

Aus dem Universitätsklinikum Münster

Institut für Physiologie I

-Geschäftsführender Direktor: Univ.-Prof. Dr. H.-C. Pape-

**Die Wirkung von Hypoxie auf die synaptische Aktivität im  
Hippocampus, in der Amygdala und im Neocortex der Maus**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung des doctor medicinae dentium

der Medizinischen Fakultät

der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

vorgelegt von Kösters, Evelin Hedwig

geb. Cieciel

aus Neustadt (Polen)

2009

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

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

1. Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. A. Gorji
2. Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. H. Wassmann

Tag der mündlichen Prüfung: 01.09.2009

Aus dem Institut für Physiologie I  
Der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster  
-Geschäftsführender Direktor: Univ.-Prof. Dr. H.-C. Pape-  
Referent: Prof. Dr. A. Gorji  
Koreferent: Prof. Dr. H. Wassmann

## **Zusammenfassung**

### **Wirkung von Hypoxie auf die synaptische Aktivität im Hippocampus, in der Amygdala und im Neocortex der Maus**

Kösters, Evelin Hedwig

Ansatzpunkt dieser Arbeit sind zerebrovaskuläre Erkrankungen, insbesondere der Schlaganfall, und deren möglichen Folgen auf klinischer Ebene. Das Ziel ist es, auf synaptischer Ebene die Auswirkung von Hypoxie auf Hippocampus, Amygdala und Neocortex unter Zuhilfenahme von LTP zu untersuchen.

Die Versuche wurden an horizontalen Amygdala-Hippocampus-Neocortex-Schnittpräparaten der Maus durchgeführt. Die synaptische Aktivität wurde in Form von Feldpotentialen erfasst. Die Hypoxie wurde experimentell erzeugt und ihre Wirkung auf die Langzeitpotenzierung (LTP) untersucht. Mit in diese Versuchsreihe wurde die Wirkung von dem AMPA-Rezeptor-Antagonisten CNQX und dem NMDA-Rezeptor-Antagonisten APV auf die LTP nach einer Hypoxie einbezogen. Anhand des Vergleichs der fEPSP-Amplituden, konnte die Ausprägung der durch Hypoxie verursachten Einschränkung der synaptischen Übertragung aufgezeigt werden. Zudem wurde die unterschiedliche Toleranz der untersuchten Regionen auf Hypoxie in Form von DC- Negativierung aufgezeigt.

Eine Hypoxie führte zu einer signifikanten Senkung der synaptischen Aktivität in allen drei untersuchten Regionen. Die Zugabe von CNQX zu der Versuchslösung führte zu einer weiteren Verkleinerung der Amplituden nach LTP im Hippocampus und in der lateralen Amygdala, wogegen die antagonistische Wirkung von APV sich nur auf Amygdala gezeigt hatte. Die Auswertung der Terminalnegativierung zeigte eine größere Toleranz der Neocortex auf hypoxische Bedingungen als der Hippocampus oder die Amygdala.

Die vorliegenden Ergebnisse deuten darauf hin, dass Glutamat-Rezeptoren eine Schlüsselrolle bei der Kontrolle der assoziativen Plastizität in der Lateralen Amygdala im Hippocampus und im Neocortex einnehmen. Sie können somit ein Ziel für die pharmakologische Behandlung von Angst, von Amnesien oder Depressionen sowie den motorischen Folgen eines Schlaganfalls werden.

Die tierexperimentelle Arbeit wurde vom Regierungspräsidenten Münster mit dem Schreiben vom 19.12.2002, Aktenzeichen: 50.0835.1.0. (G79/2002) genehmigt (siehe Anhang).

Tag der Mündlichen Prüfung: 01.09.2009

*Meiner Familie*

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>1</b>
1.1	Zerebrovaskuläre Erkrankungen	1
1.2	Der Schlaganfall	1
1.2.1	Epidemiologische Betrachtung	1
1.2.2	Klassifikation	2
1.2.3	Symptome	3
1.2.4	Psychische Veränderungen nach einem Schlaganfall	4
1.2.5	Pathophysiologie	7
1.3	Hypoxie	9
1.4	Amygdala - Anatomie und Physiologie	11
1.5	Hippocampus	13
1.5.1	Anatomie und Physiologie	13
1.5.2	Histologie	16
1.6	Neocortex - Anatomie und Physiologie	17
1.7	Elektrophysiologie	17
1.7.1	Synaptische Übertragung	17
1.7.2	Synaptische Plastizität	18
1.8	Ziel	22
<b>2</b>	<b>Material und Methoden</b>	<b>23</b>
2.1	Versuchsgewebe	23
2.1.1	Versuchstiere und Präparationstechnik	23
2.2	Erfassung bioelektrischer Aktivität	24
2.2.1	Versuchskammer	24
2.2.2	Feldpotentialableitung	24
2.3	Versuchsprotokolle	26
2.3.1	Auswirkung von APV/CNQX auf die Langzeitpotenzierung	28
2.3.2	Kontrollversuche	29
2.3.3	Auswertung	29
<b>3</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>33</b>
3.1	Veränderungen der DC-Negativierung nach Hypoxie	33

3.1.1	Hippocampus.....	33
3.1.2	Amygdala .....	36
3.2	Synaptische Veränderungen nach Hypoxie.....	43
3.2.1	Hippocampus.....	43
3.2.1.1	Kontrollversuche .....	43
3.2.1.2	Hypoxieversuche .....	43
3.2.1.3	Auswirkung von APV auf LTP .....	47
3.2.2	Amygdala .....	49
3.2.2.1	Kontrollversuche .....	49
3.2.2.2	Hypoxieversuche .....	50
3.2.2.3	Auswirkung von CNQX auf LTP .....	52
3.2.2.4	Auswirkung von APV auf LTP .....	54
3.2.3	Neocortex.....	56
3.2.3.1	Kontrollversuche .....	56
3.2.3.2	Hypoxieversuche .....	57
3.2.3.3	Auswirkung von APV auf LTP .....	61
4	Diskussion .....	65
5	Literaturverzeichnis.....	73
6	Danksagung.....	93
7	Curriculum Vitae .....	94
8	Anhang .....	I
8.1	Abbildungsverzeichnis.....	I
8.2	Tabellenverzeichnis .....	IV
8.3	Abkürzungsverzeichnis .....	V

# **1 Einleitung**

## **1.1 Zerebrovaskuläre Erkrankungen**

Zerebrovaskuläre Erkrankungen betreffen die Blutversorgung des Gehirns. Man kann zwei große Kategorien unter diesen Erkrankungen unterteilen: den zerebralen Ischämischen Infarkt, bei dem die Durchblutung reduziert wird und die intrakraniellen Blutungen (Gorji, 2001). Die letzteren können die Folge eines Traumas oder des Bluthochdrucks sein, die Ischämien dagegen können die Folge einer Arteriosklerose, einer Embolie oder eines Dissekatats sein. Auch seltene Formen von Gefäßmissbildungen wie Aneurismen und Angiome zählen dazu. Insgesamt stellen diese genannten Erkrankungen die dritthäufigste Todesursache in Deutschland dar.

## **1.2 Der Schlaganfall**

### **1.2.1 Epidemiologische Betrachtung**

Ein Schlaganfall ist, als plötzlich auftretendes neurologisches Defizit, verursacht durch eine zentralnervöse Ischämie oder Hämorrhagie, die häufigste auftretende neurologische Erkrankung. Mit 11,4 % steht er an dritter Stelle der häufigsten Todesursachen hinter Herzerkrankungen und Krebs in Deutschland (Anonymus, 1998). Sollte ein Schlaganfall nicht zu Tode führen, stellt er die häufigste Ursache für lebenslange Behinderung im Erwachsenenalter dar (Kurtzke, 1982). Nach den Angaben des statistischen Bundesamtes lag der Anteil der über 65-Jährigen in Deutschland im Jahr 2000 bei ca. 16 % der Gesamtbevölkerung und steigt nach demographischen Hochrechnungen bis zum Jahr 2030 auf ca. 33 % an (Opitz, 1995). Durch die Zunahme der Lebenserwartung in Deutschland muss mit einer deutlichen Häufung von Schlaganfällen in den nächsten Jahrzehnten gerechnet werden (Malmgren *et al.*, 1989).



Die jährliche Häufigkeit in Deutschland betrug bei primär ischämischen Hirninfarkten 137 Ereignisse/100.000 Einwohner, bei Hirnblutungen 24/100.000, Subarachnoidalblutungen 6/100.000 und bei Schlaganfällen mit unklarer Ursache 8/100.000 (Kolominsky-Rabas *et al.*, 1998).

### 1.2.2 Klassifikation

Zur Klassifikation des Schlaganfalls wird unterschieden, ob es sich um eine plötzlich auftretende Minderdurchblutung handelt, dem so bezeichneten ischämischen Schlaganfall, oder um eine akute Hirnblutung, dem hämorrhagischen Infarkt. Bei der erstgenannten Klasse von Schlaganfällen, den ischämischen Schlaganfall, sind die Ursachen divers. Er kann durch arteriosklerotische Gefäßveränderungen, arterielle Thromboembolien, kardiogene Embolien, Gefäßdissektionen oder Vaskulitiden hervorgerufen werden

Die oben erwähnten Ursachen bewirken den Verlust der Sauerstoff- und Glukoseversorgung im betroffenen Gebiet, was in der Folge zum Zusammenbruch des Funktionsstoffwechsels und schließlich des Erhaltungsstoffwechsels führt. Der ischämische Schlaganfall ist für ca. 80% aller Schlaganfälle verantwortlich.

Die zweite Klasse der Schlaganfälle, die hämorrhagischen Infarkte, führen sekundär auch zu einer Ischämie auf Grund der raumfordernden Wirkung, bzw. des Fehlens des Blutes in nachgeordneten Regionen.

Primär wird ein hämorrhagischer Infarkt durch hypertensive Massenblutungen (80 %), Subarachnoidalblutungen (5 %), durch Traumata (Schädel- Hirn- Trauma mit subduralen Hämatom) oder durch oberflächennahe arteriovenöse Angiome hervorgerufen (Krzovska, 2006). Zur weiteren Klassifikation kann der Schlaganfall in unterschiedliche Schweregrade eingeteilt werden (Manfredi *et al.*, 2005).

