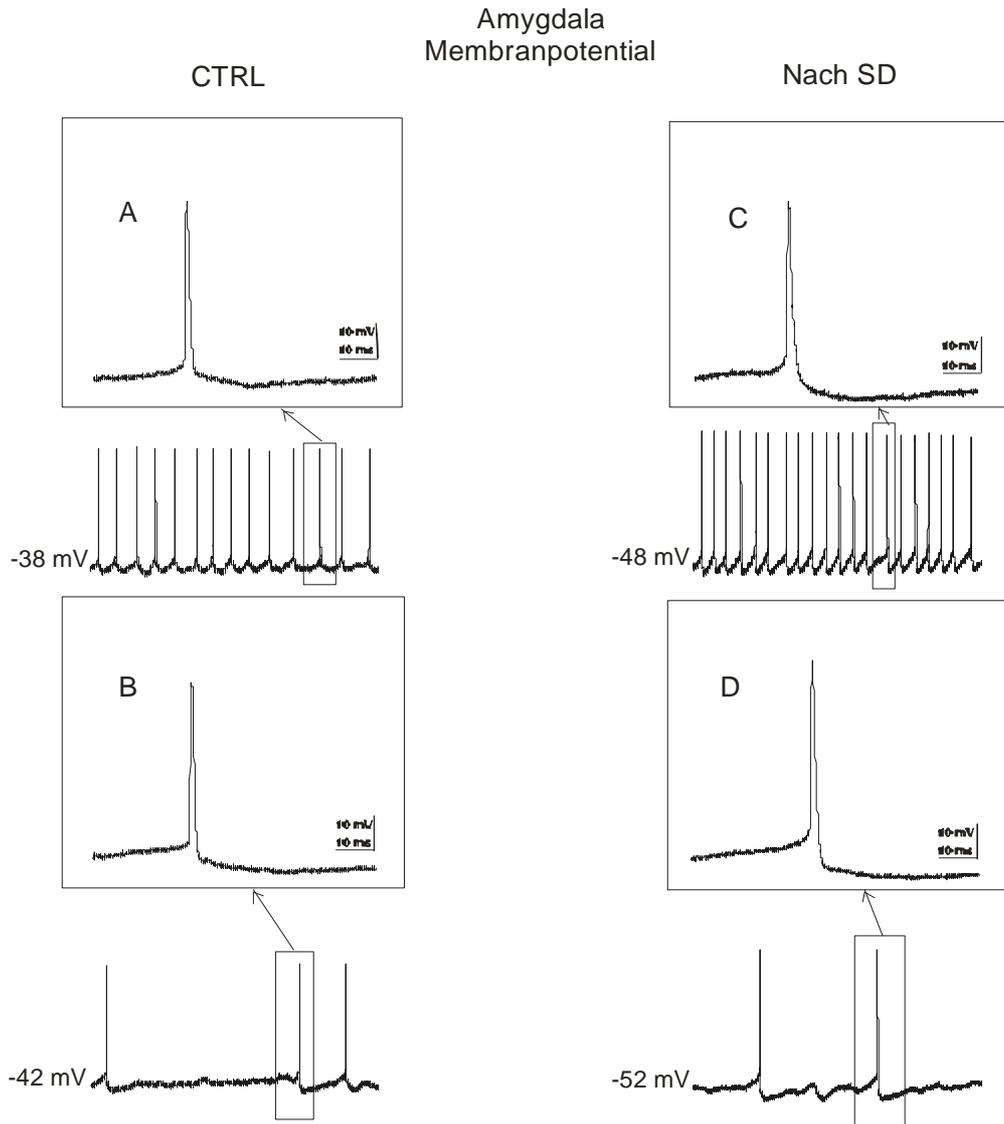


Abb. 3-8: Originalmessung von intrazellulärer Aktivität bei Neuronen in der lateralen Amygdala. Vergleich des Membranpotentials während konstanter Strominjektion über intrazelluläre Mikroelektrode (hyperpolarisierender Strom (B, D)) und spontaner Aktivität (A, C) zwischen Kontrollversuchen (CTRL) und Versuchen nach Auslösen von SD. Maus, Amygdala-Hippocampus-Cortex-Schnittpräparat.

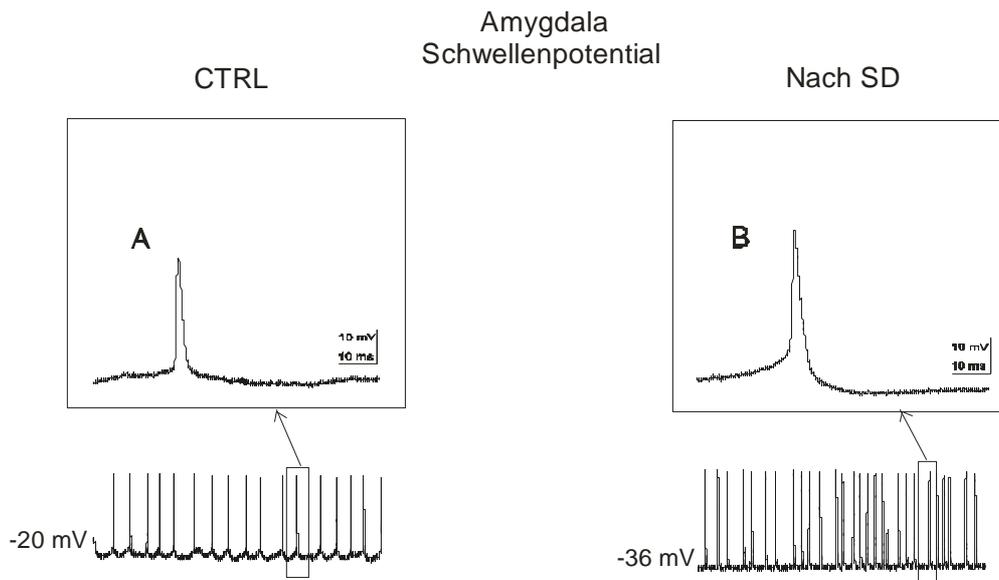


Abb. 3-9: Originalmessung von intrazellulärer Aktivität bei Neuronen in der lateralen Amygdala. Vergleich des Schwellenpotentials während konstanter Strominjektion über intrazelluläre Mikroelektrode (depolarisierender Strom (A, B)) zwischen Kontrollversuchen (CTRL) und Versuchen nach Auslösen von SD. Maus, Amygdala-Hippocampus-Cortex-Schnittpräparat.

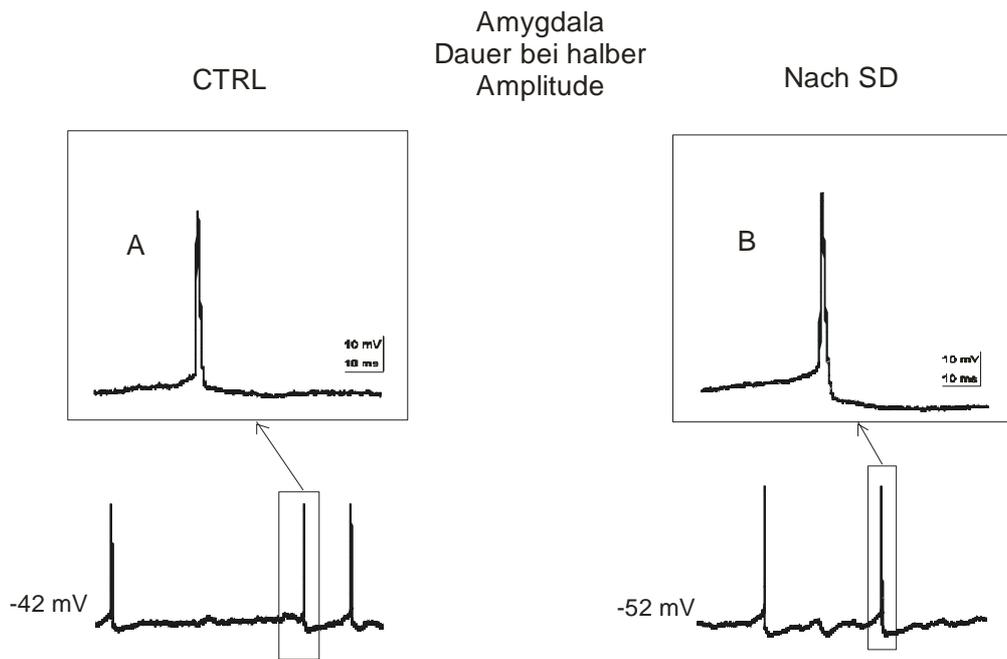


Abb. 3-10: Originalmessung von intrazellulärer Aktivität bei Neuronen in der lateralen Amygdala. Vergleich der Dauer des Aktionspotentials bei halber Amplitude während konstanter Strominjektion über intrazelluläre Mikroelektrode (hyperpolarisierender Strom (A, B)) zwischen Kontrollversuchen (CTRL) und Versuchen nach Auslösen von SD. Maus, Amygdala-Hippocampus-Cortex-Schnittpräparat.

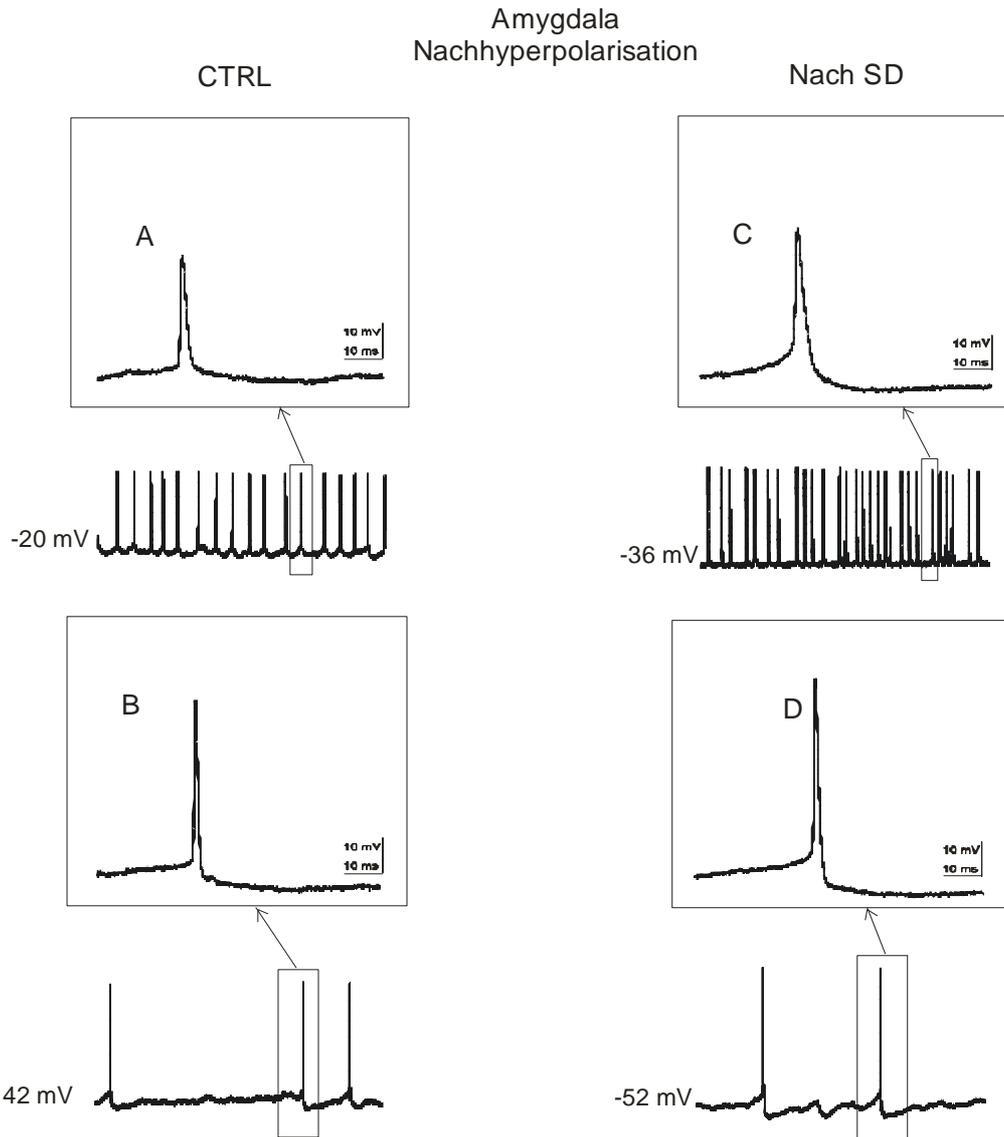


Abb. 3-11: Originalmessung von intrazellulärer Aktivität bei Neuronen in der lateralen Amygdala. Vergleich des Nachpotentials während konstanter Strominjektion über intrazelluläre Mikroelektrode (depolarisierender Strom (A, C), hyperpolarisierender Strom (B, D)) zwischen Kontrollversuchen (CTRL) und Versuchen nach Auslösen von SD. Maus, Amygdala-Hippocampus-Cortex-Schnittpräparat.