- **TIA = Transitorisch Ischämische Attacken**  
Akute Durchblutungsstörung mit vollständiger spontaner Rückbildung innerhalb von 24 Stunden
- **RIND = Reversible Ischaemic Neurological Deficit**

Akute Durchblutungsstörung, mit einer Rückbildung zwischen 24 Std. und 7 Tagen

- **PRIND = Prolonged Reversible Ischaemic Neurological Deficit**  
„verlängerte“ akute Durchblutungsstörung, mit einer langsamen Rückbildung zwischen 7 Tagen und max. 4 Wochen
- **SIE = Stroke In Evolution**  
Ständig sich verschlechternde Symptomatik
- **CS = Complete Stroke MILD↔ SEVERE**  
Ein innerhalb von wenigen Minuten auftretendes Ereignis mit leichteren oder schwereren neurologischen bleibenden Ausfällen

### 1.2.3 Symptome

Der Schlaganfall äußert sich vielfältig und bei Frauen oft anders als bei Männern. Obwohl es grundsätzlich typische Symptome gibt, hängen die akuten Beschwerden vom Ausmaß der Schädigung und von der betroffenen Hirnregion ab. Zu den Typischen Symptomen zählen ein plötzliches Schwächegefühl oder Lähmungen in einer Körperhälfte ebenso wie Gefühllosigkeit an unterschiedlichsten Körperregionen, Sprach-, Hör- und Sehstörungen sowie heftiger Kopfschmerz, starker Schwindel und Bewusstlosigkeit. Nach einer Studie mit 28.090 untersuchten Probanden wurden folgende Symptome angegeben: Bei 2,7 % der Personen trat eine Sehschwäche auf, bei 2,8 % Artikulationsschwäche, bei 3,9 % Schwäche der Gliedmaßen und 5 % der Personen gaben eine sensorische Störung als Symptome an (Jungehülsing, 1994). Im Gegensatz zu Männern treten bei Frauen häufiger Schmerzen oder Bewusstseinsstörungen auf (Labische, 2002). Die Symptome einer zerebrovaskulären Erkrankung können von neurologischen Ausfällen bis hin zum Koma reichen, andererseits können sie aber auch so gering ausfallen, dass der Patient ihnen keine Beachtung schenkt (Oppenheimer S. & V.; Hachinski, 1992). Der Verlauf der Symptome kann konstant sein, sich aber auch schrittweise verschlechtern oder rasch verbessern.

Anhand von bildgebenden Verfahren wie der Computertomografie (CT) oder Magnetresonanztomografie (MRT) kann zwischen Minderdurchblutung und Blutung unterschieden werden. Hervorzuheben ist, dass in den ersten Stunden nach Auftreten ein primär ischämischer Infarkt bei beiden Bildgebungsmethoden unauffällig sein kann. Der Verdacht einer Subarachnoidalblutung kann vor allem bei milder Symptomatik wie zum Beispiel alleinige Kopfschmerzen durch den Nachweis von Blutbestandteilen im Liquor nachgewiesen werden.

Für den Erfolg der Behandlung ist eine sofortige medizinische Versorgung innerhalb der ersten 6 Stunden entscheidend. Die schnelle Therapie wird aber dadurch erschwert, dass viele Betroffene und deren Angehörigen, vor allem Personen im Rentenalter, die Symptomatik des Schlaganfalls nicht ausreichend kennen (Weltermann *et al*, 2000).

#### **1.2.4 Psychische Veränderungen nach einem Schlaganfall**

Neben den körperlichen Folgen kommen auch emotionale Beeinträchtigungen bei den Betroffenen vor. Der Schlaganfall stellt ein Lebensereignis dar, welches lebensbedrohlich ist und mit meist bleibenden Behinderungen bewältigt werden muss. Schon in den 30iger Jahren wurde von Goldstein (1939) die „Katastrophenreaktion“ beschrieben. Mit diesem Konzept umschrieb er ganz bestimmte emotionale Reaktionsformen wie Weinen, Frustration, negative Einstellung und Feindseligkeit nach vorwiegend linkshemisphärischer Hirnschädigung. Die erste systematische Untersuchung zu solchen emotionalen Veränderungen nach Hirnläsionen führte Gainotti (1972) durch. Dieser Beobachtung nach traten die „Indifference reactions“ häufiger bei rechtshemisphärischen Störungen auf, und die „Catastrophic reactions“ und „depressive mood“ bei linkshemisphärischen Läsionen

---

### **neuropsychologische Syndrome**

z. B. Aphasien, Apraxien, Störungen der räumlichen Leistung und des Körperschemas, Aufmerksamkeits- und Konzentrationsstörung, Lern- und Gedächtnisstörung

### **organisch-psychische Störungen**

z. B. affektive Instabilität, pathologisches Lachen und Weinen, Angst- und Panikattacken, Demenz, Frontalhirnsyndrom

### **reaktiv-psychische Störungen**

z. B. depressive Störung, Angststörung

---

**Tab. 1-1** Ursachen für mögliche psychische Veränderungen als Folge eines Schlaganfalls (aus „Stadien der Krankheitsverarbeitung nach einem Schlaganfall „Hager, Ziegler, 1998)

In diesem Bereich können zwei Hypothesen unterschieden werden (Herrmann M., 1991):

1. Endogen, wenn die emotional- affektiven Veränderungen die direkte kausale Folge struktureller und/ oder funktional- metabolischer Defekte nach zerebralen Durchblutungsstörungen sind.
2. Exogen, wenn die psychischen Veränderungen eine Folge der Auseinandersetzung des Patienten mit seinem veränderten Gesundheitszustand infolge neurologischer und neuropsychologischer Dysfunktion sind.

Gainotti, Azzoni, Lanzilotta *et al.* (1997) stellten fest, dass Patienten mit einer funktionalen Depression häufiger die „unmotivierten“ Symptome wie depressive Stimmung, Schuldgefühle, Selbstmordgedanken, Anhedonie und das Auftreten der depressiven Stimmung am frühen Morgen zeigten, was die Symptome einer Minor- Depression sind. Dagegen zeigten Patienten einer mit einer Major- Depression poststroke häufiger die „motivierten“ Symptome (Angst, Catastrophic Reaction, Hyperemotionalismus und das Auftreten depressiver Stimmungen in Situationen, in denen die eingeschränkte Funktionsfähigkeit bewusst wird). Bereits während der ersten Wochen nach dem Infarkt entwickelt sich bei 30- 40 % der Patienten eine Depression, die sogenannte „poststroke Depressi-

on“ (PSD) (Huff *et al.* 2001; Kronenberg *et al.*, 2006). Es ist die häufigste emotional- affektive Störung nach einem Hirninfarkt. Ein Häufigkeitsgipfel der PSD wird nach 3 - 6 Monaten erreicht und ein Viertel der betroffenen Patienten verbleibt unbehandelt auch nach 2 Jahren depressiv. Zudem tritt eine PSD entweder als Major-Depression, etwa in 20-25 % der Fälle, oder als Minor-Depression, ca. 10 - 20 %, der Fälle auf (Huff *et al.*, 2003). Der Zusammenhang zwischen dem zerebrovaskulären Ereignis und den psychischen Veränderungen des Patienten ist bis heute noch nicht erwiesen.

In mehreren Studien konnte eine Komorbidität der Depression mit Angststörungen nachgewiesen werden (Wittchen, H.-U. & Perkonigg, A.,1996). Eine Angststörung scheint ein wichtiger Risikofaktor für die Entwicklung einer depressiven Störung, denn bei 24-88 % der Patienten mit einer solchen Störung trat im Verlauf eine Major Depression auf.

Zur Erklärung dieser Abläufe gibt es 2 Hypothesen: Die „Kathecholamin- Defizit-Hypothese (Schildkraut, 1965) und die „Serotonin- Hypothese (Coppen und Doogan, 1988). Die Kathecholamin- Hypothese setzt am Punkt der zentralnervösen Reizübertragung an. Sie besagt, dass es durch einen Mangel an Neurotransmittern, wie Norepinephrin, an den wichtigen Stellen der zentralnervösen Reizübertragung, zu einem funktionalen Defizit und daraus resultierend zu Depressionen kommt. Es ist noch nicht geklärt, ob der generelle Mangel an Noradrenalin, die Störung der Empfindlichkeit von post- und präsynaptischen Rezeptoren oder ein gestörter Regulationsmechanismus noradrenerger Synapsen für die Entstehung der Gefühlsstörungen verantwortlich ist. Die Noradrenalinsynthese findet im Locus Coeruleus, welcher für die Verarbeitung neuer Reize und die Modulation des Antriebs- und Aktivitätsniveaus verantwortlich ist. Von dort aus wird ein Netz aus Phasenverbindungen über das Zentralnervensystem an den Hippocampus, den Hypothalamus und die Cortex gesendet.

Die „Serotonin-Hypothese“ bezieht sich auf die niedrige Konzentration von Serotonin als mögliche Ursache einer depressiven Störungen. Regionen, die an der Entstehung depressiver Symptome beteiligt sind, wie zum Beispiel die Amygdala, der Hypothalamus und die kortikale Region weisen das serotonerge System auf.

Ein anderes bereits genanntes Symptom nach einem Schlaganfall ist die Gedächtnisstörung, die Amnesie. Sie gehört zu den häufigsten Folgen von Hirnschäden (Brand und Markowitsch, 2007). Es ist bekannt, dass für die Einspeicherung und den Abruf von autobiographisch-episodischer Gedächtnisinhalte die Strukturen des limbischen Systems vorrangig zuständig sind. Dazu gehören die Hippocampusformation, die Amygdala und Teile des Thalamus sowie Strukturen des Stirnhirns. Diese Regionen werden auch häufig als „Flaschenhalsstrukturen“ im Bezug auf Gedächtnisprozesse bezeichnet (Brand und Markowitsch, 2003; 2006,). Es sind zahlreiche Patienten mit einer retrograden Amnesie nach einem akuten Hirnschaden beschrieben worden. Die Ergebnisse zeigen, dass eine einseitige Läsion bereits zu einer erheblichen Einschränkung des Gedächtnisses (Batchelor *et al.*, 2008) führt.