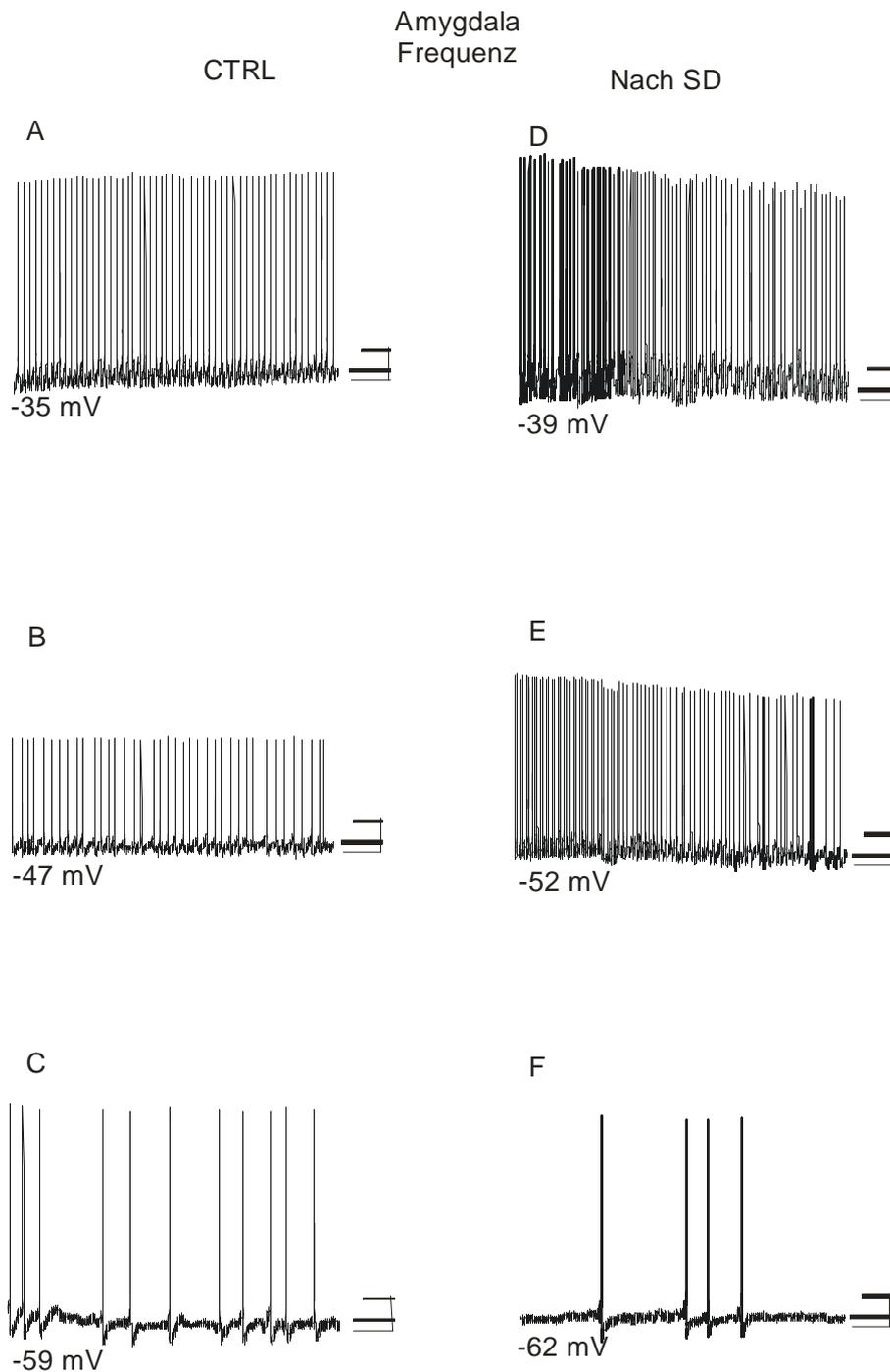


Abb. 3-12: Originalmessung von intrazellulärer Aktivität bei Neuronen in der lateralen Amygdala. Vergleich der Frequenz während konstanter Strominjektion über intrazelluläre Mikroelektrode (depolarisierender Strom (A, D), hyperpolarisierender Strom (C, F)) und spontaner Aktivität (B, E) zwischen Kontrollversuchen (CTRL) und Versuchen nach Auslösen von SD. Maus, Amygdala-Hippocampus-Cortex-Schnittpräparat.

3.2.3 Der Effekt von SD auf die intrazelluläre Aktivität im Neocortex

3.2.3.1 Kontrollversuche

Es wurden 14 Neurone im Neocortex der Maus unter Kontrollbedingungen untersucht. Die Zelle zeigten Ruhemembranpotentiale (RMP) zwischen -32,2 mV und -72,3 mV (MW: $-54,2 \pm 2,8$ mV, Tab. 3-10). Das Schwellenpotential, (Sch_{MP}) als Differenz zum RMP, lag im Bereich von 1,3 mV bis 6,5 mV (MW: $3,7 \pm 0,4$ mV, Tab. 3-10). Für die Dauer der Aktionspotentiale bei halber Amplitude (T_{MP}) ergaben sich Werte von 3,2 ms bis 68,8 ms (MW: $20,8 \pm 5,5$ ms, Tab. 3-10, Abb. 3-14 B). Beim RMP traten nach dem Entladen hyperpolarisierende Nachpotentiale (NP) im Bereich von 1,0 mV bis 6,9 mV (MW: $3,8 \pm 0,5$ mV, Tab. 3-10, Abb. 3-15 B) auf. Die Aktionspotentiale zeigten eine Frequenz (F) von 60,0/min bis 1380,0/min (MW: $440,2 \pm 113,9$ /min, Tab. 3-10, Abb. 3-16 B).

Darüber hinaus wurden die Neurone durch negative bzw. positive konstante Strominjektion über die intrazelluläre Mikroelektrode hyperpolarisiert bzw. depolarisiert. Während der Depolarisation der Membran lag das Membranpotential (MP) bei Werten zwischen -11,7 mV und -54,3 mV (MW: $-32,6 \pm 3,6$ mV, Tab. 3-11). Das Schwellenpotential (Sch_{MP}) lag im Bereich von 1,4 mV bis 6,5 mV (MW: $3,6 \pm 0,5$ mV, Tab. 3-11). Für die Dauer der Aktionspotentiale bei halber Amplitude (T_{MP}) ergaben sich Werte von 2,1 ms bis 54,5 ms (MW: $15,8 \pm 3,9$ ms, Tab. 3-11, Abb. 3-14 A). Während der Depolarisation der Membran traten hyperpolarisierende Nachpotentiale (NP) auf deren Amplituden zwischen 0,4 mV und 8,7 mV (MW: $3,2 \pm 0,7$ mV, Tab. 3-11, Abb. 3-15 A) lagen. Die Frequenz variierte von 90,0/min bis 630,0/min (MW: $299,1 \pm 45,4$ /min, Tab. 3-11, Abb. 3-16 A).

Bei der Hyperpolarisation lag das MP zwischen -46,3 mV und -104,5 mV (MW: $-74,9 \pm 5,6$ mV, Tab. 3-12, Abb. 3-13 A). Die gemessenen Zahlen für Sch_{MP} gehen von 1,6 mV bis 10,2 mV (MW: $4,6 \pm 0,6$ mV, Tab. 3-12). Bei hyperpolarisierendem Strom zeigten die Aktionspotentiale bei halber Amplitude eine Dauer von 1,1 ms bis 149,3 ms (MW: $26,2 \pm 10,4$ ms, Tab. 3-12, Abb. 3-14

C). Die Werte für hyperpolarisierende Nachpotentiale reichen von 0,5 mV bis 6,6 mV (MW: $3,0 \pm 0,4$ mV, Tab. 3-12, Abb. 3-15 C). Die Frequenz erstreckt sich über 4,0 Aktionspotentiale pro min bis 225,0/min (MW: $84,9 \pm 19,6$ /min, Tab. 3-12, Abb. 3-16 C).

In alle Neurone der Kontrollreihe wurden positive elektrische Ströme von 100 pA, 500 pA und 900 pA injiziert. Die dadurch ausgelösten Verschiebungen des MP in Richtung Depolarisation sowie die maximalen Amplituden der registrierten Aktionspotentiale, der ISI und das Entladungsmuster sind in Tab. 3-13 dargestellt. Bei Injektion eines Stroms von 100 pA ergaben sich Depolarisationen (A_D) um 4,7 mV bis 75,6 mV (MW: $34,8 \pm 8,3$ mV, $n = 9$, Abb. 3-17 A) sowie Amplituden (A_{MP}) der Aktionspotentiale von 35,1 mV bis 77,7 mV (MW: $49,6 \pm 4,0$ mV, $n = 8$, Abb. 3-17 A). Der ISI lag im Bereich von 43,6 ms bis 117,0 ms (MW: $67,4 \pm 10,0$ ms, $n = 8$, Abb. 3-17 A). Eine der 14 Zellen zeigte das Entladungsmuster schnell-adaptierende (FA), sieben waren langsam-adaptierend (SA) und sechs zeigten kein Aktionspotential. Bei Injektion eines Stroms von 500 pA resultierten Depolarisationen von 8,3 mV bis 173,2 mV (MW: $74,2 \pm 15,4$ mV, $n = 13$), die maximalen Amplituden der Aktionspotentiale lagen zwischen 11,8 mV und 77,7 mV (MW: $45,5 \pm 4,9$ mV, $n = 13$). Der ISI lag im Bereich von 12,2 ms bis 166,7 ms (MW: $41,9 \pm 14,6$ ms, $n = 11$). Vier Zellen zeigten das Entladungsmuster FA, acht SA und zwei Zellen zeigten kein Aktionspotential. Die Depolarisationen bei Injektion eines Stroms von 900 pA hatten Amplituden zwischen 11,9 mV und 262,1 mV (MW: $85,5 \pm 28,1$ mV, $n = 9$). Die Aktionspotentiale erreichten maximale Amplituden von 13,4 mV bis 74,1 mV (MW: $48,9 \pm 6,2$ mV, $n = 9$). Der ISI lag bei Werten von 8,3 ms bis 17,8 ms (MW: $14,3 \pm 1,5$ ms, $n = 6$). Zwei Zellen zeigten das Entladungsmuster FA, sechs SA und sechs Zellen zeigten kein Aktionspotential bei Strominjektion.

3.2.3.2 Auswirkungen von SD auf das Aktionspotential

Es wurden 14 Neurone im Neocortex der Maus nach SD untersucht. Die Zellen zeigten RMP zwischen -27,6 mV und -76,7 mV (MW: $-51,3 \pm 3,2$ mV, $P = 0,504$,

Tab. 3-10). Das Schwellenpotential (Sch_{MP}) lag im Bereich von 1,9 mV bis 10,3 mV (MW: $4,0 \pm 0,6$ mV, $P = 0,705$, Tab. 3-10). Für die Dauer der Aktionspotentiale bei halber Amplitude (T_{MP}) ergaben sich Werte von 8,2 ms bis 60,6 ms (MW: $25,8 \pm 4,1$ ms, $P = 0,085$, Tab. 3-10, Abb. 3-14 E). Beim RMP traten nach dem Entladen hyperpolarisierende Nachpotentiale (NP) im Bereich von 0,9 mV bis 4,6 mV (MW: $2,5 \pm 0,3$ mV, $P = 0,015$, Tab. 3-10, Abb. 3-15 E) auf. Es besteht ein signifikanter Unterschied zwischen den Kontrollversuchen und den SD-Versuchen für NP. Die Aktionspotentiale zeigten eine Frequenz von 28,4/min bis 1080,0/min (MW: $307,6 \pm 83,9$ /min, $P = 0,323$, Tab. 3-10, Abb. 3-16 E).

Darüber hinaus wurden auch hier die Neurone durch negative bzw. positive konstante Strominjektion über die intrazelluläre Mikroelektrode hyperpolarisiert bzw. depolarisiert. Während der Depolarisation der Membran lag das Membranpotential (MP) bei Werten zwischen -17,8 mV und -45,4 mV (MW: $-33,2 \pm 2,6$ mV, $P = 0,982$, Tab. 3-11). Das Schwellenpotential (Sch_{MP}) lag im Bereich von 1,9 mV bis 6,1 mV (MW: $3,4 \pm 0,3$ mV, $P = 0,836$, Tab. 3-11). Für die Dauer der Aktionspotentiale bei halber Amplitude (T_{MP}) ergaben sich Werte von 10,4 ms bis 27,8 ms (MW: $18,6 \pm 1,5$ ms, $P = 0,510$, Tab. 3-11, Abb. 3-14 D). Während der Depolarisation der Membran traten hyperpolarisierende Nachpotentiale (NP) auf deren Amplituden zwischen 0,4 mV und 7,8 mV (MW: $2,1 \pm 0,5$ mV, $P = 0,204$, Tab. 3-11, Abb. 3-15 D) lagen. Die Frequenz variierte von 220,0/min bis 1080,0/min (MW: $461,2 \pm 63,1$ /min, $P < 0,001$, Tab. 3-11, Abb. 3-16 D). Es besteht ein signifikanter Unterschied zwischen den Kontrollversuchen und den SD-Versuchen für die Frequenz bei Depolarisation. Bei der Hyperpolarisation lag das MP zwischen -44,7 mV und -91,4 mV (MW: $-64,1 \pm 3,4$ mV, $P = 0,175$, Tab. 3-12, Abb. 3-13 B). Die ermittelten Zahlen für Sch_{MP} gehen von 2,2 mV bis 12,0 mV (MW: $5,0 \pm 0,8$ mV, $P = 0,641$, Tab. 3-12). Bei hyperpolarisierendem Strom zeigten die Aktionspotentiale bei halber Amplitude eine Dauer von 18,6 ms bis 57,0 ms (MW: $37,1 \pm 3,3$ ms, $P = 0,008$, Tab. 3-12, Abb. 3-14 F). Es besteht ein signifikanter Unterschied zwischen den Kontrollversuchen und den SD-Versuchen für T_{MP} bei Hyperpolarisation. Die Werte für hyperpolarisierende Nachpotentiale erstrecken sich von 0,7 mV bis

3,8 mV (MW: $2,3 \pm 0,3$ mV, $P = 0,169$, Tab. 3-12, Abb. 3-15 F). Die Aktionspotentiale zeigen eine Frequenz von 4,5/min bis 70,0/min (MW: $22,7 \pm 5,6$ /min, $P = 0,017$, Tab. 3-12, Abb. 3-16 F). Es besteht ein signifikanter Unterschied zwischen den Kontrollversuchen und den SD-Versuchen für die Frequenz bei Hyperpolarisation.

In alle Neurone dieser Versuchreihe wurden positive elektrische Ströme von 100 pA, 500 pA und 900 pA injiziert. Die dadurch ausgelösten Verschiebungen des MP in Richtung Depolarisation sowie die maximalen Amplituden der registrierten Aktionspotentiale, der ISI und das Entladungsmuster wurden ermittelt (Tab. 3-13).

Bei Injektion eines Stroms von 100 pA ergaben sich Depolarisationen (A_D) um 3,7 mV bis 27,2 mV (MW: $12,3 \pm 2,1$ mV, $P = 0,019$, $n = 13$, Abb. 3-17 B) sowie Amplituden (A_{MP}) der Aktionspotentiale von 27,6 mV bis 73,3 mV (MW: $52,7 \pm 4,7$ mV, $P = 0,649$, $n = 12$, Abb. 3-17 B). Es besteht ein signifikanter Unterschied zwischen den Kontrollversuchen und den SD-Versuchen für A_D bei Injektion von 100 pA Strom. Der ISI lag im Bereich von 22,4 ms bis 135,7 ms (MW: $43,4 \pm 9,9$ ms, $P = 0,019$, $n = 11$, Abb. 3-17 B). Es besteht ein signifikanter Unterschied zwischen den Kontrollversuchen und den SD-Versuchen für ISI bei Injektion von 100 pA Strom. Fünf der 14 Zellen zeigten das Entladungsmuster schnell-adaptierend, sieben Zellen waren langsam-adaptierend, zwei Zellen zeigten kein Aktionspotential. Bei Injektion eines Stroms von 500 pA resultierten Depolarisationen von 9,1 mV bis 74,3 mV (MW: $30,9 \pm 6,8$ mV, $P = 0,087$, $n = 12$). Die maximalen Amplituden der Aktionspotentiale lagen zwischen 15,0 mV und 71,0 mV (MW: $45,1 \pm 6,1$ mV, $P = 0,962$, $n = 12$). Der ISI lag im Bereich von 8,1 ms bis 42,7 ms (MW: $20,5 \pm 3,1$ ms, $P = 0,186$, $n = 12$). Elf Zellen zeigten das Entladungsmuster SA, drei Zellen zeigten kein Aktionspotential. Die Depolarisationen bei Injektion eines Stroms von 900 pA hatten Amplituden zwischen 18,4 mV und 102,7 mV (MW: $38,9 \pm 9,6$ mV, $P = 0,665$, $n = 8$). Die Aktionspotentiale erreichten maximale Amplituden von 15,7 mV bis 70,0 mV (MW: $52,1 \pm 6,9$ mV, $P = 0,751$, $n = 7$). Der ISI lag bei Werten von 7,7 ms bis 26,9 ms (MW: $15,8 \pm 2,7$ ms, $P = 0,646$,

$n = 7$). Sechs der Neurone zeigten das Entladungsmuster SA, ein Neuron war gruppiert feuend und sieben Zellen zeigten kein Aktionspotential.

	$R_{MP}(mV)$	$Sch_{MP}(mV)$	$T_{MP}(ms)$	$NP(mV)$	Frequenz min^{-1}
1. MW \pm SEM	$-54,2 \pm 2,8$	$3,7 \pm 0,4$	$20,8 \pm 5,5$	$3,8 \pm 0,5$	$440,2 \pm 113,9$
2. MW \pm SEM	$-51,3 \pm 3,2$	$4,0 \pm 0,6$	$25,8 \pm 4,1$	$2,5 \pm 0,3$	$307,6 \pm 83,9$
P =	0,504	0,705	0,085	0,015	0,323

Tab. 3-10: Mittelwerte (MW) für Ruhemembranpotential (RMP), Schwellenpotential (Sch_{MP}), Dauer des Aktionspotentials bei halber Amplitude (T_{MP}), Nachpotential (NP) und Frequenz im Neocortex, \pm mittlerer Fehler des Mittelwertes (SEM), $P =$ Signifikanz in Bezug zur Kontrolle (Mann-Whitney-Rank-Sum-Test). Es besteht ein signifikanter Unterschied zwischen den Kontrollversuchen und den SD-Versuchen für NP.1: Kontrollversuche (Lsg.2, Tab. 2-1), 2: SD-Versuche (Lsg.2, Tab. 2-1 und KCl zur Auslösung von SD). Maus, Amygdala-Hippocampus-Cortex-Schnittpräparat.

	$R_{MP}(mV)$	$Sch_{MP}(mV)$	$T_{MP}(ms)$	$NP(mV)$	Frequenz min^{-1}
1. MW \pm SEM	$-32,6 \pm 3,6$	$3,6 \pm 0,5$	$15,8 \pm 3,9$	$3,2 \pm 0,7$	$299,1 \pm 45,4$
2. MW \pm SEM	$-33,2 \pm 2,6$	$3,4 \pm 0,3$	$18,6 \pm 1,5$	$2,1 \pm 0,5$	$461,2 \pm 63,1$
P =	0,982	0,836	0,510	0,204	<0,001

Tab. 3-11: Mittelwerte (MW) für Ruhemembranpotential (RMP), Schwellenpotential (Sch_{MP}), Dauer des Aktionspotentials bei halber Amplitude (T_{MP}), Nachpotential (NP) und Frequenz bei Depolarisation mit konstanter Strominjektion im Neocortex, \pm mittlerer Fehler des Mittelwertes (SEM), $P =$ Signifikanz in Bezug zur Kontrolle (Mann-Whitney-Rank-Sum-Test). Es besteht ein signifikanter Unterschied zwischen den Kontrollversuchen und den SD-Versuchen für die Frequenz bei Depolarisation.1: Kontrollversuche (Lsg.2, Tab. 2-1), 2: SD-Versuche (Lsg.2, Tab. 2-1 und KCl zur Auslösung von SD). Maus, Amygdala-Hippocampus-Cortex-Schnittpräparat.

	$R_{MP}(mV)$	$Sch_{MP}(mV)$	$T_{MP}(ms)$	$NP(mV)$	Frequenz min^{-1}
1. MW \pm SEM	$-74,9 \pm 5,6$	$4,6 \pm 0,6$	$26,2 \pm 10,4$	$3,0 \pm 0,4$	$84,9 \pm 19,6$
2. MW \pm SEM	$-64,1 \pm 3,4$	$5,0 \pm 0,8$	$37,1 \pm 3,3$	$2,3 \pm 0,3$	$22,7 \pm 5,6$
P =	0,175	0,641	0,008	0,169	0,017

Tab. 3-12: Mittelwerte (MW) für Ruhemembranpotential (R_{MP}), Schwellenpotential (Sch_{MP}), Dauer des Aktionspotentials bei halber Amplitude (T_{MP}), Nachpotential (NP) und Frequenz bei Hyperpolarisation mit konstanter Strominjektion im Neocortex, \pm mittlerer Fehler des Mittelwertes (SEM), P = Signifikanz in Bezug zur Kontrolle (Mann-Whitney-Rank-Sum-Test). Es besteht ein signifikanter Unterschied zwischen den Kontrollversuchen und den SD-Versuchen für Frequenz und T_{MP} . 1: Kontrollversuche (Lsg.2, Tab. 2-1), 2: SD-Versuche (Lsg.2, Tab. 2-1 und KCl zur Auslösung von SD). Maus, Amygdala-Hippocampus-Cortex-Schnittpräparat.

	100 pA			500 pA			900 pA		
	A_D	A_{MP}	ISI	A_D	A_{MP}	ISI	A_D	A_{MP}	ISI
1.MW \pm SEM	34,8 $\pm 8,3$	49,6 $\pm 4,0$	67,4 $\pm 10,0$	74,2 $\pm 15,4$	45,5 $\pm 4,9$	41,9 $\pm 14,6$	85,5 $\pm 28,1$	48,9 $\pm 6,2$	14,3 $\pm 1,5$
2.MW \pm SEM	12,3 $\pm 2,1$	52,7 $\pm 4,7$	43,4 $\pm 9,9$	30,9 $\pm 6,8$	45,1 $\pm 6,1$	20,5 $\pm 3,1$	38,9 $\pm 9,6$	52,1 $\pm 6,9$	15,8 $\pm 2,7$
P =	0,019	0,649	0,019	0,087	0,962	0,186	0,665	0,751	0,646

Tab. 3-13: Änderung des Membranpotentials einzelner Neurone bei Injektion positiver elektrischer Rechteckstimpulse über die intrazelluläre Mikroelektrode und Charakterisierung des Entladungsverhaltens im Neocortex. MW: Mittelwert, SEM: mittlerer Fehler des Mittelwertes, A_D : Amplitude der Depolarisation, A_{MP} : Amplitude des Aktionspotentials, ISI: Interspikeintervall, P = Signifikanz in Bezug zur Kontrolle (Mann-Whitney-Rank-Sum-Test). Es sind anhand der P - Werte signifikante Unterschiede zwischen den Kontrollversuchen und den SD-Versuchen für A_D und ISI bei Injektion von 100 pA Strom auszumachen. 1: Kontrollversuche (Lsg.2, Tab. 2-1), 2: SD-Versuche (Lsg.2, Tab. 2-1 und KCl zur Auslösung von SD). Maus, Amygdala-Hippocampus-Cortex-Schnittpräparat.

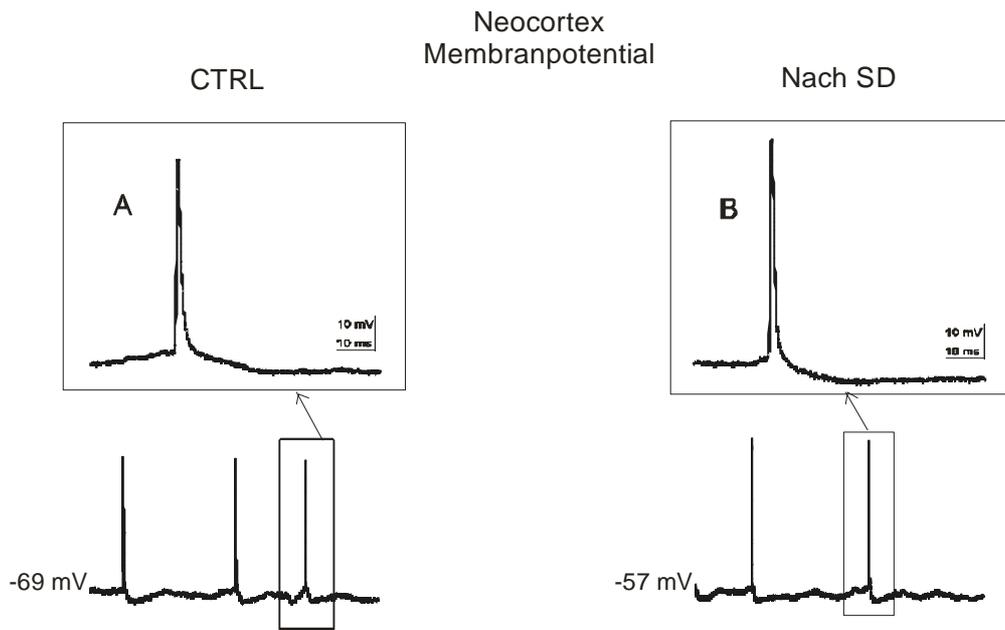


Abb. 3-13: Originalmessung von intrazellulärer Aktivität bei Neuronen im Neocortex. Vergleich des Membranpotentials während konstanter Strominjektion über intrazelluläre Mikroelektrode (hyperpolarisierender Strom (A, B)) zwischen Kontrollversuchen (CTRL) und Versuchen nach Auslösen von SD. Maus, Amygdala-Hippocampus-Cortex-Schnittpräparat.

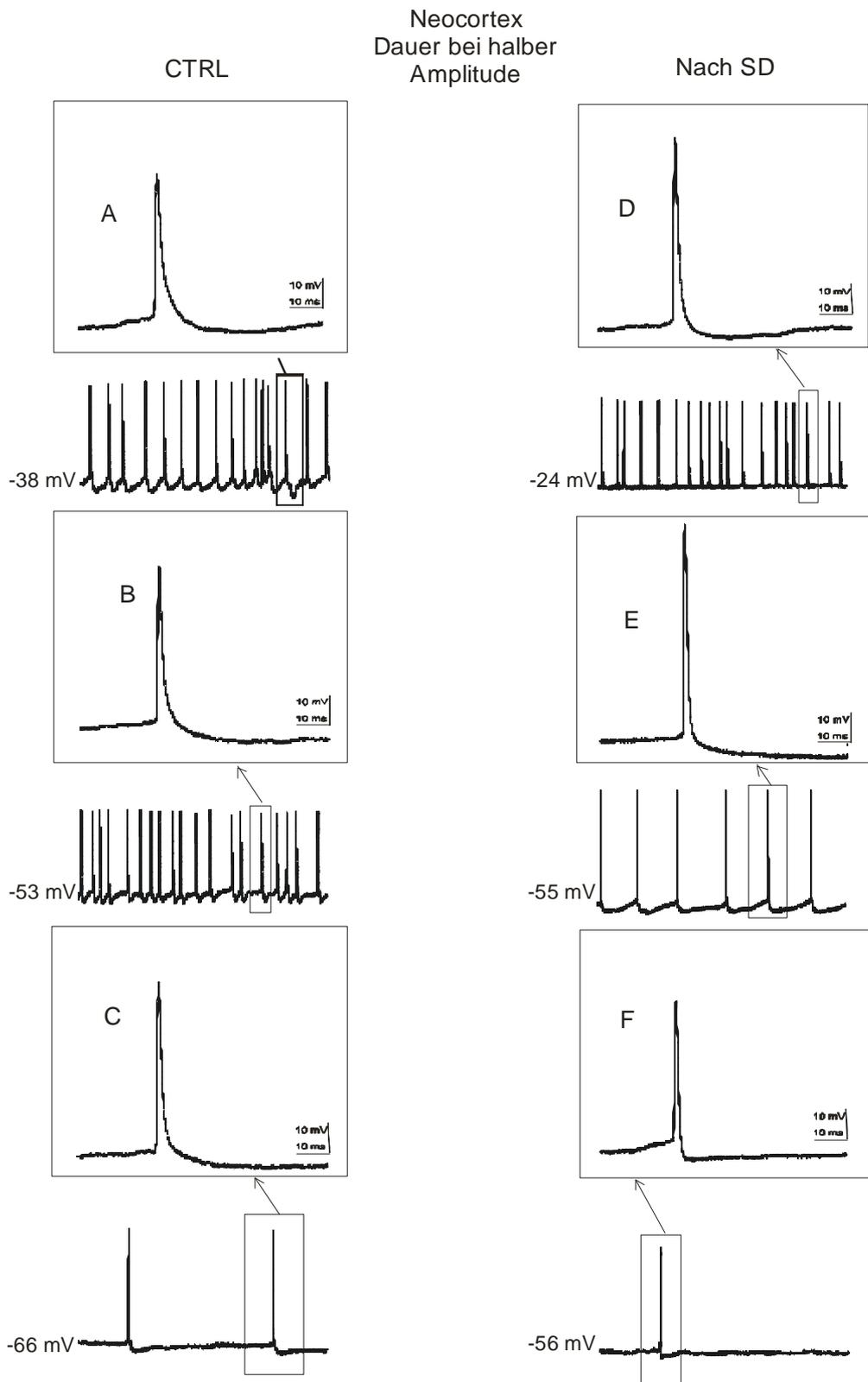


Abb. 3-14: (Legende siehe nächste Seite)

Abb. 3-14: Originalmessung von intrazellulärer Aktivität bei Neuronen im Neocortex. Vergleich der Dauer des Aktionspotentials bei halber Amplitude während konstanter Strominjektion über intrazelluläre Mikroelektrode (depolarisierender Strom (A, D), hyperpolarisierender Strom (C, F)) und spontaner Aktivität (B, E) zwischen Kontrollversuchen (CTRL) und Versuchen nach Auslösen von SD. Maus, Amygdala-Hippocampus-Cortex-Schnittpräparat.