### **1.2.5 Pathophysiologie**

Das Gehirn eines Erwachsenen Menschen wiegt etwa 1,5 kg und macht damit nur etwa 2 % des Gesamtkörpergewichts aus. Es wird mit 15 % des Herzminutenvolumens versorgt und erhält ca. 20 % des Gesamtsauerstoffbedarfs und ca. 60 % des Gesamtglucoseumsatzes eines ruhenden Menschen. Durch unterschiedliche Regulationsmechanismen kann die aufwändige Versorgung aufrechterhalten werden. Eine konstante Durchblutung, bei der ein Perfusionsdruck zwischen 70 und 140 mmHg herrscht, wird durch die Autoregulation der Gefäßweite aufrechterhalten. Somit kommt es bei einem Blutdruckanstieg zu Vasokonstriktion und bei einem Blutdruckabfall zur Vasodilatation der Hirngefäße. Nach demselben Prinzip beeinflussen die Partialdruckänderungen der Blutgase als metabolische Einflussfaktoren die Gefäßweite. Eine Dilatation wird bei  $p\text{CO}_2$ -Erhöhung und  $p\text{O}_2$ -Erniedrigung, eine Konstriktion bei  $p\text{CO}_2$ -Erniedrigung und  $p\text{O}_2$ -Erhöhung erreicht. Unter physiologischen Bedingungen nimmt das autonome Nervensystem so gut wie keinen Einfluss auf intrazerebrale Gefäße, es greift jedoch bei plötzlichen intravasalen Druckveränderungen ein und reguliert somit die Blutversorgung. Sympathikus und Parasympathikus greifen an den proximalen Arterien an und konstringieren bzw. dilatieren bei schnellen

Blutdruckanstieg bzw.- abfall. Pro Minute werden 100 g Hirngewebe mit etwa 60 ml Blut versorgt, sollte die Durchblutung unter 30 % der Normalversorgung sinken, kommt es zur relativen Ischämie im betroffenen Bereich. Diese Minderdurchblutung macht sich durch den Ausfall neurologischer Funktionen bemerkbar, verursacht jedoch zunächst keine morphologischen Gewebsveränderungen und kann bei baldiger Normalisierung zur vollständigen Erholung des Gewebes führen. Die Erholung des Gewebes bleibt aus, je länger die Unterversorgung anhält. Sinkt die Durchblutung eines Areals auf unter 15 % des physiologischen Wertes ab, kommt es infolge einer totalen Ischämie zu einer irreversiblen Schädigung der Nervenzellen im Kerngebiet der Infarktzone, im „ischämischen Kern“. Dieser Kern ist von einer Region mit eingeschränkter Perfusion umgeben. Dieser Bereich zwischen ischämisch infarziertem und noch erholungsfähigem Gewebe wird als „ischämische Penumbra“ bezeichnet. Sie ist ein Bereich mit unterdrückter metabolischer Kapazität, wo jedoch die Zerstörung nicht unvermeidbar ist (Astrup *et al.*, 1977; Olsen, 1986). Dieser Bereich ist das Zielgebiet der Therapeutischen Ansätze.

Ein völliger Ausfall der Hirndurchblutung führt binnen 10-15 Sekunden zur Bewusstlosigkeit und nach 7-10 Minuten zur irreversiblen Schädigung des Gehirns (Krzovska, 2006). Ursächlich schädigend ist dabei immer der Energiemangel infolge einer Ischämie oder durch eine Kompression benachbarter Gefäße aufgrund von Blutungen. Der Energiemangel führt zu zellulären Akkumulation von  $\text{Na}^+$  und  $\text{Ca}^+$  sowie zu einer Zunahme der zellulären  $\text{K}^+$ -Konzentration aufgrund einer Hemmung der  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase und somit zu Depolarisation. Diese führt zu  $\text{Cl}^-$ -Einstrom, Zellschwellung und Zelltod. Diese führt zu  $\text{Cl}^-$ -Einstrom, Zellschwellung und Zelltod. Weiterhin wird die Ausschüttung von Glutamat gefördert, was durch ein erhöhtes Einströmen von  $\text{Na}^+$  und  $\text{Ca}^+$  den Zelltod beschleunigt. Die Freisetzung vasokonstriktorischer Mediatoren, die Zellschwellung und die Verlegung der Gefäßlumina durch Granulozyten verhindern die Reperfusion trotz primärer Behebung der Ursachen. Das Infarktzentrum ist nach einem thromboembolischen Gefäßverschluss fast vollständig von der Sauerstoff (Hypoxie)- und Energieversorgung abgeschnitten. Der Zelluntergang

führt zu einer Entzündung, durch die auch die Zellen in der Penumbra geschädigt werden. Je nach Lokalisation der Durchblutungsstörung zeigt sich eine spezifische Symptomatik (Silbernagl, 2005).

### 1.3 Hypoxie

Eine zerebrale Hypoxie tritt dann auf, wenn das Sauerstoffangebot ( $O_2$ ) den Sauerstoffbedarf ( $CO_2$ ) der Nervenzelle nicht deckt. Dieses Missverhältnis entsteht entweder durch eine verminderte Zufuhr von Sauerstoff zum Neuron, oder durch einen über das Normale erhöhten Bedarf von Sauerstoff des Neurons. Die Ursachen für einen erhöhten Sauerstoffbedarf sind z.B. Fieber, Stress oder Krampfanfälle. Die Ursachen eines verminderten Sauerstoffangebotes sind vielschichtiger z.B. arterielle Hypotonie, Hirndruckanstieg, artifizielle Hyperventilation, Vasospasmus, Anämie oder arterielle Hypoxie durch respiratorische Insuffizienz. Als das stoffwechselaktivste Organ im Körper benötigt das Gehirn eine dauerhafte Versorgung mit Sauerstoff. Bei einer durchschnittlichen Hirndurchblutung von 50 ml/100 g Hirngewebe in der Minute benötigt ein wacher Mensch unter normalen Bedingungen annähernd 3,5 ml  $O_2$  sowie 27  $\mu$ mol Glukose/100 mg Hirngewebe pro Minute (Kuschinsky, 1991). In Relation zum Gesamtkörpergewicht nimmt das zentrale Nervensystem (ZNS) insgesamt 20 % des menschlichen Sauerstoffbedarfs in Anspruch bei nur 2 % des Gewichts (Gisvold und Haraldsteht, 1989; Gibson *et al.*, 1981).

Während Glukose und Energie in Form von Adenosintriphosphat (ATP) und Phosphokreatinen vom Gehirn gespeichert werden können, gibt es für Sauerstoff jedoch kaum diese Möglichkeit. Je nach Dauer und Ausprägung des Sauerstoffmangels kommt es zu unterschiedlicher neuronaler Schädigung.

Bei der Hypoxie laufen auf zellulärer Ebene gleichförmige pathobiochemische Vorgänge ab. Der Sauerstoffmangel führt zum Zusammenbruch der Atmungskette und dadurch zu einem ATP-Mangel. Die ATP- Vorräte sind nach einer 20 s (Kempski, 1994) bzw. 15 sec (Hamann, 1997) dauernden Ischämie bereits vollständig verbraucht was zu auf diverse Weise zu einer Zellschädigung führt.



Die Anhäufung von Laktat und Pyruvat, als direkte Folge der O<sub>2</sub>- Mangel bedingten anaeroben Glykolyse, führen zu einer intra- und extrazellulären Azidose (Hossmann, 1987; Siesjö, 1992). Hinzu kommt es zum Zusammenbruch der Ionenhomöostase, da die energieabhängigen Ionentransporter, wie die Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-Pumpe und die Ca<sup>2+</sup>-H<sup>-</sup>-Pumpe, nicht mehr arbeiten können, was zum Einstrom von Na<sup>+</sup> und Cl<sup>-</sup> führt und damit zur Ausbildung eines massiven Zellödems. Des Weiteren kommt es zu einer Störung der Wiederaufnahme von Glutamat in die präsynaptischen Neurone und die Gliazellen (Siesjö, 1992; Hossmann, 1987). Glutamat häuft sich im synaptischen Spalt an und führt, über die Aktivierung von N-Methyl-D-Aspartat (NMDA-), α-Amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazol-Propionsäure (AMPA)/Kainat- und spannungsabhängigen Kalziumkanälen, zu einem Einstrom von Kalzium in die postsynaptischen Neurone. Dadurch wird ein intrazellulärer Anstieg von Ca<sup>2+</sup> und Na<sup>+</sup> bewirkt. Die hohen intrazellulären Na<sup>+</sup>-Konzentrationen führen dazu, dass der Na<sup>+</sup>-Ca<sup>2+</sup>-Austausch in umgekehrter Richtung (normalerweise werden 3 Na<sup>+</sup> aus dem Extrazellularraum gegen 1 Ca<sup>2+</sup> aus dem Intrazellularraum ausgetauscht) verläuft und so steigt der intrazelluläre Ca<sup>2+</sup>-Gehalt weiter an. Hinzu kommt es durch weitere Aktivierung von Glutamatrezeptoren zur Öffnung intrazellulärer Kalziumspeicher (Zivin *et al.*, 1991). Durch den hohen intrazellulären Ca<sup>2+</sup>-Gehalt werden eine Reihe von Enzymen, z.B. Phospholipasen, Kinasen (PKc), Calpain, Endonukleasen und NO-Synthase aktiviert (Siesjö, 1993; Hamann., 1997). Die Aktivierung einer intrazellulären Protease (Calpain) führt zur Zerstörung des Strukturproteins Spektrin und des Zytoskeletts. Zusätzlich wandelt Calpain das Enzym Xantin-Dehydrogenase in Xantin-Oxidase um, wodurch freie Radikale entstehen (Traystman *et al.*, 1991).

Wie bereits es bei erwähnt, kommt einem Schlaganfall zu Schädigung der Gehirnzellen aufgrund von Hypoxie und Ischämie. In mehreren Studien konnte bisher bewiesen werden, dass spreading depression ein Marker für den Schweregrad der Ischämie ist (Koroleva und Bures, 1996; Koroleva *et al.* 1998). Es

verschwindet in kortikalen Regionen, in denen die neuronale Dichte durch Ischämie reduziert wurde, und kann dazu benutzt werden eine verzögerte Erholung oder eine Verschlechterung in der Penumbra nach Ischämie einzuschätzen. (Koroleva and Bures, 1996; Koroleva *et al.*, 1998). Spreading Depression (SD) ist ein vorübergehendes reversibles Phänomen mit charakteristischen Ionen-, Stoffwechsel- und hämodynamischen Veränderungen, welches bereits seit über 55 Jahren bekannt ist. Anhand ausreichender Beweise spielt SD eine wichtige Rolle bei einigen Erkrankungen, einschließlich Migräne, zerebrovaskuläre Erkrankungen und Kopfverletzungen (Gorji, 2001)

#### **1.4 Amygdala - Anatomie und Physiologie**

Die Amygdala, auch Corpus amygdaloideum oder Mandelkern genannt, ist ein Teil der Neocortex, dem entwicklungsgeschichtlich jüngsten Teil des Großhirns. Sie ist paarig, also in beiden Gehirnhälften, vorhanden und liegt im vorderen Drittel des Temporallappens.