Neocortex
Nachhyperpolarisation

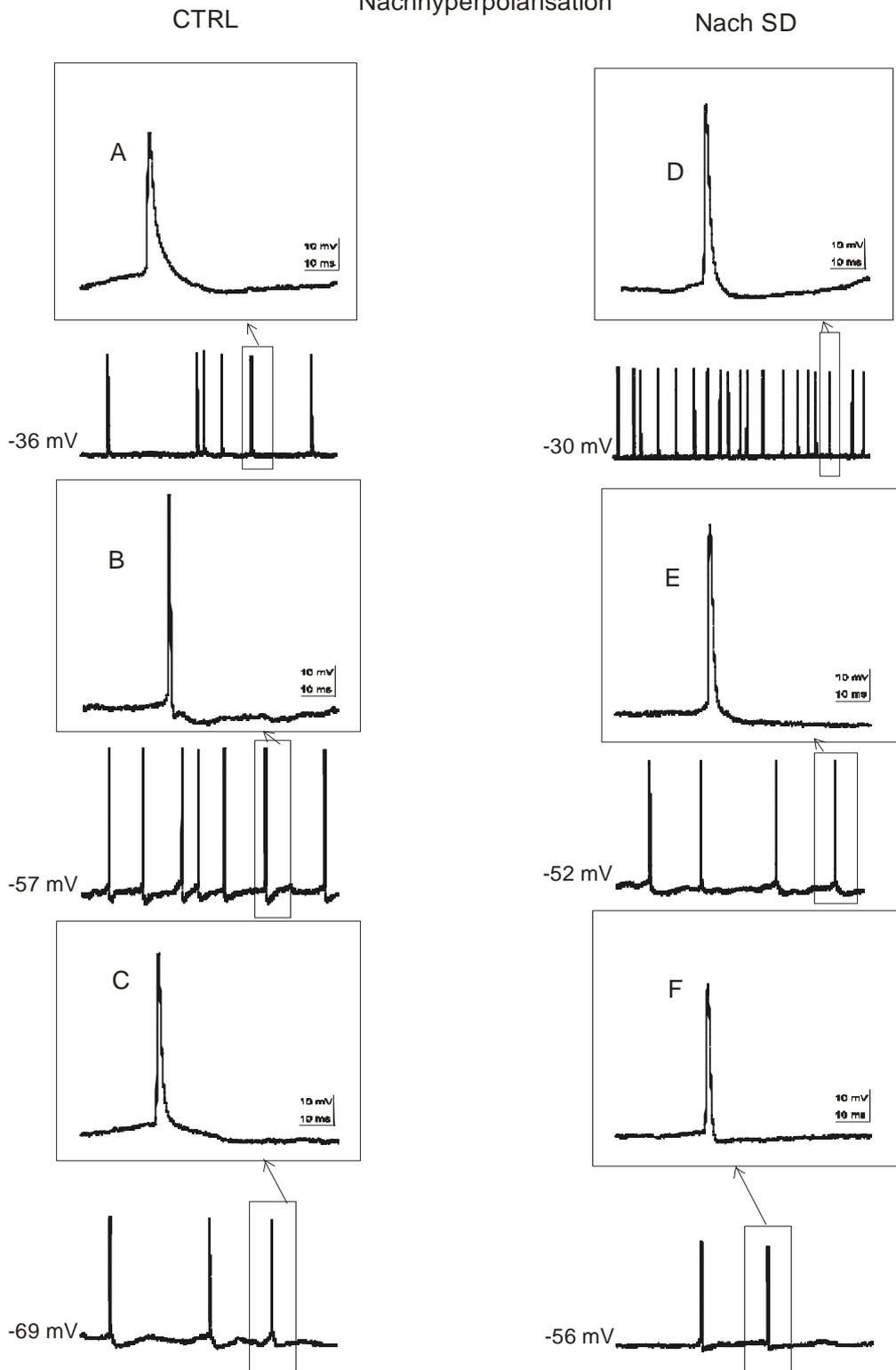


Abb. 3-15: (Legende siehe nächste Seite)

Abb. 3-15: Originalmessung von intrazellulärer Aktivität bei Neuronen im Neocortex. Vergleich des Nachpotentials während konstanter Strominjektion über intrazelluläre Mikroelektrode (depolarisierender Strom (A, D), hyperpolarisierender Strom (C, F)) und spontaner Aktivität (B, E) zwischen Kontrollversuchen (CTRL) und Versuchen nach Auslösen von SD. Maus, Amygdala-Hippocampus-Cortex-Schnittpräparat.

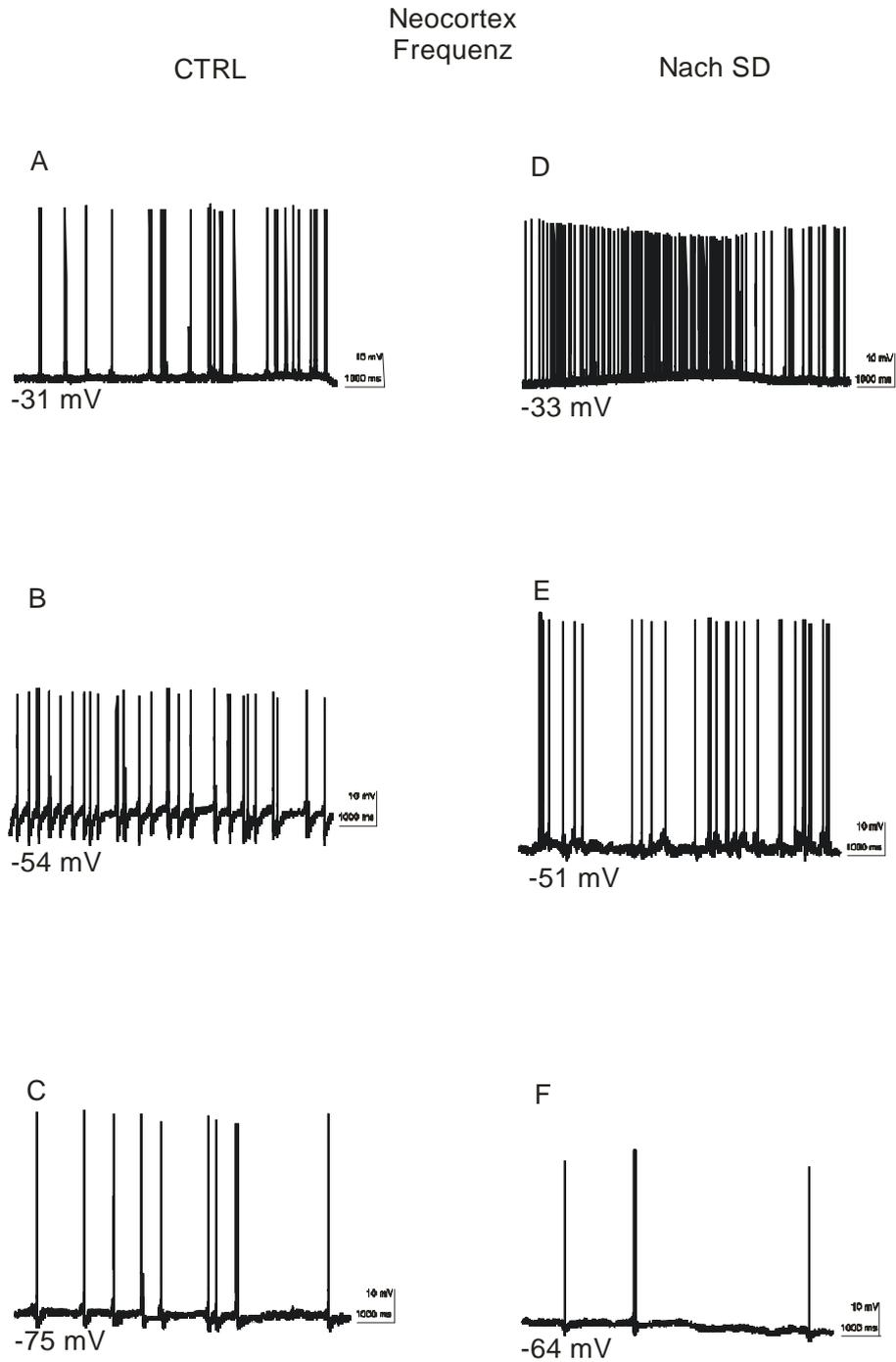


Abb. 3-16: Originalmessung von intrazellulärer Aktivität bei Neuronen im Neocortex. Vergleich der Frequenz während konstanter Strominjektion über intrazelluläre Mikroelektrode (depolarisierender Strom (A, D), hyperpolarisierender Strom (C, F)) und spontaner Aktivität (B, E) zwischen Kontrollversuchen (CTRL) und Versuchen nach Auslösen von SD. Maus, Amygdala-Hippocampus-Cortex-Schnittpräparat.

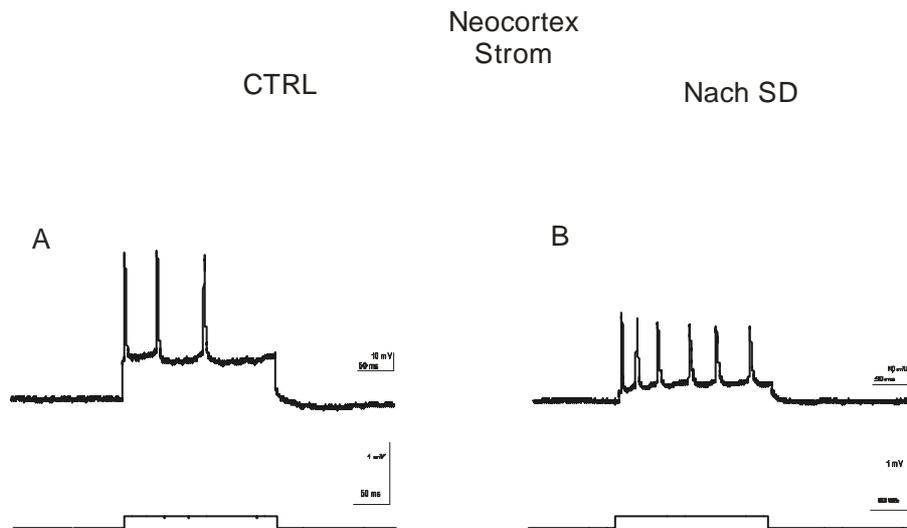


Abb. 3-17: Entladungsverhalten der Neurone im Neocortex in Reaktion auf Depolarisation der Membran durch intrazelluläre Strominjektion von 100 pA Stärke. SD wurde durch Applikation von 3M KCl-Lösung ausgelöst. CTRL: Kontrollversuche (Lsg.2, Tab. 2-1). Maus, Amygdala-Hippocampus-Cortex-Schnittpräparat.

4. Diskussion

Spreading depressions (SD) werden als potentielle pathogenetische Faktoren verschiedener neurologischer Erkrankungen angesehen (Obrenovitch *et al.*, 1997; Gorji, 2001; Wernsmann *et al.*, 2006; Hauser *et al.*, 1975; Berger *et al.*, 2008). Unter diesem Gesichtspunkt befasste sich die vorliegende Studie hauptsächlich mit solchen SD-Effekten, die möglicherweise für das Verständnis dieser Erkrankungen von Bedeutung sein könnten. Damit lag der Schwerpunkt auf den bioelektrischen Konsequenzen nach SD im Hippocampus, in der lateralen Amygdala und im Neocortex.

	T_{MP}	T_{MP-D}	T_{MP-H}	F	F-D	F-H	NP
1. $P =$	0,002	0,005	-	-	-	-	-
2. $P =$	-	-	-	0,050	0,009	-	-
3. $P =$	-	-	0,008	-	<0,001	0,017	0,015

Tab. 4-1: Zusammenfassung der statistisch signifikanten Werte. Dauer des Aktionspotentials bei halber Amplitude bei spontaner Aktivität (T_{MP}), Depolarisation (T_{MP-D}) und Hyperpolarisation (T_{MP-H}), Nachpotential (NP) und Frequenz (F) bei spontaner Aktivität, Depolarisation (F-D) und Hyperpolarisation (F-H) mit konstanter Strominjektion. 1.: Hippocampus, 2: LA, 3. Neocortex, $P =$ Signifikanz in Bezug zur Kontrolle (Mann-Whitney-Rank-Sum-Test).

	100 pA		500 pA	900 pA
	A_D	ISI	A_D	A_D
1. $P =$	0,004	-	0,001	0,002
2. $P =$	0,019	0,019	-	-

Tab. 4-2: Zusammenfassung der statistisch signifikanten Werte bei Injektion positiver elektrischer Rechteckstimpulse (100, 500, 900 pA) über die intrazelluläre Mikroelektrode. A_D : Amplitude der Depolarisation, ISI: Interspikeintervall. 1.: Hippocampus, 2. Neocortex, $P =$ Signifikanz in Bezug zur Kontrolle (Mann-Whitney-Rank-Sum-Test).

4.1 Hippocampus

Es konnte gezeigt werden, dass durch die Auslösung einer kortikalen Depolarisationwelle die Dauer für ein Aktionspotential bei halber Amplitude im Hippocampus bei spontaner Aktivität und bei Injektion eines konstanten depolarisierenden Stroms signifikant verlängert wurde.

Im Hippocampus nahmen auch die Amplituden der Depolarisation (A_D) bei Injektion positiver elektrischer Rechteckstimpulse von 100 pA, 500 pA und 900 pA über die intrazelluläre Mikroelektrode signifikant zu (Tab. 4-1, 4-2).

Die vorangegangenen Ergebnisse führen zur Frage, über welche Wege und Mechanismen kortikale SD die Aktivität vom Hippocampus beeinflusst.

In vielen unterschiedlichen Studien wurde schon die Wirkung von SD auf die synaptische Aktivität durch LTP untersucht.

Die wichtigste afferente Verbindung zwischen Cortex und Gyrus dentatus ist der vom entorhinalen Cortex ausgehende Tractus perforans. Anzunehmen ist, dass dieser durch die massive Depolarisation des ipsilateralen Cortex während einer SD aktiviert wird. Wernsmann *et al.* wiesen elektrophysiologisch nach, dass kortikale SD zu einer gesteigerten hippocampalen Aktivität führen.

Die Induktion von SD in kombinierten Hippocampus-Cortex-Schnitten von Ratten, bei denen die DC-negativen Ausschläge vom Neocortex nicht zum Hippocampus weitergeleitet wurden, erhöhte sich die fEPSP-Amplitude nach LTP im Hippocampus. Die Ausbreitung der SD über Neocortex und Hippocampus führte allerdings zu einer vorübergehenden Unterdrückung, gefolgt von einer Wiederherstellung der Amplitude der fEPSP auf den Ausgangswert zurück.

Denkbar wäre, dass die gesteigerte synaptische Aktivität direkt auf die intrazellulären Charakteristika im Hippocampus einwirkt.

Der entorhinale Cortex, ein palaeocorticaler Bereich, enthält Projektionen aus sekundären und höheren assoziativen Bereichen des Neocortex. Auch Afferenzen des ipsilateralen Frontal- und Temporallappens wurden gefunden, wo zugleich primäre sensorische Modalitäten für das visuelle und auditive

System projizieren (Pandya *et al.*, 1969). Beide Regionen projizieren wiederum in den Gyrus Cingulum der medialen Oberfläche der Hemisphäre welcher große Anteil von Afferenzen des Presubiculum und des EC trägt (Jones *et al.*, 1970). Der EC ist eine endgültige kortikale Verbindung zwischen dem sensorischen System des Neocortex und des limbischen Systems des Hippocampus. Über den entorhinalen Input erhält der Hippocampus außerdem noch komplexe und differenzierte Signale und Informationen über die Eigenschaften der verwendeten Reize. Die entorhinalen Neurone bilden den direkten Tractus perforans zum Hippocampus und enden am dendritischen Zweigen der CA1-CA3 Region und Neuronen der Fascia dentata (Van Hoesen *et al.*, 1972). Nach den oben erwähnten Studien können somit vorübergehende kortikale sensorische Funktionsstörungen, durch abortive SD, die Aktivität des Hippocampus verstärken. Diese Erläuterung liegt den inhibitorischen Einfluss des Neocortex auf die Plastizität des Hippocampus nahe. Die Schlussfolgerung daraus ist, dass eine Beseitigung des kortikalen Inputs zu erhöhten Reaktivität und vollständigem Wegfall der Gewöhnung mit Verlängerung der tonischen Reflexe führt (Vinogradova, 2001). Experimentelle Läsionen der EC bei Ratten haben auch zu vermehrten spontanen Aktivitäten im Bewegungsapparat geführt – ein Effekt der möglicherweise durch postsynaptische Überempfindlichkeit vermittelt wird (Sumiyoshi *et al.*, 2004).

Diese Ergebnisse unterstützen unsere Beobachtungen, dass SD über die Änderung der synaptischen Aktivität auch die zellulären Charakteristika beeinflusst.

In diesem Zusammenhang ist es daher interessant zu diskutieren welche Funktion diese erhöhte Reaktionsfähigkeit im Hippocampus nach SD bei Krankheiten wie Epilepsie und Migräne spielt (Leniger *et al.*, 2003).

Seit langem gibt es schon Anzeichen für eine Beteiligung des Hippocampus am räumlichen Gedächtnis, Navigation, Lernen und Emotionen (Jensen *et al.*, 2005). Der Hippocampus ist auch für die Kontrolle der Fortbewegung und Veränderung in der Haltung zuständig. Symptome wie Amnesie, emotionale Störungen, Hyperaktivität, Gähnen und Flüssigkeitsansammlung sind nicht nur bei Funktionsstörungen des Hippocampus beobachtet worden sondern auch

während Migräneattacken (Bures *et al.*, 1974; Isaacson *et al.*, 1975; Dalessio, 1980; Daquin *et al.*, 2001). Ähnliche Symptome wurden auch bei SD in Tierversuchen beobachtet (Gorji, 2001). Zugleich werden SD-Veränderungen wieder mit der visuellen Aura bei Patienten mit Migräne in Zusammenhang gebracht (Hadjikhani *et al.*, 2001). Die Ausbreitung von Depolarisationswellen im sensorischen System des Neocortex können sich unmittelbar auf primäre sensorische Modalitäten auswirken und Aura-Symptome induzieren, wie etwa optische Haluzinationen. Somit kann nahegelegt werden, dass zelluläre und synaptische SD-Veränderungen entweder indirekt über EC oder direkt durch die Vermehrung im Hippocampus, die Funktion des Hippocampus stören und dadurch Symptome wie Amnesie oder Hyperaktivität bei Migräneattacken erklären.

4.2 Amygdala

Bei den Versuchen an der lateralen Amygdala konnte eine signifikante Zunahme der Frequenz bei spontaner Aktivität, sowie bei konstanter Depolarisation, beobachtet werden (Tab. 4-1, 4-2).

Auch bei der lateralen Amygdala stellt sich die Frage, über welche Wege SD die intrazelluläre Aktivität beeinträchtigt.

Bei einer *in vitro* Untersuchung mit kombinierten Amygdala-Hippocampus-Cortex-Schnitten von Ratten stellte sich heraus, dass mehr als 75% der im Cortex induzierten SD sich bis zur lateralen Amygdala ausbreiten. Die Daten ergaben außerdem, dass SD zu Verstärkung der synaptischen Aktivität nach LTP führt (Dehbandi *et al.*, 2008).

Auf der Grundlage der Erkenntnisse, dass SD in der lateralen Amygdala LTP verstärkt lässt sich wohlmöglich auch auf die intrazelluläre Aktivität beziehen. Parallel zu der erhöhten Antwort auf LTP nach SD erhöhten sich auch die intrazellulären Charakteristika, wie die Frequenz. Die Daten weisen auf eine

Beteiligung von NMDA und AMPA-Glutamat-Subrezeptoren sowie Dopamin-D2-Rezeptoren an der Veränderung der Antwort von LTP.

Die anatomischen Verbindungen der Amygdala zeigen, dass sie eine wichtige Position in der Verarbeitung von Informationen zwischen Cortex und dem motorischen, autonomen, endokrinen und limbischen System bezieht.

Auch Sinnesmodalitäten mit dem meisten Anteil an Verarbeitung sensorischer Inputs, wie das visuelle, auditive und gustatorische, haben wichtige Projektionen zu der lateralen Amygdala (Turner *et al.*, 1980).

Die Analyse synaptischer Ströme hat gezeigt, dass sowohl AMPA als auch NMDA Rezeptoren an einzelne Synapsen der Pyramidenzellen vorhanden sind (Smith *et al.*, 1996). Eine Aktivierung von kortikalen Neuronen ruft glutamaterge Inputs zur Pyramidenzellen der lateralen Amygdala hervor und aktiviert non-NMDA und NMDA Rezeptoren (Romanski *et al.*, 1993; Mahanty *et al.*, 1999).

Die Stimulation der Amygdala aufgrund der Vermehrung von SD kann somit eine Rolle bei vielen neurologischen Symptomen, wie der Migräneaura spielen.

Stimulation der Amygdala kann außerdem Pupillenerweiterungen, Unruhe und Reizbarkeit, Erektion (Kaada, 1972) auslösen, während eine Hemmung, die meist bei operativer Entfernung eine Rolle spielt, zu Hypersexualität, verringerter Aufmerksamkeit und Heißhunger führt (King *et al.*, 1992). Die meisten dieser Symptome wurden bei Migräneattacken, vor allem während der postdromalen Phase beschrieben.

In Tierversuchen hat sich gezeigt das Amygdala-Dysfunktionen, aufgrund von SD, Essen und Trinken bei Ratten auslöste (Shibata, 1982). Ebenso führte SD zu einer Verbesserung der neuronalen Aktivität im lateralen Hypothalamus (Bures *et al.*, 1961). Über die Amygdala übt auch der ventromediale Kern des Hypothalamus einen inhibitorischen Effekt auf den lateralen Hypothalamus (Oomura *et al.*, 1970; Van Atta *et al.*, 1971). Diese modulatorischen Auswirkungen der SD auf die Amygdala und Hypothalamus könne durch die Flüssigkeitsansammlung während SD erklärt werden. Deutliche Änderungen des Flüssigkeitsvertriebs wurden auch während Migräneattacken beobachtet, was auf den Anstieg von antidiuretischen Hormonen zurückzuführen ist, wie es

auch bei Migränepatienten und in Tierexperimenten mit SD beobachtet wurde (Gorji, 2001).

LTP kann die Übermittlung kortikaler Informationen an die LA über Synapsen darstellen. Die grundlegenden Eigenschaften von LTP machen es zu einem attraktiven zellulärem Modell für Angst, Lernen und Gedächtnis sowie viele andere Formen der erfahrungsabhängiger Plastizität des Nervensystems (Sigurdsson *et al.*, 2007). Diese psychiatrische Komorbiditäten, v. a. Angst und Depressionen, sind auch bei Migräneattacken beschrieben worden. Auch wurde vor kurzem berichtet, dass Vermeidung von Phobien im Zusammenhang mit der Angst vor Migräneattacken als interne aversive Stimuli gesehen werden (Peres *et al.*, 2007).

4.3 Neocortex

Die Auswertung der Aktionspotentiale im Neocortex nach der KCl-Injektion zeigte eine signifikante Veränderung der Dauer des Aktionspotentials bei halber Amplitude und der Frequenz während einer Hyperpolarisation der Membran. Bei Depolarisation der Membran zeigte sich ein signifikanter Unterschied für die Frequenz und während spontaner Aktivität eine signifikante Verkleinerung der Amplitude für NP.

Im Neocortex nahm außerdem die Amplitude der Depolarisation (A_D) bei Injektion positiver elektrischer Rechteckstimpulse von 100 pA über die intrazelluläre Mikroelektrode signifikant ab, wobei der ISI auch signifikant kleiner geworden ist (Tab. 4-1, 4-2).

Die vorliegende Arbeit zeigt wie unterschiedlich SD die intrazelluläre Aktivität von Neuronen im Neocortex beeinträchtigen kann.

Berger *et al.*, (2008) fand bei *in vitro* Untersuchungen an menschlichen Neocortex, dass SD zunächst zu einer Unterdrückung der fEPSPs, gefolgt von einer irreversiblen Erhöhung der Amplitude der fEPSPs, führt und so auch die Wirksamkeit der synaptischen Übertragung steigert. Außerdem ist in der Studie

eine Steigerung von LTP nach SD-Induktion in diesem Bereich beschrieben worden. Es zeigte sich, dass SD eine vorübergehend Unterdrückung der synaptischen Übertragung hervorruft, gefolgt von einer Steigerung der Wirksamkeit von synaptischen Übertragung in dem betroffenen neocorticalen Gewebe. Die Verringerung der fEPSP Amplituden nach SD lässt sich durch eine Störung in der ionischen Homöostase des beteiligten Gewebes erklären. Die Depolarisation Verändert die Kinetik der Spannungsabhängigen Kanäle z. B. durch eine Inaktivierung der Natrium-Kanäle und Unterdrückung der Amplituden der evozierten Potentiale. Die Vermehrung der SD im neuronalem Gewebe erklärt sich durch die Freisetzung und Diffusion von chemischen Mediatoren, wie z. B. exzitatorische Aminosäuren, CGRP, Serotonin und brain-derived neurotrophic factor (Gorji, 2001). Die Erregende Wirkung von SD auf die neuronale Aktivität erklärt sich über die erregende Wirkung dieser Mediatoren. Da SD eine verlängerte Depolarisation, eine Aktivierung von NMDA-Rezeptoren und eine Erhöhung der intrazellulären Ca^{2+} - und extrazellulären K^+ bewirkt, scheint die Verbesserung des LTP nicht überraschend (Somjen, 2001). Diese transienten Depolarisationen der neuronalen Aktivität wurden auch tierexperimentell im Neocortex (Footitt *et al.*, 1998) und Rückenmark (Gorji *et al.*, 2004) bei Ratten untersucht. Ein ähnliches Muster d. h. eine primäre Hemmwirkung (während der Migräne) und eine späte exzitatorische Wirkung (1-2 h nach der Migräne) zeigt sich auch bei den visuell evozierten Potentialen bei Migränepatienten mit Aura (Shibata *et al.*, 1997). Die Ergebnisse meiner Arbeit stimmen auch mit den oben erwähnten Beobachtungen und den Symptomen bei Migränepatienten mit Aura überein. Die Zeit nach SD, bis zu Erreichen der intrazellulären Lage der MP-Elektrode, betrug bei meinen Versuchen von 37 min bis 123 min (MW: $70,6 \pm 6,6$ min) was genau der exzitatorischem Phase der Reaktion des neuronalen Gewebes nach SD entspricht und dadurch auch die Erhöhte intrazelluläre Aktivität zu erklären ist.