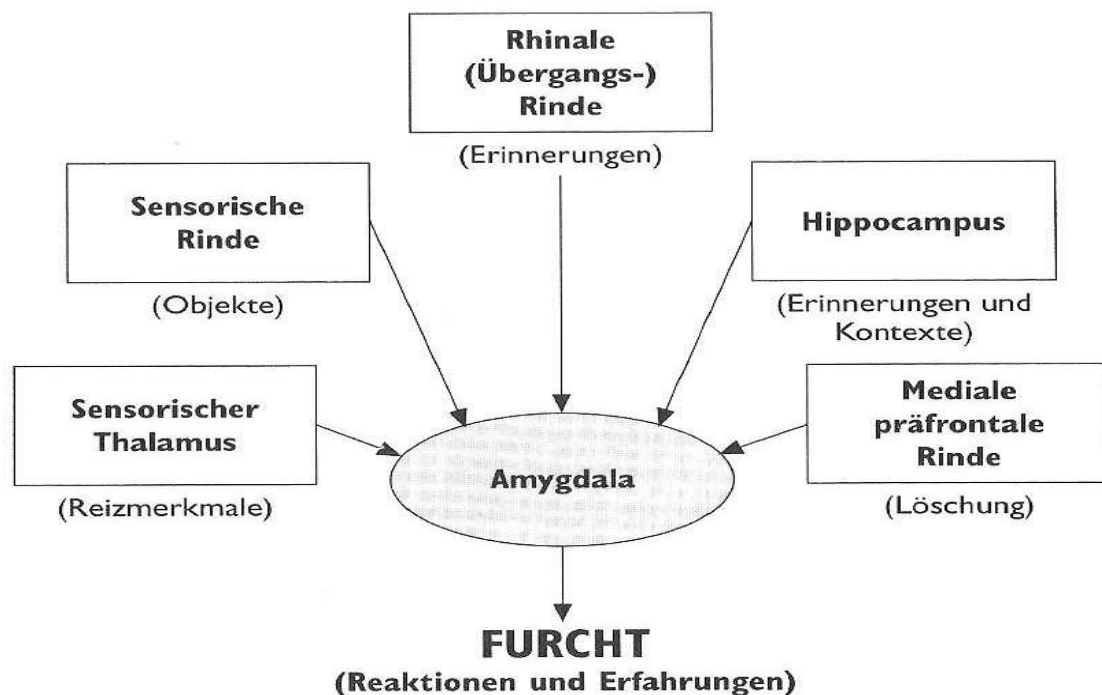
Es können histologisch 10 Kerngebiete innerhalb der Amygdala voneinander abgegrenzt werden, in die schon stark bearbeitete sensorische Informationen aus allen Sinnesbereichen, bis auf den Bulbus olfactorius, einfließen. Sie kann in eine basolaterale, mediale und zentrale Kerngruppe, die vornehmlich mit der Schmerzlosigkeit (Manning und Mayer, 1995; Werka, 1997) verbunden wird, eingeteilt werden. Sie erhält Afferenzen (Inputs) sowohl aus polymodalen Cortexarealen, als auch aus unimodalen Gebieten des visuellen, auditorischen, somatosensorischen oder gustatorischen Systems (LeDoux, 1993) (Abb. 1-1). Diese Afferenzen sind hoch prozessiert und erreichen hauptsächlich den basolateralen Kernkomplex. Die zentrale Amygdala erhält Afferenzen aus den Trigeminskernen (Jasmin *et al.*, 1997) und entsendet efferente Fasern in das und durch das Mittelhirn, die Pons und das Rückenmark und innerviert unterschiedliche Areale (Mehler, 1980). Weitere efferente Fasern führen über die Stria terminalis zum Hypothalamus und durch den ventralen amygdofugal tract zum Hirnstamm, dort nehmen sie hormonellen und somatomotorischen Einfluss auf

das Verhalten und die Emotionen wie zum Beispiel das Essen, Trinken, Erregung oder den Sexualtrieb (Amaral *et al.*, 1992; TerHorst *et al.*, 1989).

Die Amygdala hat ebenfalls starke Verbindungen über den Thalamus zum orbitofrontalen Cortex, welcher eine entscheidende Rolle bei der Entscheidungsfindung und bei Prozessen des Planens hat. Außerdem steht die Amygdala mit Strukturen, die an Aspekten von Gedächtnis und Aufmerksamkeit Anteil haben, in Verbindung. Dazu gehören der Hippocampus, das basale Frontalhirn und die Basalganglien.

Die zentrale Amygdala spielt zusätzlich eine besondere Rolle bei der Entstehung der Angst (Pape & Stork, 2003). Die Informationen kommen vom Thalamus und sensorischer Cortex zum Nucleus lateralis der Amygdala, wo sie weiter verknüpft werden. Währenddessen löst der Nucleus centralis die Angstantwort in verschiedenen Effektorsystemen aus. Um den Reizkontext zu definieren, das bedeutet die Konditionierung auf eine Situation zu begrenzen, ist die Mitbeteiligung von Hippocampus gefordert (Speckmann *et al.*, 2008).

Funktionell steht die Amygdala mit einigen umgebenden Strukturen in Verbindung, die zusammen als das „Limbisches System“ bezeichnet werden. (Trepel, 2004).



**Abb. 1-1** Afferenzen zur Amygdala (LeDoux 1996)

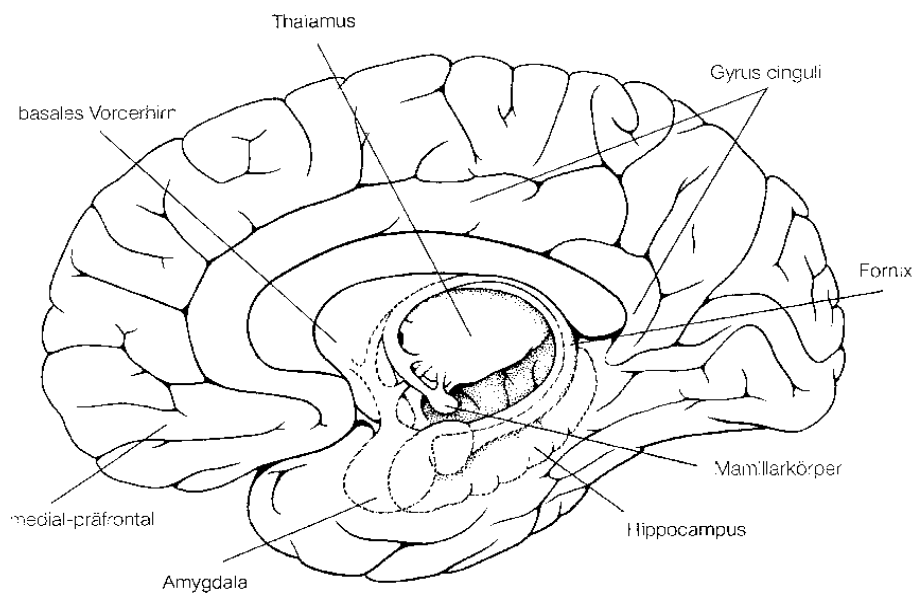
Eine Zerstörung beider Amygdalae führt zum Verlust von Furcht- und Aggressionsempfinden und so zum Zusammenbruch der mitunter lebenswichtigen Warn- und Abwehrreaktionen. Es wurde herausgefunden, dass das Urteilsvermögen bei Patienten mit einem bilateralen Amygdalascaden beeinträchtigt ist. Sie können Emotionen anhand von Mimik nicht mehr richtig beurteilen (Adolphs *et al.*, 1998; 1994). Bei Dysfunktion der Amygdalae zeigten Patienten unterschiedliche Beschwerden: Von sozialer Angst (Birbaumer *et al.*, 1998), über Depressionen (Drevets, 2000), bis hin zu Autismus (Bachevalier, 1994; Baron-Cohen *et al.*, 2000; Bauman und Kemper, 1993).

## 1.5 Hippocampus

### 1.5.1 Anatomie und Physiologie

Der Hippocampus befindet sich im Temporallappen an der medialen Wand des Seitenventrikels und ist eine zentrale Schaltstation des limbischen Systems.

Der Hippocampus besteht aus dem so genannten Ammonshorn (Cornu ammonis), mit den vier zytologischen Zonen C1-C4, aus dem durch die hippocampale Fissur davon getrennten Gyrus dentatus, und aus dem Subiculum. Diese Elemente sind durch komplexe intrinsische Verbindungen miteinander verschaltet. Neben der hippocampalen Formation enthält der mediale Temporallappen weitere Strukturen: Den parahippocampalen und entorhinalen Cortex, den retrosplenialen und perirhinalen Cortex und das Presubiculum.



**Abb. 1-2** Medialer Temporallappen (aus: Kolb und Wishaw, 1993)

Afferenzen erhält der Hippocampus in erster Linie als Tractus perforans über die Regio entorhinalis aus Isocortex, Riechhirn und Amygdala. Weitere afferente Fasern entstammen aus dem Thalamus, dem Gyrus cinguli, dem Septum und verschiedenen Hirnstammkernen.

Die Efferenzen verlaufen hauptsächlich durch den Fornix und verknüpfen den Hippocampus mit Septum, Hypothalamus, Amygdala, und Corpora mamillaria. Durch die aufgezählten Verknüpfungen kann der Hippocampus als polysensorisches assoziatives Zentrum angesehen werden. Er steht mit viszeralen, endokrinen und kognitiven Arealen des Cortex in Verbindung, woher er sensorische Informationen unterschiedlichster Qualitäten erhält. Als Teil des limbischen Sys-

tems ist der Hippocampus in wichtige Bahnsysteme eingebunden, hervorgehoben sei hier der Papez-Neuronenkreis. Dieser verläuft vom Hippocampus über den Fornix zum Corpus mamillare. Von dort projizieren die Neurone über den Fasciculus mamillothalamicus zum Thalamus und weiter zum Gyrus cinguli. Ein Teil der Neuronenfasern führt dann zurück zum Hippocampus, und schließt damit den Kreis.

Funktionell wird diesem Neuronenkreis eine entscheidende Bedeutung bei der Langzeitspeicherung von Gedächtnisinhalten beigemessen, deren zentrale Komponente der Hippocampus darstellt. Man konnte nachweisen, dass der Hippocampus in der Lage ist, neue Verbindungen zwischen den bereits bestehenden Nervenzellen auszubilden, die sogenannte "Synaptische Plastizität". Schon 1949 wurde von dem kanadischen Psychologen Donald Hebb dieser Prozess definiert. Es besagt, dass „wenn ein Axon des Neurons A nahe genug an einem Neuron B liegt, so dass die Zelle B wiederholt oder anhaltend von Neuron A erregt wird, so wird die Effizienz von Neuron A für die Erregung von Neuron B durch einen Wachstumsprozess oder eine Stoffwechseländerung in einem der Neurone oder in beiden erhöht“.

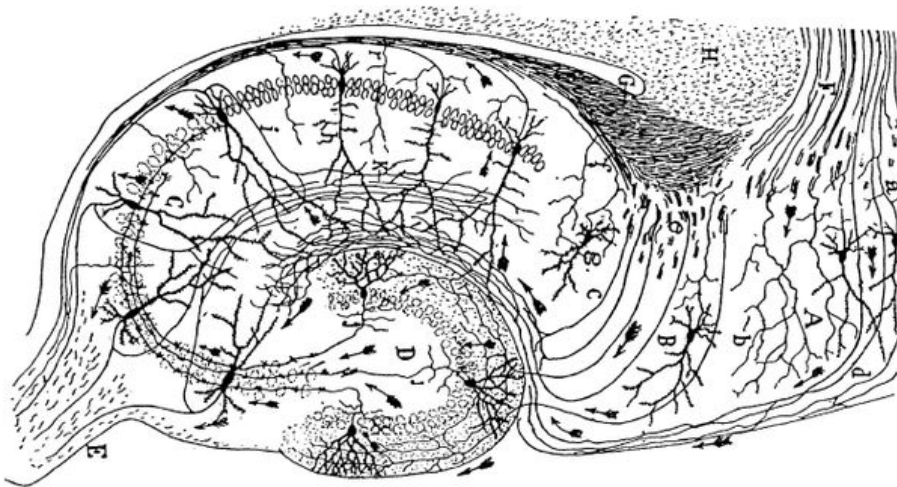
Offenbar spielen dabei spezielle Glutamat-Rezeptoren (NMDA-Rezeptoren) eine Rolle, die im Hippocampus in hoher Dichte vorliegen und an der Langzeit-Potenzierung beteiligt sind (Wernsmann *et al.*, 2006). Die Rolle des Hippocampus bei Gedächtnis und Lernen ist gut etabliert, ebenso dessen Mitwirkung bei Verhalten und Angstentstehung (Bannerman *et al.*, 2004).

Außerdem steht der Hippocampus in direkter und wichtiger funktioneller Interaktion mit Hirnarealen, die im Zusammenhang mit der Entstehung von Migräne, Visionen, Emotionen und neuroendokriner Homöostase stehen (Vaisanen *et al.*, 1999).

Zusammenfassend spielen die Strukturen des medialen Temporallappens eine wichtige Rolle bei der Entwicklung von somatosensorischen und neuropsychotischen Symptomen und bei neurologischen Erkrankungen wie Migräne und Epilepsie (Eid *et al.*, 1995).

### 1.5.2 Histologie

Histologisch zeigt der Hippocampus eine charakteristische Schichtung, bei der die Axone und der Dendritenbaum das Stratum radiatum bilden, und die Zellkörper der Neurone im Stratum pyramidale liegen (Johnston *et al.*, 1996). Im Stratum radiatum befinden sich neben den glutamatergen Pyramidenzellen auch die Interneuronen. An der Pyramidenzellschicht liegt das breite Stratum radiatum und das schmale Stratum lacunosum-moleculare an. Das Stratum oriens liegt innenwändig an und enthält die Zellkörper der hemmenden Korbzellen. In tangentialer Richtung wird der Hippocampus in die CA1-CA4 Regionen unterteilt. In der CA1-Region stehen die Pyramidenzellen zueinander über die glutamatergen Schaffer-Kollateralen in Verbindung. Diese stark vernetzte Verschaltung innerhalb des Hippocampus bildet die Grundlage für das deklarative Gedächtnis (Ramon y Cajal, 1968).



**Abb.1-3** Zeichnung der neuronalen Verbindungen eines Nagetier-Hippocampus (Santiago Ramon y Cajal, 1911)

## **1.6 Neocortex - Anatomie und Physiologie**

Aufgrund seiner Entwicklungsgeschichte und seiner histologischen Struktur und Funktion wird der Neocortex in drei unterschiedliche Regionen unterteilt: in Neocortex, in Archicortex, mit der Hippocampusformation, und in Paläocortex (Speckmann *et al.*, 2008). Der Neocortex besteht in vertikaler Richtung aus engen Ketten von über 80-100 Neuronen, die sich durch die zellulären Schichten II-IV senkrecht zur Oberfläche ziehen (Mountcastle, 1997). Diese Kolumnen enthalten alle wichtigen neuronalen Zellarten, die sowohl vertikal als auch horizontal miteinander verbunden sind. Jede solcher Kolumnen ist als komplexe Einheit für die Verarbeitung und Verteilung von Informationen zuständig. Hier werden Afferenzen durch sich überlappende Verarbeitungsketten zu Efferenzen weiter verschaltet (Goda *et al.*, 2008).

Die Funktionen der Großhirnrinde werden als motorisch, sensorisch, assoziativ, amnestisch und integrierend bezeichnet. Die einzelnen Regionen des Cortexes treten, abhängig von der Art und der Komplexität der zu bewältigenden Aufgabe, in Abstimmung miteinander in Aktion. Durch die komplexe Verknüpfung der Fasern zwischen den einzelnen Rindengebieten erklärt sich, warum nach einer Läsion des Gehirns zeitabhängig eine gewisse Restitution der ausgefallenen Hirnfunktionen möglich ist. Durch Umschaltung auf noch intakte Bahnsysteme und entsprechender Einübung kann es je nach Schweregrad der Läsion zu einer Verminderung der Schadensausprägung kommen.

## **1.7 Elektrophysiologie**

### **1.7.1 Synaptische Übertragung**

Die Modulation der synaptischen Übertragungsstärke führt zur Bildung von Assoziationsmustern und deren Speicherung. Die Aktionspotentiale, die der Informationsausbreitung innerhalb eines Neurons zugrundeliegen, beruhen in jeden Fall auf Potentialveränderungen der Nervenzellmembran. Hier werden die



Aktionspotentiale hauptsächlich durch spannungsabhängige Na<sup>+</sup>-Kanäle ausgelöst (Greger, 1996).

Die Signalübertragung im Gehirn erfolgt primär über chemische Synapsen durch Transmitter-Ausschüttung. Diese Art der Übertragung erfolgt indirekt und undirektional. Die Transmitter werden in Vesikeln in den präsynaptischen Nervenendigungen gespeichert, und in Folge eines ankommenden Aktionspotentials und damit verbundener stark erhöhten Ca<sup>+</sup>-Konzentration in den präsynaptischen Spalt freigesetzt. Von dort aus können sie an spezifische Rezeptoren der postsynaptischen Membran binden und verursachen einen Ionenstrom. Dieser Ionenstrom führt zu einer Veränderung des postsynaptischen Membranpotentials (Klinke *et al.*, 1996). Man kann zwischen exzitatorischen (erregenden) und inhibitorischen (hemmenden) Neurotransmittern unterscheiden.

Bindet ein exzitatorischer Transmitter, wie zum Beispiel Glutamat, an einen spezifischen Rezeptor, kommt es an der postsynaptischen Membran zu einem Kationen-Einstrom und damit zur Ausbildung eines exzitatorischen postsynaptischen Feldpotentials (fEPSP). Bei der Überschreitung eines bestimmten Schwellenwertes in depolarisierender Richtung kommt es zur Auslösung eines Aktionspotentials. Bindet dagegen ein inhibitorischer Transmitter, zum Beispiel Gamma-aminobutyric-acid (GABA), an einem spezifischen Rezeptor, kommt es an der postsynaptischen Membran zu einem Chlorid-Einstrom und einem inhibitorischen postsynaptischen Potential (IPSP). Durch die postsynaptischen Hyperpolarisation wird die Entstehung eines Aktionspotentials verhindert (Klinke *et al.*, 1996).

### **1.7.2 Synaptische Plastizität**

Neuronale Plastizität ist die Grundlage für die regelgerechte Entwicklung und Funktion des zentralen Nervensystems (ZNS). Die Verarbeitung und Speicherung von Informationen im ZNS geschieht durch die Modulation der synaptischen Effizienz. Die Veränderungen der synaptischen Transmission können transient oder persistent sein. Kurzfristige Veränderungen der synaptischen

Transmission, die nur wenige Millisekunden anhalten, werden als Kurzzeitplastizität beschrieben. Sie kann mit kurzanhaltenden Adaptationsprozessen sensorischer Informationen oder mit Veränderungen des Kurzzeitgedächtnisses assoziiert sein.

Unter Langzeitplastizität werden Veränderungen zusammengefasst, die Minuten bis Tage andauern. Sie spielen eine Rolle beim Langzeitgedächtnis, Lernen, Habituation und Aversion-/Appetenz-Entwicklung (Bliss und Collingridge, 1993) und sind ebenfalls bei der Schmerz-Chronifizierung von Bedeutung (Hunt und Mantyh, 2001). Eine wesentliche Eigenschaft erregbarer Synapsen des ZNS ist die Fähigkeit zur Ausbildung einer aktivitätsabhängigen, lang andauernden Verstärkung synaptischer Aktivität. Dieses Phänomen wird als LTP (long-term potentiation) bezeichnet. Es kann dazu benutzt werden, die große Anzahl an dauerhaften Veränderungen, zu denen bestimmte Synapsen in der Lage, sind aufzuzeigen (Wernsmann *et al.*, 2006). Die Langzeitverstärkung kommt im gesamten zentralen Nervensystem (Amygdala, Hippocampus, Neocortex, Cerebellum, Rückenmark) vor (Bliss und Collingridge, 1993; Linden, 1994; Malenka, 1995). Neben der Steuerung der Sensorik und Wahrnehmung spielt die Langzeitverstärkung auch eine wichtige Rolle für die Vermittlung von Lernen und Gedächtnis (Malenka und Bear, 2004).