Darüber hinaus wurde in elektrophysiologische Studien herausgefunden, dass Migränepatienten eine erhöhte kortikale Erregbarkeit auch in den Kopfschmerzfreien Intervallen haben (McKendrick *et al.*, 2004).

Repetitive SDs sind auch Ursache für die Reduktion der selektiven kortikalen Hemmung durch Unterdrückung der GABA-Funktion (Kruger *et al.*, 1996).

Migräneattacken werden charakterisiert durch Überempfindlichkeit auf visuelle, auditive und olfaktorische Reize (Kelman, 2004). Eine Änderung der Reaktionsfähigkeit des sensorischen Systems bei Migränepatienten beruht wahrscheinlich darauf, dass es zu einer Dysmodulation der sensorischen Inputs kommt und so zu Erleichterung der sensorischen Verarbeitung.

Eine Verbesserung der Effizienz der synaptischen Aktivität und die erregende Wirkung auf die intrazellulären Charakteristika im Neocortex durch SD ausgelöst, steuern sehr wahrscheinlich einen großen Beitrag zur Erklärung der Hyperexcitabilität des neokortikalen Gewebes bei Migränepatienten.

Die vorliegende Studie ist eine umfangreiche Untersuchung der Wirkung von SD auf die Aktivität von intrazellulären Aktionspotentialen. Sie bietet eine Übersicht der Veränderungen im Hippocampus, in der Amygdala und im Neocortex. So wurde bewiesen, dass SD die intrazellulären Charakteristika im Neocortex direkt beeinflusst und indirekt über synaptische Weiterleitung die Aktivität im Hippocampus und in der LA verstärkt. Somit kann gesagt werden, dass SD eine sehr wahrscheinliche Erklärung der verschiedenen neurologischen Erkrankungen und Verhaltensstörungen ist.

5. Literaturverzeichnis

1. Albert D.J. (1966)
The effects of polarizing current on the consolidation of learning.
Neuropsychologia 4: 49–64.
2. Andermann F., Lugaresi E., Dvorkin G.S., Montagna P. (1986)
Malignant migraine: the syndrome of prolonged classical migraine, epilepsy partialis continua, and repeated strokes; a clinically characteristic disorder probably due to mitochondrial encephalopathy.
Funct Neurol 1: 481–486.
3. Aurora S.K., Welch K.M.A. (1998)
Brain excitability in migraine: evidence from transcranial magnetic stimulation studies.
Curr Opin Neurol 11: 205-209.
4. Avoli M., Drapeau C., Louvel J., Pumain R., Olivier A., Villemure J.G. (1991)
Epileptiform activity induced by low extracellular magnesium in the human cortex maintained in vitro.
Ann Neurol 30: 589-96.
5. Avoli M., Louvel J., Drapeau C., Pumain R., Kurcewicz I. (1995)
GABA_A-mediated inhibition and in vitro epileptogenesis in the human neocortex.
J Neurophysiol 73: 468–484.
6. Avis H.H., Carlton P.L. (1968)
Retrograde amnesia produced by hippocampal spreading depression.
Science 161: 73–75.

7. Ayata C., Shimizu-Sasamata M., Lo E.H., Noebels J.L., Moskowitz M.A. (2000)
Impaired neurotransmitter release and elevated threshold for cortical spreading depression in mice with mutations in the alpha1A subunit of P/Q type calcium channels.
Neuroscience 95: 639–645.
8. Ayata C., Jin H., Kudo C. *et al.* (2006)
Suppression of cortical spreading depression in migraine prophylaxis.
Ann Neurol 59: 652–661.
9. Back T., Kohno K., Hossmann K.A. (1994)
Cortical negative DC deflections following middle cerebral artery occlusion and KCl-induced spreading depression: effect on blood flow, tissue oxygenation, and electroencephalogram.
J Cereb Blood Flow Metab 14: 12-9.
10. Balestrino M., Young J., Aitken P. (1999)
Block of (Na⁺,K⁺) ATPase with ouabain induces spreading depression-like depolarization in hippocampal slices.
Brain Res 838: 37–44.
11. Berger M., Speckmann E.J., Pape H.C., Gorji A. (2008)
Spreading depression enhances human neocortical excitability in vitro.
Cephalalgia 28: 558–562.
12. Bolay H., Reuter U., Dunn A.K. *et al.* (2002)
Intrinsic brain activity triggers trigeminal meningeal afferents in a migraine model.
Nat Med 8: 136-142.

13. Bowyer S.M., Aurora K.S., Moran J.E., Tepley N., Welch K.M. (2001)
Magnetoencephalographic fields from patients with spontaneous and induced migraine aura.
Ann Neurol 50: 582-7.
14. Branston N.M., Strong A.J., Symon L. (1977)
Extracellular potassium activity, evoked potentials, and tissue blood flow.
J Neurol Sci 32: 305–321.
15. Bures J., Buresova O., Fifkova E. (1961)
The effect of cortical and hippocampal spreading depression on activity of bulbopontine reticular units in the rat.
Arch Ital Biol 99: 23–32.
16. Buresova O., Fifkova E., Ross R.B. (1965)
The effect of thalamic spreading depression on acquisition and consolidation of the passive avoidance reaction in rats.
Activatas Nervosa Superior 7: 162–163.
17. Bures J., Buresova O., Krivanek J. (1974)
The Mechanisms and Applications of Leao's Spreading Depression of Electroencephalographic Activity.
Academic Press New York.
18. Bures J. (1959)
Reversible decortication and behavior.
In: M.A. Brazier, The Central Nervous System and Behavior: 207–248.
19. Bures J., Buresova O. (1963)
Cortical Spreading depression as a memory disturbing factor.
J Comp Physiol Psychol 56: 268–272.

20. Busch E., Beaulieu C., de Crespigny A., Moseley M.E. (1998)
Diffusion MR imaging during acute subarachnoid hemorrhage in rats.
Stroke 29: 2155-61.
21. Cantor F.K. (1971)
Transient global amnesia and temporal lobe seizures.
Neurology 21: 430–431.
22. Caplan L.R. (1990)
Transient global amnesia: Characteristic features and overview.
In: H.J. Markowitsch, Editor, Transient Global Amnesia and Related Disorders, Hogrefe & Huber: 15–27.
23. Cutrer F.M., Sorensen A.G., Weisskoff R.M., Ostergaard L., Sanchez del Rio M., Lee E.J., Rosen B.R., Moskowitz M.A. (1998)
Perfusion-weighted imaging defects during spontaneous migrainous aura.
Ann Neurol 43: 25-31.
24. Dalessio D.J. (1980)
Wolff's Headache and Other Head Pain.
Oxford University Press, New York
25. Daquin G., Micalle J., Blin O. (2001)
Yawning.
Sleep Med Rev 5: 299–312.
26. Dehbandi S., Speckmann E.J., Pape H.C., Gorji A. (2008)
Cortical spreading depression modulates synaptic transmission of the rat lateral amygdala.
Eur J Neurosc. 27: 2057-2065.

27. Dietrich W.D., Feng Z.C., Leistra H., Watson B.D., Rosenthal M. (1994)
Photothrombotic infarction triggers multiple episodes of cortical spreading depression in distant brain regions.
J Cereb Blood Flow Metab 14: 20-8.
28. Dreier J.P., Korner K., Ebert N., Gorner A., Rubin I., Back T., Lindauer U., Wolf T., Villringer A., Einhaupl K.M., Lauritzen M., Dirnagl U. (1998)
Nitric oxide scavenging by hemoglobin or nitric oxide synthase inhibition by N-nitro-Larginine induces cortical spreading ischemia when K⁺ is increased in the subarachnoid space.
J Cereb Blood Flow Metab 18: 978-90.
29. Dreier J.P., Sakowitz O.W., Unterberg A.W., Benndorf G., Einhaupl K.M., Valdueza J.M. (2001)
Migrainous aura starting several minutes after the onset of subarachnoid hemorrhage.
Neurology 57: 1344-5.
30. Dreier J.P., Woitzik J., Fabricius M., Bhatia R., Major S., Drenckhahn C., Lehmann T.-N., Sarrafzadeh A., Willumsen L., Hartings J.A., Sakowitz O.W., Seemann J.H., Thieme A., Lauritzen M., Strong A.J. (2006)
Delayed ischaemic neurological deficits after subarachnoid haemorrhage are associated with clusters of spreading depolarisations.
Brain 129: 3224-37.
31. Dugan T.M., Nordgren R.E., O'Leary P. (1981)
Transient global amnesia associated with bradycardia and temporal lobe spikes.
Cortex 17: 633-637.

32. Ebner T.J., Chen G. (2003)
Spreading acidification and depression in the cerebellar cortex.
Neuroscientist 9: 37–45.
33. Echlin F. (1948)
Spreading depression of electrical activity in the cerebral cortex following local trauma and its possible role in concussion.
Trans Am Neuro Assoc 73: 199–202.
34. Fabricius M., Fuhr S., Bhatia R., Boutelle M., Hashemi P., Strong A.J., Lauritzen M. (2006)
Cortical spreading depression and peri-infarct depolarization in acutely injured human cerebral cortex.
Brain 129: 778-90.
35. Ferro J.M., Melo T.P., Oliveira V. *et al.* (1995)
A multivariate study of headache associated with ischemic stroke.
Headache 35: 315–319.
36. Fisher C.M., Adams R.D. (1964)
Transient global amnesia.
Acta Neurol Scand 40: 1–83.
37. Footitt D.R., Newberry N.R. (1998)
Cortical spreading depression induces an LTP-like effect in rat neocortex in vitro.
Brain Res 781: 339–42.
38. Förderreuther S., Henkel A., Noachtar S., Straube A. (2002)
Headache associated with epileptic seizures: epidemiology and clinical characteristics.
Headache 42: 649–655.

39. Geraud G., Denuelle M., Fabre N. *et al.* (2005)
Positron emission tomographic studies of migraine.
Rev Neurol 161: 666–670.
40. Giffin N.J., Ruggiero L., Lipton R.B., Silberstein S.D., Tvedskov J.F., Olesen J., Altman J., Goadsby P.J., Macrae A. (2003)
Premonitory symptoms in migraine: An electronic diary study.
Neurology 60: 935-40
41. Goadsby P.J., Edvinsson L. (1991)
Sumatriptan reverses the changes in calcitonin-gen related peptide seen in the headache phase of migraine.
Cephalalgia 11: 3-4.
42. Goadsby P.J. (2006)
Recent advances in the diagnosis and management of migraine.
BMJ 332: 25-29.
43. Gold L., Back T., Arnold G., Dreier J., Einhaupl K.M., Reuter U., Dirnagl U. (1998)
Cortical spreading depression-associated hyperemia in rats: involvement of serotonin.
Brain Res 783: 188–193.
44. Gorji A., Scheller D., Tegtmeier F., Straub H., Köhling R., Speckmann E.J. (2000)
NiCl₂ and amiloride induce spreading depression in guinea pig slices.
Cephalalgia 20: 740–747.

45. Gorji A., Scheller D., Straub H., Tegtmeier F., Ebner, A., Wolf P., Panneck H.W., Oettel F., Speckmann E.J., Köhling R., Hohling J., Tuxhorn I. (2001)
Spreading depression in neocortical human slices.
Brain Res 906: 74–83.
46. Gorji A. (2001)
Spreading depression: a review of the clinical relevance.
Brain Res Brain Res Rev: 33-60.
47. Gorji A., Zank P.K., Pogatzki E.M., Speckmann E.J. (2004)
Spinal and cortical spreading depression enhance spinal cord activity.
Neurobiol Dis 15: 70-9.
48. Gorji A., Speckmann E.J. (2004)
Spreading depression enhances the spontaneous epileptiform activity in human neocortical tissues.
Eur J Neurosci 19: 3371–3374.
49. Grafstein B. (1956)
Mechanism of spreading cortical depression.
J Neurophysiol 19: 154-171.
50. Grafstein B. (1963)
Neuronal release of potassium during spreading depression.
In: M.A.B. Brazier, Editor, Brain Function Vol 1: 87–124.
51. Gursoy-Ozdemir Y., Qiu J., Matsuoka N. *et al.* (2004)
Cortical spreading depression activates and upregulates MMP-9.
J Clin Invest 113: 1447–1455.

52. Hadjikhani N., Sanchez Del Rio M., Wu O., Schwartz D., Bakker D., Fischl B., Kwong K.K., Cutrer F.M., Rosen B.R., Tootell R.B., Sorensen A.G., Moskowitz M.A. (2001)
Mechanisms of migraine aura revealed by functional MRI in human visual cortex.
Proc Natl Acad Sci 98: 4687-92.
53. Hansen A.J., Zeuthen T. (1981)
Extracellular ion concentrations during spreading Depression and ischemia in the rat brain cortex.
Acta Physiol Scand 113: 437–445.
54. Hansen A.J., Lauritzen M (1984).
The role of spreading depression in acute brain disorders.
An Acad Bras Cienc 56: 457-79.
55. Hauser W.A., Kurland L.T. (1975)
The epidemiology of epilepsy in Rochester, Minesota, 1935-1967.
Epilepsia 16: 1-66.
56. Headache Classification Committee of the International Headache Society.
(1998)
Classification and diagnostic criteria for headache disorders, cranial neuralgias and facial pain.
Cephalalgia 8: 1-96.
57. Heathfield K.W., Croft P.B., Swash M. (1973)
The syndrome of transient global amnesia.
Brain 96: 729–736.

58. Hossmann K.A. (1996)
Periinfarct depolarizations.
Cerebrovascular Brain Metabolism Reviews 8: 195-208.
59. Hubschmann O.R., Kornhauser D. (1980)
Cerebral arterial spasm.
J Neurosurg 53: 732-3.
60. Hughes R.A. (1969)
Retrograde amnesia in rats produced by hippocampal injections of potassium chloride: Gradient of effect and recovery.
J Comp Physiol Psychol 68: 637–644.
61. International Headache Society (2004)
The international classification of headache disorders, 2nd edn.
Cephalalgia 24: 9–160.
62. Iversen H.K. (2001)
Human migraine models.
Cephalalgia 21: 781-785.
63. Isaacson R.L., Pribram K.H. (1975)
The Hippocampus.
Plenum Press, NewYork.
64. Jensen O., Lisman J.E. (2005)
Hippocampal sequence-encoding driven by a cortical multi-item working memory buffer.
Trends Neurosci 28: 67–72.