Die LTP wurde erstmals 1973 von Bliss und Lomo im Hippocampus beschrieben. Bis heute sind die Mechanismen der LPT in der CA1-Region des Hippocampus gut untersucht. Es ist möglich LTP experimentell in-vivo wie auch in-vitro zu erfassen. Bei den in-vitro Versuchen werden Elektroden auf geeignete Weise platziert (siehe Versuchsaufbau). Appliziert man über die Reizelektrode einen kurzen höher-frequenten (100 Hz) Stimulus, sind die synaptischen Antworten daraufhin typischerweise dauerhaft vergrößert. Die Induktion von LTP benötigt in der Regel die Aktivierung von postsynaptischen NMDA-Rezeptoren und den dadurch bedingten Einstrom von Kalzium in das postsynaptische Neuron. Die NMDA-Rezeptoren sind beim Ruhemembranpotential durch Magnesium blockiert. Diese Blockade kann nur aufgehoben werden, wenn die postsynaptische Zelle ausreichen depolarisiert wird. Entfällt diese Blockade, strömt  $\text{Ca}^+$  in die Postsynapse ein (Tsumoto, 1992; Bear und Malenka, 1994; Jodar

und Kaneto, 1995) und setzt mit der erhöhten Konzentration von  $\text{Ca}^+$  eine Kaskade in Gang. Dabei werden bestimmte Proteinkinasen aktiviert, die über intrazelluläre Phosphorylierung der AMPA-Rezeptoren, deren Aktivität und damit die Glutamat-vermittelte synaptische Übertragung verstärken. Durch den  $\text{Na}^+$ -Einstrom und einen  $\text{K}^+$ -Ausstrom kommt es zu Depolarisation, welche das an der Postsynapse ableitbare EPSP bildet.

Aufgrund der dadurch erhöhten postsynaptischen Aktivität, kommt es zu längerfristigen Veränderungen, die u. a. auf Protein-Expressions-Ebene stattfinden und der weiteren Aufrechterhaltung der LTP zugrundeliegen (Bailey *et al.*, 1996)

Die ersten Versuche in der lateralen Amygdala wurden im Jahre 1990 von Clugnet und LeDoux durchgeführt. Im gleichen Jahr konnte in der horizontalen Schnittebene durch Reizung der externen Kapsel und Verwendung von intrazellulären Ableitungen erstmalig die LTP im lateralen Kern *in vitro* gezeigt werden. Die kortikalen Afferenzen zum basolateralen Komplex erreichen glutamaterge Rezeptoren, die sowohl AMPA- als auch NMDA-Rezeptoren enthalten. Die Analyse synaptischer Ströme hat gezeigt, dass AMPA- und NMDA-Rezeptoren an einzelnen Synapsen vorkommen, die den pyramidalen Neuronen ähnlich sind (Smith & Dudek, 1996). Die Amygdala beinhaltet eine große Anzahl an  $\text{GABA}_a$ -Rezeptoren wobei eine extreme Häufung der Rezeptoren im lateralen Kern auftritt. In Studien konnte gezeigt werden, dass sowohl die AMPA- als auch die NMDA-Rezeptoren durch Antagonisten unterdrückt werden können, wobei dieses an der Ausprägung von LTP deutlich zu sehen war (Watanabe *et al.*, 1995; Bissière *et al.*, 2003). Die Studie von Dehbandi *et al.* von 2008 beschäftigt sich mit dem Einfluss von Inhibitoren wie DL-2-amino-5-phosphonovalerat (APV) und 6-Cyano-7-Nitroquinoxalin-2,3-Dion (CNQX) und cortical spreading depression (CSD) auf die Ausprägung von LTP in der lateralen Amygdala. Diese Studie zeigte, dass die prozentuale Steigerung von EPSP nach LTP und nach der Gabe von Antagonisten, von  $144 \pm 7 \%$  auf  $135 \pm 4 \%$  bei APV und auf  $129 \pm 4 \%$  bei CNQX absank. In dieser Versuchsreihe wurde ebenfalls festgestellt, dass spreading depression die inhibitorische Wirkung der verwendeten Substanzen herabsetzt.

In einer weiteren Studie zur LTP hat Wernsmann *et al.* (2006) die Auswirkung von CSD und LTP in anderen Hirnregionen (Hippocampus und Neocortex) untersucht. Diese Versuchsreihe zeigte eine unterschiedliche Wirkung von CSD auf die hippocampale Aktivität. In kombinierten Schnitten (Hippocampus und Cortex) in denen die Gleichspannung (DC-Negativierung) vom Neocortex nicht zum Hippocampus fortgeleitet wurde, stieg die Amplitude von EPSP und LTP. Erreichte CSD jedoch CA3 wurde EPSP unterdrückt und die Amplitude nach LTP reduziert.

## 1.8 Ziel

Ansatzpunkt dieser Arbeit ist eine Hypoxie im limbischen System und deren möglichen Folgen auf klinischer Ebene. Das Ziel dieser Arbeit ist es, auf synaptischer Ebene die Auswirkung von Hypoxie auf Hippocampus, Amygdala und Neocortex unter Zuhilfenahme von LTP zu untersuchen. Im Fokus steht die Änderung der synaptischen Aktivität nach einer Hypoxie. Die LTP ist ein ausführlich studiertes Phänomen (Chapman *et al.*, 2003) und ist bisher einer der wichtigsten Parameter für die Vermittlung von Lernen und Gedächtnis (Malenka & Bear, 2004). In-vitro wird an Amygdala-Hippocampus-Neocortex-Schnittpräparaten der Maus experimentell Hypoxie hervorgerufen. In diesem vorgeschädigten Gewebe wird LTP ausgelöst und die Veränderung der synaptischen Aktivität elektrophysiologisch aufgezeichnet. Zu Vergleichszwecken werden die LTP-bedingten Veränderungen der synaptischen Aktivität auch an Präparaten ohne Hypoxie-Vorschädigung betrachtet.

Anhand meines Experimentmodells wird die Auswirkung von Hypoxie in diesen Hirnarealen auf die synaptische Aktivität untersucht, um einen möglichen Zusammenhang zwischen zerebrovaskulären Erkrankungen, damit assoziierten emotionalen Folgen und der synaptischen Übertragung darzustellen.

## **2 Material und Methoden**

### **2.1 Versuchsgewebe**

#### **2.1.1 Versuchstiere und Präparationstechnik**

Die vorliegenden Versuche wurden an horizontalen Kombinationsschnitten der Maus durchgeführt. Diese Schnitte enthielten die Strukturen des Hippocampus, der Amygdala, der sensorischen temporalen Neocortex und entorhinalen Cortex. Als Versuchstiere dienten männliche, adulte Mäuse der Stämme C57BL/6 (Harlan Winkelmann) mit einem Gewicht von 26- 28 Gramm.

Die Betäubung der Tiere erfolgte durch eine Inhalationsanästhesie im „Topf“ mit Isofluran (1-chloro-2, 2, 2-trifluoroethyl-difluoromethylether). Dabei wurden 0,2 ml des Inhalationsnarkotikums auf ein Gaze-Tupfer im leeren Topf aufgeträufelt und der Gittereinsatz eingesetzt. Auf diesen wurde das Tier gesetzt und der Deckel geschlossen. Das betäubte Tier wurde mit Hilfe einer Guillotine decapitiert, das Gehirn entnommen und in eine eisgekühlte mit Carbogen (5 % CO<sub>2</sub> in O<sub>2</sub>) begaste Präinkubationslösung (Lsg. 1, Tab. 2-1) gegeben.

Mit einem Vibratom wurden aus dem Gehirn 500 µm dicke horizontale Schnitte hergestellt und in ein Präinkubationsbad mit einer 28 °C warmen und mit Carbogen begasten Lösung (Lsg. 1, Tab. 2-1) überführt wo sie für 60 Minuten blieben. Nach 30 Minuten wurde die Calciumkonzentration der Lösung, durch die Zugabe von 0,45 ml Calciumlösung, von 1 auf 2 mmol/l erhöht.

Für die Tierexperimentellen Untersuchungen lag eine Genehmigung des Regierungspräsidenten Münster von 19.12.2002 vor. Aktenzeichen: 50.0835.1.0 (G79/2002).

## **2.2 Erfassung bioelektrischer Aktivität**

### **2.2.1 Versuchskammer**

Für den Versuch wurde der Schnitt aus dem Präinkubationsbad mit einer Kunststoffsaugpipette in eine Interface-Kammer gebracht, wo es sich an der Grenzfläche zwischen einer flüssigen und gasförmigen Phase befand. Die flüssige Phase bestand aus Yamamoto II-Lösung (Lsg. 2, Tab. 2-1) und umspülte die Schnitte. An der Kammer konnte mit Hilfe von Schaltern die Badlösung sowie die Badbegasung von normoxischen zu „hypoxischen“ Bedingungen umgestellt werden. Die Versuchslösungen gelangten über Teflonschläuche aus den Vorratsgefäßen in die Kammer. Sie passierten dabei eine Tropfenzählkammer mit einer Infrarot-Lichtschranke, wo die Durchflussgeschwindigkeit in Tropfen erfasst wurde. Die Einstellung der Geschwindigkeit konnte an Präzisionstropfenreglern, die zwischengeschaltet waren, eingestellt werden und lag im Bereich von 35-45 Tropfen/min was einer Durchflussgeschwindigkeit von etwa 2 ml/min entspricht. Eine kontinuierliche Begasung der Versuchslösung mit Carbogen, bzw. mit einem N<sub>2</sub>-Gemisch, gewährleistete einen pH-Wert von 7,35-7,5. Die Temperatur im Bad wurde durchgehend mit einer Temperatursonde gemessen und auf 32 °C eingestellt. Die optische Kontrolle der Schnitte erfolgte durch ein über der Kammer angebrachtes Mikroskop.