65. Jones E.G., Powell T.P. (1970)
An anatomical study of converging sensory pathways within the cerebral cortex of the monkey.
Brain 93: 793–820.
66. Kaada B.R. (1972)
Stimulation and regional ablation of the amygdaloid complex with reference to functional representations.
In Eleftheriou, B.E. The Neurobiology of the Amygdale. Plenum: 205–281.
67. Kapp B.S., Schneider A.M. (1971)
Selective recovery from retrograde amnesia produced by hippocampal spreading depression.
Science 173: 1149–1151.
68. Kassell N.F., Torner J.C., Haley E.C. Jr, Jane J.A., Adams H.P., Kongable G.L. (1990)
The International Cooperative Study on the Timing of Aneurysm Surgery. Part 1: Overall management results.
J Neurosurg 73: 18-36.
69. Kelman L. (2004)
The place of osmophobia and taste abnormalities in migraine classification: a tertiary care study of 1237 patients.
Cephalalgia 24: 940–6.
70. King A.S., Brothers L.A. (1992)
The amygdale and social behaviour.
In Aggleton, J.P. (ed.), The Amygdala: Neurobiological Aspects of Emotion, Memory, and Mental Dysfunction. Wiley-Liss: 353–378.

71. Kraig R.P., Nicholson C. (1978)
Extracellular ionic variations during spreading depression.
Neuroscience 3: 1045–1059.
72. Kruger H., Luhmann H.J., Heinemann U. (1996)
Repetitive spreading depression causes selective suppression of
GABAergic function.
Neuroreport 7: 2733–6.
73. Kunkler P.E., Kraig R.P. (2003)
Hippocampal spreading depression bilaterally activates the caudal
trigeminal nucleus in rodents.
Hippocampus 13: 835–844.
74. Lashley K.S. (1941)
Patterns of cerebral integration indicated by the scotomas of migraine.
Arch Neurol Psychiatry 46: 331–339.
75. Launer L.J., Terwindt G.M., Ferrari M.D. (1999)
The prevalence and characteristics of migraine in a population- based
cohort: the GEM study.
Neurology 53: 537–542.
76. Lauritzen M. (1944)
Pathophysiology of the migraine aura. The spreading depression theory.
Brain 117: 199-210.
77. Leão A.A.P. (1944)
Spreading depression of activity in the cerebral cortex.
J Neurophysiol 7: 359-390.

78. Leão A.A.P. (1987)
Spreading depression.
In: G. Adelman, Editor, *Encyclopedia of Neuroscience*, Birkhaeuser, Boston, Basel, Stuttgart: 1137–1138.
79. Lehmenkühler A., Zidek W., Staschen M., Caspers H. (1981)
Cortical pH and pCa in relation to DC potential shifts during spreading depression and asphyxiation.
In: Sykova E., Hnik P., Vyklicky L. (eds) *Ion-selective microelectrodes and their use in excitable tissues*. Plenum Press New York: 225–229.
80. Leniger T., Isbruch K., von den Driesch S. *et al.* (2001)
Seizure-associated headache in epilepsy.
Epilepsia 42: 1176–1179.
81. Leniger T., von den Driesch S., Isbruch K. *et al.* (2003)
Clinical characteristics of patients with comorbidity of migraine and epilepsy.
Headache 43: 672–677.
82. Liu H.X., Hokfelt T. (2002)
The participation of galanin in pain processing at the spinal level.
Trends Pharmacol Sci 23: 468–474.
83. Logothetis N.K. (2003)
The underpinnings of the BOLD functional magnetic resonance imaging signal.
Neurosci 23: 3963-71.
84. Mahanty N.K., Sah P. (1999)
Excitatory synaptic inputs to pyramidal neurons of the lateral amygdala.
Eur J Neurosci 11: 1217–1222.

85. Marrannes R., Willems R., De Prins E., Wauquier A. (1988)
Evidence for a role of the *N*-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor in cortical spreading depression in the rat.
Brain Res 457: 226–240.
86. Matthes A., Schneble H. (1999)
Epilepsien. Diagnostik und Therapie für Klinik und Praxis.
Thieme, Stuttgart New York: 1-8.
87. Mayevsky A., Doron A., Manor T., Meilin S., Zarchin N., Ouaknine G.E. (1996)
Cortical spreading depression recorded from the human brain using a multiparametric monitoring system.
Brain Res 740: 268–274.
88. McKendrick A.M., Badcock D.R. (2004)
Motion processing deficits in migraine.
Cephalalgia 24: 363–72.
89. Milner P.M. (1958)
Note on a possible correspondence between the scotomas of migraine and spreading depression of Leao.
Electroencephalogr Clin Neurophysiol 10: 705.
90. Montagna P., Gallassi R., Medori R. *et al.* (1988)
MELAS syndrome: characteristic migrainous and epileptic features and maternal transmission.
Neurology 38: 751–754.
91. Moskowitz M.A., Macfarlane R, (1993)
Neurovascular and molecular mechanisms in migraine headaches.
Cerebrovasc Brain Metab 5: 159–177.

92. Nedergaard M., Hansen A.J. (1993)
Characterization of cortical depolarizations evoked in focal cerebral ischemia.
J Cereb Blood Flow Metab 13: 568-74.
93. Obrenovitch T.P., Urenjak J., Zilkha E. (1997)
Effects of increased extracellular glutamate levels on the local field potential in the brain of anaesthetized rats.
Br Pharmacol 122: 372–378.
94. Ohta T., Kajikawa H., Yoshikawa Y., Shimizu K. *et al.* (1980)
Cerebral vasospasm and hemoglobins.
In: R.H. Wilkins, Editor, Cerebral Arterial Spasm, Williams & Wilkins, Baltimore, MD: 166–172.
95. Olesen J., Larsen B., Lauritzen M. (1981)
Focal hyperemia followed by spreading oligemia and impaired activation of rCBF in classic migraine.
Ann Neurol 9: 344-52.
96. Oomura Y., Ono T., Ooyama H. (1970)
Inhibitory action of the amygdale on the lateral hypothalamic area in rats.
Nature 228: 1108–1110.
97. Oppenheimer S., Hachinski V. (1992)
Complications of acute stroke.
Lancet 339: 721–724.
98. Pandya D.N., Kuypers H.G. (1969)
Cortico-cortical connections in the rhesus monkey.
Brain Res 13: 13–36.

99. Peres M.F., Mercante J.P., Guendler V.Z., Corchs F., Bernik M.A., Zukerman E., Silberstein S.D. (2007)
J Headache Pain 8: 56–59.
100. Petsche H., Rappelsberger P., Frey Z., Suchatzki B.U. (1973)
The epileptogenic effect of ouabain (g-strophanthin). Its action on the EEG and cortical morphology.
Epilepsia 14: 243–260.
101. Pluta R.M., Afshar J.K., Boock R.J., Oldfield E.H. (1998)
Temporal changes in perivascular concentrations of oxyhemoglobin, deoxyhemoglobin, and methemoglobin after subarachnoid hemorrhage.
J Neurosurg 88: 557–561.
102. Psarropoulou C., Avoli M. (1992)
CPP, an NMDA-receptor antagonist, blocks 4 aminopyridine-induced spreading depression episodes but not epileptiform activity in immature rat hippocampal slices.
Neurosci Lett 135: 139–143.
103. Rasmussen B.K., Olesen J (1992)
Migraine with aura and migraine without aura: an epidemiological study.
Cephalalgia 12: 221-8.
104. Robbins L. (1994)
Precipitating factors in migraine: a retrospective review of 494 patients.
Headache 34: 214-216.

105. Romanski L.M., LeDoux J.E. (1993)
Information cascade from primary auditory cortex to the amygdala: corticocortical and corticoamygdaloid projections of temporal cortex in the rat.
Cereb Cortex 3: 515–532.
106. Röther J., de Crespigny A.J., D'Arceuil H., Iwai K., Moseley M.E. (1996)
Recovery of apparent diffusion coefficient after ischemia-induced spreading depression relates to cerebral perfusion gradient.
Stroke 27: 980-987.
107. Russell M.B., Iversen H.K., Olesen J. (1994)
Improved description of the migraine aura by a diagnostic aura diary.
Cephalalgia 14: 107-17.
108. Sachs M., Pape H.C., Speckmann E.J. (2007)
The effect of estrogen and progesteron on spreading depression in rat neocortical tissue.
Neurobiol Diss 25: 27-34.
109. Sanchez del Rio M., Reuter U. (2004)
Migraine aura: new information on underlying mechanisms.
Curr Opin Neurol 17: 289–293.
110. Shibata K., Osawa M., Iwata M. (1997)
Pattern reversal visual evoked potentials in classic and common migraine.
J Neurol Sci 145: 177–81.
111. Shibata M. (1982)
Role of amygdala in feeding and drinking induced by single cortical spreading depression in the rat.
Physiol Behav 29: 649–656.

112. Shibata K., Osawa M., Iwata M. (1997) Pattern reversal visual evoked potentials in classic and common migraine.
J Neurol Sci 145: 177–81.
113. Sigurdsson T., Doyere V., Cain C.K., LeDoux J.E. (2007)
Long-term potentiation in the amygdala: a cellular mechanism of fear learning and memory.
Neuropharmacology 52: 215–227.
114. Smith B.N., Dudek F.E. (1996)
Amino acid-mediated regulation of spontaneous synaptic activity patterns in the rat basolateral amygdala.
J Neurophysiol 76: 1958–1967.
115. Somjen G.G., Aitken P.G., Czeh G.L., Herreras O., Jing J., Young J.N. (1992)
Mechanism of spreading depression: a review of recent findings and a hypothesis.
Can J Physiol Pharmacol 70: 248–254.
116. Somjen G.G. (2001)
Mechanisms of spreading depression and hypoxic spreading depression-like depolarization.
Physiol Rev 81: 1065–96.
117. Sramka M., Brozek G., Bures J., Nadvornik P. (1977)
Functional ablation by spreading depression: possible use in human stereotactic neurosurgery.
Appl Neurophysiol 40: 48-61.

118. Strong A.J., Smith S.E., Whittington D.J., Meldrum B.S., Parsons A.A., Krupinski J., Hunter A.J., Patel S., Robertson C. (2000)
Factors influencing the frequency of fluorescence transients as markers of peri-infarct depolarizations in focal cerebral ischemia.
Stroke 31: 214-22.
119. Strong A.J., Fabricius M., Boutelle M.G., Hibbins S.J., Hopwood S.E., Jones R., Parkin M.C., Lauritzen M. (2002)
Spreading and synchronous depressions of cortical activity in acutely injured human brain.
Stroke 33: 2738-43.
120. Sumiyoshi T., Tsunoda M., Uehara T., Tanaka K., Itoh H., Sumiyoshi C., Kurachi M. (2004)
Enhanced locomotor activity in rats with excitotoxic lesions of the entorhinal cortex, a neurodevelopmental animal model of schizophrenia: behavioral and in vivo microdialysis studies.
Neurosci Lett 364: 124–129.
121. Terwindt G.M., Ophoff R.A., Lindhout D et al. (1997)
Partial cosegregation of familial hemiplegic migraine and a benign familial infantile epileptic syndrome.
Epilepsia 38: 915–921
122. Traynelis S.F., Dingledine R. (1988)
Potassium-induced spontaneous electrographic seizures in the rat hippocampal slice.
J Neurophysiol 59: 259–276.

123. Turner B.H., Mishkin M., Knapp M. (1980)
Organization of the amygdalopetal projections from modality-specific cortical association areas in the monkey.
J Comp Neurol 191: 515–543.
124. Umegaki M., Sanada Y., Waerzeggers Y., Rosner G., Yoshimine T., Heiss W.D., Graf R. (2005)
Peri-infarct depolarizations reveal penumbra-like conditions in striatum.
Journal of Neuroscience 25: 1387-1394.
125. Van Atta L., Sutin J. (1971)
The response of single lateral hypothalamic neurons to ventromedial nucleus and limbic stimulation.
Physiol Behav 6: 523–536.
126. Van Harreveld A. (1959)
Compounds in brain extracts causing spreading depression of cerebral cortical activity and contraction of crustacean muscle.
J Neurochem 3: 300–315.
127. Van Hoesen G.W., Pandya D.N., Butters N. (1972)
Cortical afferents to the entorhinal cortex of the Rhesus monkey.
Science 175: 1471–1473.
128. Vinogradova O.S. (2001)
Hippocampus as comparator: role of the two input and two output systems of the hippocampus in selection and registration of information.
Hippocampus 11: 578–598.

129. Wernsmann B., Pape H.C., Speckmann E.J., Gorji A. (2006)
Effect of cortical spreading depression on synaptic transmission of rat hippocampal tissues.
Eu J Neurosci 23: 1103–1110.
130. Witte O.W., Bidmon H.J., Schiene K., Redecker C., Hagemann G. (2000)
Functional differentiation of multiple perilesional zones after focal cerebral ischemia.
J Cereb BloodFlow Metab 8: 1149-65.
131. Woods R.P., Iacoboni M., Mazziotta J.C. (1994)
Brief report: bilateral spreading cerebral hypoperfusion during spontaneous migraine headache.
N Engl J Med 22: 1689-92.
132. Zielinski J.J. (1974)
Epileptic not in treatment.
Epilepsia 15: 203-210.

6. Danksagung

Mein ganz besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. med. Ali Gorji für die Überlassung des Dissertationsthemas, die gegebenen Arbeitsmöglichkeiten sowie die hervorragende und herzliche Betreuung der vorliegenden Arbeit. Dem von der ersten Stunde an kein Weg zu weit und keine Erläuterung auch noch so komplexer Fragestellungen zuviel gewesen ist. Seine immerzu vorhandene Diskussionsbereitschaft auf der einen, seine menschliche und humorvolle Art auf der anderen Seite waren stets eine große Bereicherung. Ein großer Dank auch an das gesamte physiologische Institut I für das nette und angenehme Arbeitsklima.

Frau S. Sasikanthan und Frau B. Herrenpoth danke ich ganz herzlich für die hervorragende Einweisung in den Versuchsplatz sowie die qualifizierte technische Unterstützung bei der Vorbereitung und Durchführung der Experimente.

Mein herzlicher Dank gilt auch Herren L. Sasse und T. Westhoff, den Mitarbeitern der elektronischen und feinmechanischen Werkstätten des Institutes für Physiologie, die mir bei technischen Problemen immer zur Seite standen.

Des Weiteren möchte ich an dieser Stelle jemandem danken, ohne den es mir nicht möglich gewesen wäre, meine Versuchsreihen und technischen Arbeiten in der gewünschten Art und Weise durchzuhalten. Deine Freundschaft hat mir sehr geholfen.

Vielen Dank, Evelin!

Aus ganzem Herzen danke ich meinen lieben Eltern, meinem Bruder, U. und J. Riemel, Eva und Andreas für ihre bedingungslose Unterstützung zur jeder Zeit, durch welche die Fertigstellung dieser Arbeit erst möglich wurde.

7. Curriculum Vitae

8. Anhang

8.1 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1-1: (A) Aristides Azevedo Pacheco Leão. Journal of Neurophysiology, 1944, (B) Änderungen physiologischer Parameter während einer SD. Leao´s originale Illustration einer SD.....	2
Abb. 1-2: Darstellung einer DC-Potentialwelle nach Injektion von KCl (3M) am menschlichem Neocortex.....	4
Abb. 2-1: Übersicht über den Hirnschnitt in der Ableitkammer.....	20
Abb. 2-2: Darstellung der Messmethode anhand einer Registrierung der Feldpotentiale nach dem Auslösen von SD.....	25
Abb. 2-3: Darstellung der Messmethode für die MP-Fluktuation.....	26
Abb. 2-4: Messvorschriften zur Auswertung der FP-Fluktuation bei Applikation der Stromimpulse.....	27
Abb. 3-1: Originalregistrierung einer SD-Welle im Neocortex.....	29
Abb. 3-2: Originalmessung von intrazellulärer Aktivität bei Neuronen im Hippocampus. Vergleich des Membranpotentials.....	37
Abb. 3-3: Originalmessung von intrazellulärer Aktivität bei Neuronen im Hippocampus. Vergleich des Schwellenpotentials.....	38
Abb. 3-4: Originalmessung von intrazellulärer Aktivität bei Neuronen im Hippocampus. Vergleich der Dauer des Aktionspotentials bei halber Amplitude.....	39
Abb. 3-5: Originalmessung von intrazellulärer Aktivität bei Neuronen im Hippocampus. Vergleich des Nachpotentials.....	40
Abb. 3-6: Originalmessung von intrazellulärer Aktivität bei Neuronen im Hippocampus. Vergleich der Frequenz.....	42
Abb. 3-7: Entladungsverhalten der Neurone im Hippocampus in Reaktion auf Depolarisation der Membran durch intrazelluläre Strominjektion unterschiedlicher Stärke.....	43
Abb. 3-8: Originalmessung von intrazellulärer Aktivität bei Neuronen in der lateralen Amygdala. Vergleich des Membranpotentials.....	50
Abb. 3-9: Originalmessung von intrazellulärer Aktivität bei Neuronen in der lateralen Amygdala. Vergleich des Schwellenpotentials.....	51

Abb. 3-10: Originalmessung von intrazellulärer Aktivität bei Neuronen in der lateralen Amygdala. Vergleich der Dauer des Aktionspotentials bei halber Amplitude.....	52
Abb. 3-11: Originalmessung von intrazellulärer Aktivität bei Neuronen in der lateralen Amygdala. Vergleich des Nachpotentials.....	53
Abb. 3-12: Originalmessung von intrazellulärer Aktivität bei Neuronen in der lateralen Amygdala. Vergleich der Frequenz.....	54
Abb. 3-13: Originalmessung von intrazellulärer Aktivität bei Neuronen im Neocortex. Vergleich des Membranpotentials.....	61
Abb. 3-14: Originalmessung von intrazellulärer Aktivität bei Neuronen im Neocortex. Vergleich der Dauer des Aktionspotentials bei halber Amplitude.....	62
Abb. 3-15: Originalmessung von intrazellulärer Aktivität bei Neuronen im Neocortex. Vergleich des Nachpotentials.....	64
Abb. 3-16: Originalmessung von intrazellulärer Aktivität bei Neuronen im Neocortex. Vergleich der Frequenz.....	66
Abb. 3-17: Entladungsverhalten der Neurone im Neocortex in Reaktion auf Depolarisation der Membran durch intrazelluläre Strominjektion von 100 pA Stärke.....	67

8.2 Tabellenverzeichnis

Tab. 2-1: Zusammensetzung der verwendeten Lösungen (Y I: Yamamoto I, Y II: Yamamoto II, Yamamoto, 1972).....	21
Tab. 3-1: Durchschnittliche Zeit +/- SEM und min.-max. Zeit bis zu Erreichen einer intrazellulären Lage der MP- Elektrode nach SD.....	30
Tab. 3-2: Mittelwerte (MW) für Ruhemembranpotential (RMP), Schwellenpotential (Sch_{MP}), Dauer des Aktionspotentials bei halber Amplitude (T_{MP}), Nachpotential (NP) und Frequenz im Hippocampus.....	35
Tab. 3-3: Mittelwerte (MW) für Ruhemembranpotential (RMP), Schwellenpotential (Sch_{MP}), Dauer des Aktionspotentials bei halber Amplitude (T_{MP}), Nachpotential (NP) und Frequenz bei Depolarisation mit konstanter Strominjektion im Hippocampus.....	35

Tab. 3-4: Mittelwerte (MW) für Ruhemembranpotential (RMP), Schwellenpotential (Sch_{MP}), Dauer des Aktionspotentials bei halber Amplitude (T_{MP}), Nachpotential (NP) und Frequenz bei Hyperpolarisation mit konstanter Strominjektion im Hippocampus.....	36
Tab. 3-5: Änderung des MP einzelner Neurone bei Injektion positiver elektrischer Rechteckstimpulse über die intrazelluläre Mikroelektrode und Charakterisierung des Entladungsverhaltens im Hippocampus.....	36
Tab. 3-6: Mittelwerte (MW) für Ruhemembranpotential (RMP), Schwellenpotential (Sch_{MP}), Dauer des Aktionspotentials bei halber Amplitude (T_{MP}), Nachpotential (NP) und Frequenz in der Amygdala.....	48
Tab. 3-7: Mittelwerte (MW) für Ruhemembranpotential (RMP), Schwellenpotential (Sch_{MP}), Dauer des Aktionspotentials bei halber Amplitude (T_{MP}), Nachpotential (NP) und Frequenz bei Depolarisation mit konstanter Strominjektion in der Amygdala.....	48
Tab. 3-8: Mittelwerte (MW) für Ruhemembranpotential (RMP), Schwellenpotential (Sch_{MP}), Dauer des Aktionspotentials bei halber Amplitude (T_{MP}), Nachpotential (NP) und Frequenz bei Hyperpolarisation mit konstanter Strominjektion in der Amygdala.....	49
Tab. 3-9: Änderung des MP einzelner Neurone bei Injektion positiver elektrischer Rechteckstimpulse über die intrazelluläre Mikroelektrode und Charakterisierung des Entladungsverhaltens in der Amygdala.....	49
Tab. 3-10: Mittelwerte (MW) für Ruhemembranpotential (RMP), Schwellenpotential (Sch_{MP}), Dauer des Aktionspotentials bei halber Amplitude (T_{MP}), Nachpotential (NP) und Frequenz im Neocortex.....	59
Tab. 3-11: Mittelwerte (MW) für Ruhemembranpotential (RMP), Schwellenpotential (Sch_{MP}), Dauer des Aktionspotentials bei halber Amplitude (T_{MP}), Nachpotential (NP) und Frequenz bei Depolarisation mit konstanter Strominjektion im Neocortex.....	59
Tab. 3-12: Mittelwerte (MW) für Ruhemembranpotential (RMP), Schwellenpotential (Sch_{MP}), Dauer des Aktionspotentials bei halber Amplitude (T_{MP}), Nachpotential (NP) und Frequenz bei Hyperpolarisation mit konstanter Strominjektion im Neocortex.....	60

Tab. 3-13: Änderung des Membranpotentials einzelner Neurone bei Injektion Positiver elektrischer Rechteckstrome über die intrazelluläre Mikroelektrode und Charakterisierung des Entladungsverhaltens im Neocortex.....	60
Tab. 4-1: Zusammenfassung der statistisch signifikanten Werte.....	68
Tab. 4-2: Zusammenfassung der statistisch signifikanten Werte bei Injektion positiver elektrischer Rechteckstrome.....	68

8.3 Abkürzungsverzeichnis

A _D :	Amplitude der Depolarisation
A _{FP} :	maximale Auslenkung der FP-Fluktuation
Abb.:	Abbildung
AMPA:	α-Amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazol-Propionsäure
A _{MP} :	Amplitude des Aktionspotentials
½ A _{MP} :	halbe Amplitude
ATPase:	Adenosintriphosphatase
BOLD:	blood oxygenation level dependent
Bzw:	beziehungsweise
CGRP:	calcitonin gene-related peptide
CTRL:	Kontrollversuche
DIND:	delayed ischaemic neurological Deficit
DC:	Direct current
EC:	entorhinaler Cortex
EEG:	Elektroenzephalografie
F:	Frequenz
F-D:	Frequenz bei Depolarisation
F-H:	Frequenz bei Hyperpolarisation
fEPSP:	Erregenden Postsynaptischen Feldpotenzialen
FA:	fast adapting
FP:	Feldpotential
GABA:	Gamma-aminobutyric acid
G _{FP} :	Grundlinie

h:	Stunde
Hb:	Hämoglobin
IB:	intrinsically bursting
ICB:	intracerebrale Blutung
ISI:	Interspikeintervall
l:	Liter
LA:	laterale Amygdala
Lsg:	Lösung
LTP:	long-term potentiation
MEG:	Magnetenzephalographie
min:	Minute
ml:	Milliliter
mmol:	Millimol
MP:	Membranpotential
MRT:	Magnetresonanztomographie
MW:	Mittelwert
mV:	Millivolt
MΩ:	Megaohm
nl:	Nanoliter
NMDA:	N-Methyl-D-Aspartat
NO:	Stickstoffmonoxid
NP:	Nachhyperpolarisation, Nachpotential
pA:	Piko-Ampere
PET:	Positronen-Emissions-Tomographie
PID:	Periinfarktdepolarisationen
RMP:	Ruhemembranpotential
sec:	Sekunde
SA:	slow adapting
SAB:	Subarachnoidalblutung
Sch _{MP} :	Schwellenpotential
SD:	Spreading Depression
SEM:	mittlerer Fehler des Mittelwertes
SHT:	Schädel-Hirn-Trauma
Tab.:	Tabelle

TC:	temporaler Cortex
T _{FP} :	Dauer der FP-Fluktuation
TGA:	Transiente globale Amnesie
T _{MP} :	Dauer des Aktionspotentials bei halber Amplitude
T _{MP-D} :	Dauer des Aktionspotentials bei halber Amplitude bei Depolarisation
T _{MP-H} :	Dauer des Aktionspotentials bei halber Amplitude bei Hyperpolarisation
u. a.:	unter anderem
Y:	Yamamoto
µm:	Mikrometer



Bezirksregierung Münster

Bezirksregierung Münster • 48128 Münster

Gegen Empfangsbekanntnis

Herrn

Prof. Dr. med. Erwin-Josef Speckmann

Institut für Physiologie

-Institut für Experimentelle Epilepsie-
forschung-

des Universitätsklinikums Münster

Robert-Koch-Str. 27 a

48149 Münster

Dienstgebäude:

Domplatz 1-3

Telefon: (0251) 411-0

Durchwahl: 2110

Telefax: 2115

Raum: 431

Auskunft erteilt:

Frau Möllers

E-Mail:

immgard.moellers@bezreg-muenster.nrw.de

Aktenzeichen:

50.0835.1.0 (G 79/2002)

19. Dez. 2002

Tierschutz;

Durchführung von Versuchen an Wirbeltieren

Ihr Antrag vom 10.10.2002, hier eingegangen am 06.11.2002

Genehmigungsbescheid:

Sehr geehrter Herr Professor Speckmann,

gemäß § 8 Tierschutzgesetz (TierSchG) vom 25. Mai 1998 (BGBl. I S. 1105) in der zur Zeit geltenden Fassung wird Ihnen die Genehmigung zur Durchführung nachstehenden Versuchsvorhabens erteilt:

„Experimentelle Epilepsieforschung“. (10 Teilprojekte gem. Antrag)

Leiter des Versuchsvorhabens und seine Stellvertreter sind:

Herr

Prof. Dr. med. E.-J. Speckmann

Institut für Physiologie

-Institut für Experimentelle

Epilepsieforschung-

des Universitätsklinikums Münster

Robert-Koch-Str. 27 a

48149 Münster

Frau

Prof. Dr. rer. nat. Heidrun Straub

Institut für Physiologie

des Universitätsklinikums Münster

Robert-Koch-Str. 27 a

48149 Münster

Rechtsbehelfsbelehrung:

Gegen diesen Bescheid kann innerhalb eines Monats nach Bekanntgabe Widerspruch erhoben werden. Der Widerspruch ist bei mir unter der oben genannten Anschrift schriftlich oder zur Niederschrift einzureichen.

Sollte die Frist durch das Verschulden eines von Ihnen Bevollmächtigten versäumt werden, so würde dessen Verschulden Ihnen zugerechnet werden.

Ich bitte um umgehende Rückgabe des beiliegenden Empfangsbekanntnisses.-----

Mit freundlichen Grüßen
Im Auftrag



Dr. Piontkowski