### **2.2.2 Feldpotentialableitung**

Zur Registrierung der synaptischen Aktivität wurden Feldpotenzial-Ableitungen durchgeführt. Dazu wurden differente Mikroelektroden aus Filamentborosilikatglas mit Hilfe eines Elektrodenziehgeräts hergestellt. Der Außendurchmesser der Elektrode betrug 1,5 mm und der Innendurchmesser 0,87 mm. Die Elektroden spitze wurde mit einer Pinzette so weit zurückgebrochen, dass der Elektrodenwiderstand etwa 0,5 bis 1,5 MΩ betrug. Die Glaselektrode wurde mit der Inkubationslösung (Yamamoto II, Lsg. 2, Tab. 2-1) gefüllt und war über eine KCL-

Brücke mit einem konventionellen Feldpotentialverstärker verbunden. Die Ableitung der Potentiale erfolgte aus drei Hirnregionen:

1. Stratum radiatum der CA1-Region des Hippocampus
2. Laterale Amygdala
3. Neocortex Schicht 3

Die Ableitelektrode wurde mittels eines Mikromanipulators in der entsprechenden Region platziert. Die Stimulation erfolgte durch eine bipolare Reizelektrode. Die Feldpotenzialableitung im Hippocampus erfolgte durch die Stimulation der Schaffer-Kollateralen und konnte im dendritischen Bereich der CA1-Pyramidenzellen als extrazelluläres exzitatorisches postsynaptisches Feldpotential (fEPSP) registriert werden. Das fEPSP sollte keine Aktivität summierter Aktionspotentiale enthalten, die im somatischen Bereich generiert werden. Diese als population-spike (pop-spike) bezeichneten Komponenten stellten keine unmittelbare Aktivität dar. Die Ableitung in der Amygdala erfolgte durch die Stimulierung der corticoamygdalen Fasern und wurde mittels der Ableitelektrode in der lateralen Amygdala registriert. Im Bereich des Neocortex erfolgte die Reizung an den Perpendicularfasern und konnte in der 3. Schicht des Neocortex erfasst werden.

Zudem wurde in jeder Versuchsreihe jeweils eine Vergleichselektrode in eine andere Region als die, die gerade gereizt wurde, eingebracht, d.h. wenn Amygdala und Hippocampus gereizt wurden, war die 2. Elektrode im Neocortex platziert und bei den Reizungen im Neocortex dann entsprechend im Hippocampus oder in der Amygdala.

Für die Versuchsdurchführung wurden die experimentellen Parameter (Reizstärke und Elektrodenplatzierung) so eingestellt, dass im Hippocampus und im Neocortex fEPSPs registriert wurden, und in der Amygdala evozierte Potentiale. Stimuliert wurde mit einer Repetitionsrate von 1 Reiz/ 60 s und einer Reizstärke, die bei den verschiedenen Experimenten zwischen 0,1 mA und 1,5 mA lag.



Als Referenzelektrode diente ein in die Kammer eingebautes mit 2 mm/l KCL gefülltes Glasröhrchen, dass durch ein Magnesia-Diafragma Kontakt zur Badlösung besaß. Über ein in das Röhrchen eingeführter Silberdraht erfolgte eine zusätzliche Erdung des Bades. Mit Hilfe eines Feldpotentialverstärkers wurden DC-Registrierungen (Gleichspannungs-Registrierung) mit einer Grenzfrequenz von 1000 Hz durchgeführt. Die Aufzeichnung des DC-Signals wurde mit einem Tintenschreiber (Rikadenki) vorgenommen.

### 2.3 Versuchsprotokolle

Wesentlich für die Sicherstellung der Vergleichbarkeit der einzelnen Versuche war die Einhaltung des Exakten Zeitrasters: Vorlauf mit anschließender Hypoxie, die Erholungsphase, die Auslösung des LTPs und die endgültige Erholungsphase.

#### A. Hypoxieversuche

Versuchsreihe	Vorlaufphase 15 min	Hypoxie	Erholungsphase 30 min	LTP	Erholungsphase 60 min
A-1	Lsg.2			Lsg.2	
A-2	Lsg.2			Lsg.4	
A-3	Lsg.2			Lsg.5	

## B. Kontrollversuche

Vorlaufzeit 15 min	LTP	Erholungszeit 60 min
Lsg.2		

**Abb. 2-1** Schematische Darstellung der Versuchsprotokolle. Es wurden Versuche mit Sauerstoffentzug (A) und Kontrollversuche (B) ohne Sauerstoffentzug durchgeführt.

Zu A: Nach einer 15minütigen Vorlaufphase (Lsg. 2) wurden durch das Umstellen der Badlösung und der Badbegasung „hypoxische“ Bedingungen geschaffen (Lsg. 2). Beim Auftreten einer Terminalnegativierung im DC-Potential wurde die Hypoxie, durch Umstellung der Badlösung und Badbegasung auf Kontrollbedingungen, beendet. Darauf folgten 30 Minuten Erholungsphase unter Kontrollbedingungen. Nach dieser Zeit wurde ein LTP-Reiz gesetzt auf den 60 min Erholungsphase folgten. Bei A-2 und A-3 wurde nach der Hypoxie der Versuch mit einer Lösung fortgeführt, der eine Substanz (s. Tab. 2.5) beigefügt worden ist. Bei A-2 wurde der Lösung APV ( 25  $\mu\text{mol/l}$ ) und bei A-3 CNQX (10  $\mu\text{mol/l}$ ) beigefügt. Zu B: Nach 15minütiger Vorlaufphase unter Kontrollbedingungen wurde ein LTP-Reiz ausgelöst. Darauf folgte die Erholungsphase von 60 Minuten. Die Nummern der Lösungen entsprechen denen in Tabelle 2-1.

Zur Analyse der Wirkung von Hypoxie auf evozierte Potenziale wurden mehrere Versuchsreihen durchgeführt, die sich wiederum in verschiedene Versuchsphasen unterteilen. Mit einer den Versuchen vorausgehenden 15minütigen Kontrollphase, in der ein stabiles bioelektrisches Signal auftreten musste, wurde eine kontrollierte Versuchsanordnung durchgeführt. Diese Phase fand unter Kontrollbedingungen statt, d.h. als Badlösung diente die mit Carbogen begaste Yamamoto II-Lösung (Lsg. 2, Tab. 2-1), und die Begasung der Kammer erfolgte mit Carbogen. Zur Induktion der Hypoxie wurde die Begasung der Kammer von Carbogen auf 5 % CO<sub>2</sub> in 95 % N<sub>2</sub> und das Superfusat auf eine entsprechend mit 5 % CO<sub>2</sub> in 95 % N<sub>2</sub> begaste Lösung umgestellt. Sobald es zu einer Termi-

nalnegativierung im DC-Potential kam, was nach unterschiedlich langer Latenzzeit erfolgte, wurde die Hypoxie durch die Umstellung der Badbegasung und der Badlösung auf Kontrollbedingungen beendet. Auf die Hypoxie folgte jeweils eine Erholungsphase von mindestens 30 Minuten, jedoch mindestens so lange bis sich wieder ein stabiles bioelektrisches Signal eingestellt hatte. Daraufhin wurde ein hochfrequenter Reiz (HFS: High-Frequency-Stimulus, LTP) gesetzt. Die Langzeit-Potenzierung ist ein Phänomen, das in Synapsen von Nervenzellen beobachtet werden kann und bedeutet eine langandauernde Verstärkung der synaptischen Übertragung. Dieser Reiz hatte die Dauer von 1,5 s und eine Frequenz von 100 HZ (4-mal 100 HZ im Abstand von 100 ms, 10 s Intervall). Um die Versuche fortführen zu können wurde eine konstante Steigerung der Reizantwort innerhalb der folgenden 60 Minuten vorausgesetzt.

### **2.3.1 Auswirkung von APV/CNQX auf die Langzeitpotenzierung**

Zur Analyse der Wirkung der beiden Substanzen auf die AMPA- bzw. NMDA-Rezeptoren nach dem LTP wurden mehrere Versuchsreihen durchgeführt, in denen jeweils eine der Substanzen getestet wurde. Die Einteilung des Zeitraums entsprach der der Hypoxieversuche. Nach einer 15minütigen Vorlaufphase (Lsg. 2, Tab. 2-1) wurde durch die Umstellung der Badbegasung und der Lösung die Hypoxie ausgelöst. Nach dem Auftreten einer Terminalnegativierung im DC-Potential wurde die Hypoxie durch Umstellen der Badlösung und Badbegasung beendet. Die Lösung (Lsg. 2/3; Tab. 2-1) enthielt entweder APV (25  $\mu\text{mol/l}$ ) oder CNQX (10  $\mu\text{mol/l}$ ) und wurde mit Carbogen begast. Daraufhin wurde eine Erholungsphase von 30 Minuten eingehalten auf die das Setzen eines tetanischen Reizes folgte. Die aufgezeichneten fEPSPs wurden hinsichtlich Amplitude quantifiziert. Die Auswertung dieser Versuche erfolgte genauso wie die Auswertung der Versuche über die Wirkung von Hypoxie auf evozierte Potentiale. Die Durchschnittsamplitude nach dem LTP wurde in Beziehung zu der Durchschnittsamplitude, welche nach der Hypoxie aber vor dem LTP aufgenommen wurde, gesetzt.

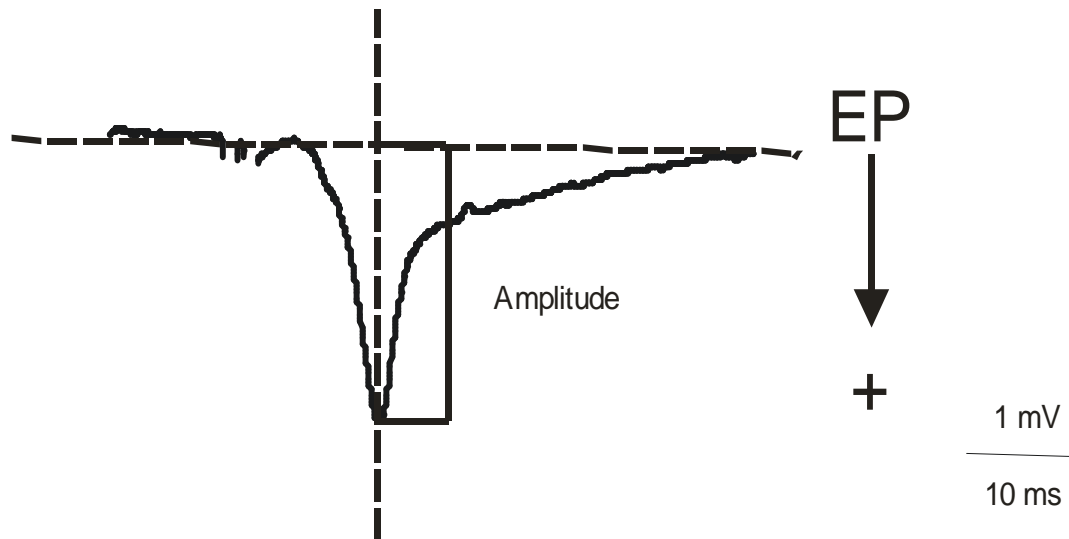
### **2.3.2 Kontrollversuche**

Zu besserer Beurteilung der Effekte der Hypoxie wurden Kontrollversuche ohne Hypoxie 15minütigen Vorlaufphase in der sich ein stabiles bioelektrisches Signal eingestellt hat wurde ein hochfrequenter Reiz ausgelöst (s.o.) Auch hier wurde darauf geachtet, dass sich eine konstante Steigerung innerhalb der 60 Minuten einstellte.

### **2.3.3 Auswertung**

Die Aufzeichnung aller Reizantworten wurde unter Zuhilfenahme eines Personalcomputers bei Verwendung eines LTP-Programms (WinLTP M-Series) und eines Rikadenki-Schreibers durchgeführt. Die statische Auswertung erfolgte mit dem Mann-Whitney-Rank-Sum-Test wobei Werte mit  $p < 0,05$  als statistisch signifikant angesehen wurden.

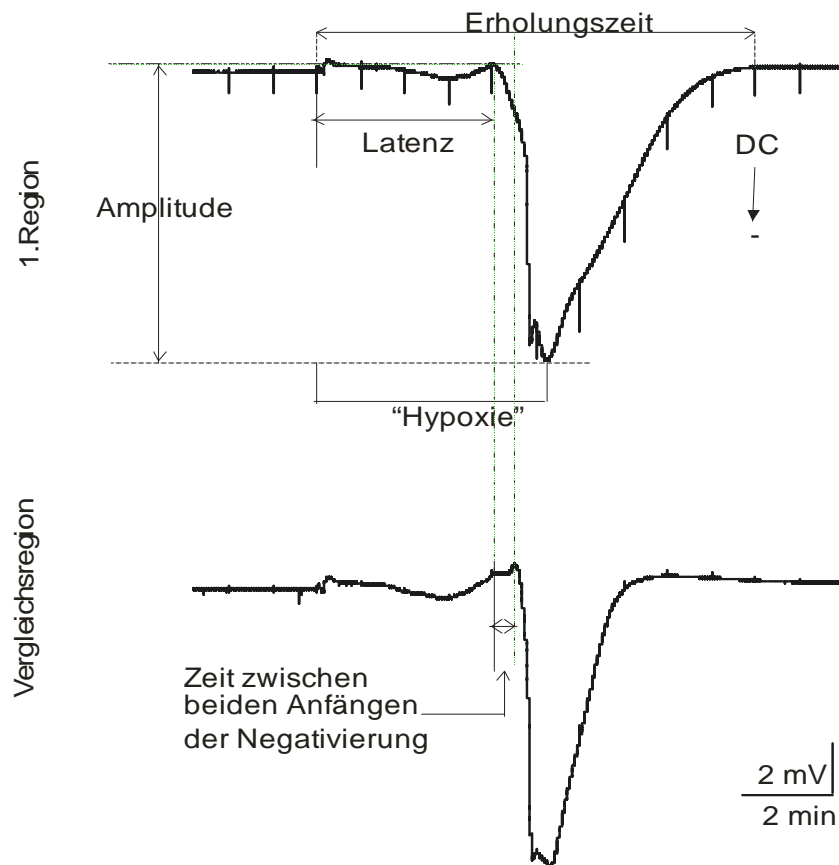
Für die Auswertung wurden alle Versuche einzeln analysiert, d.h. die Werte der letzten 15 Minuten der Vorlaufphase wurden gleich 100 % (= 1) gesetzt und die folgenden Reaktionen darauf normiert. Die Erfassung der Amplitudengröße wurde wie in Abbildung 2-2 durchgeführt. Alle Versuche jeder Versuchsreihe wurden gemittelt und statistisch ausgewertet. Die Ergebnisse wurden als Mittelwert  $\pm$  Standardfehler angegeben. Diese Auswertung erfolgte mit der Hilfe von dem Computerprogramm Sigma Plot 8.0 und Sigma Stat 3.0. Die gemittelten Kurven der Hypoxieversuche wurden mit den gemittelten Kurven der Kontrollversuche und denen der Hypoxieversuche mit CNQX oder APV verglichen. Der Vergleich erfolgte jeweils zwischen den Ergebnissen einer Hirnregion.



**Abb. 2-2:** Protokoll zur Auswertung der evozierten Potentiale

Während des Versuchsablaufs wurde die jeweilige Hirnregion regelmäßig alle 60 Sekunden gereizt und die darauffolgenden evozierten Potentiale aufgenommen. Von jedem dieser Potentiale wurde die Amplitudengröße (pkAmp in mV) registriert. Diese Werte wurden gleich Null gesetzt und in Graphenform dargestellt. Die Werte aller Graphen wurden gemittelt und als Mittelwertgraphen untereinander verglichen.

Die Schreiberausdrucke der Hypoxieversuche wurden ebenfalls ausgewertet. Parallel wurden kontinuierlich die DC-Negativierung der Versuchsregion und der Vergleichsregion aufgezeichnet. Mit einem Lineal wurde die Latenzzeit der beiden Regionen und ihre Differenz errechnet. Zudem wurde die Amplitudengröße (mV) und die Dauer vom Beginn der Hypoxie bis zur Erholung des Gewebes (min) ausgemessen (Abb. 2-2).



**Abb. 2-3:** Protokoll zur Auswertung der Veränderung von DC-Potential.

Es wurden immer zwei Regionen parallel aufgenommen. Die Versuchsregion (1. Region) und eine Vergleichsregion. Die Terminalnegativierung (TN) wurde mit der Hilfe eines Rikadenki-Schreibers aufgezeichnet. Bei der Auswertung wurde die Latenzzeit der beiden Regionen und deren Differenz ausgemessen, um festzustellen welche Region zuerst eine Reaktion auf die Hypoxie zeigte. Die Amplitudengröße (in mV) und die Erholungszeit (in min) wurden jeweils von beiden Versuchen ausgemessen und verglichen.

### 2.3.4 Lösungen

Inhaltstoffe	Lsg.1 Präinkubationslsg. In mmol/l	Lsg.2 Versuchslösung In mmol/l	Lsg.3 Versuchslösung In mmol/l	Lsg.4 Versuchslösung In mmol/l
NaCl	124	124	124	124
KCl	4	4	4	4
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1,24	1,24	1,24	1,24
MgCl <sub>4</sub>	1,3	1,3	1,3	1,3
NaHCO <sub>3</sub>	26	26	26	26
C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	10	10	10	10
CaCl <sub>2</sub>	1	2	2	2
APV	-	-	25	-
CNQX	-	-	-	10

**Tab. 2-1** Verwendete Lösungen während der Versuche.

Lösung 1 wurde nur mit Carbogen (95 % O<sub>2</sub> + 5 % CO<sub>2</sub>) begast, Lösungen 2-4 wurden auch mit Carbogen begast, nur während der Hypoxie wurde die Begasung auf ein Stickstoffgemisch (95% N<sub>2</sub> + 5% CO<sub>2</sub>) umgestellt.

### 3 Ergebnisse

Im folgenden Kapitel werden die Ergebnisse aller durchgeführten Versuche dargestellt. Es galt zu untersuchen in welcher Weise Hypoxie Einfluss auf die DC-Negativierung im Hippocampus, Cortex und in der Amygdala nimmt und wie sich die synaptische Übertragung nach LTP verändert. Zudem wurde die Wirkung von CNQX und APV auf die synaptische Transmission untersucht.

Der erste Abschnitt beschäftigt sich mit der Änderung des DC-Potentials und den dabei beobachteten Unterschieden zwischen Hippocampus, Amygdala und Neocortex der Maus. Der zweite Abschnitt zeigt die Wirkung von Hypoxie auf evozierte Potenziale nach LTP.

#### 3.1 Veränderungen der DC-Negativierung nach Hypoxie

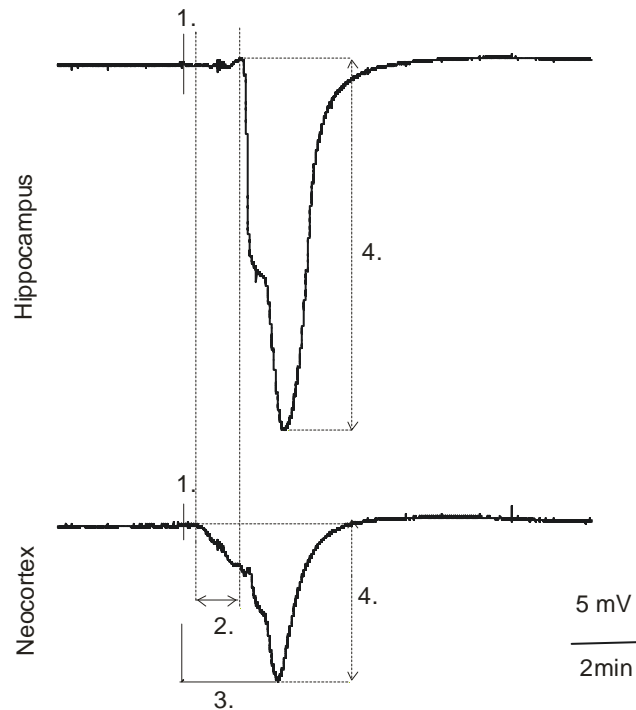
##### 3.1.1 Hippocampus

In der ersten Serie von Hypoxieversuchen wurde die DC-Negativierung im Hippocampus und im Neocortex der Maus parallel aufgenommen und verglichen (Tab. 3-1). Es sind 13 Registrierungen erfolgt bei denen 9mal die Latenz bis zum Auftreten der Terminalnegativierung beim Hippocampus und 4mal in dem Neocortex kürzer war als in der jeweils anderen Region. Die Abstände zwischen den Terminalnegativierungen (TN) wurden gemessen und ergaben zwischen Hippocampus und Neocortex (in sec): 1,82; 5; 0,62; 3,75; 1,20; 1,20; 0,6; 0,3; 1,2 ( $n = 9$ ), im Durchschnitt ergab das  $1,7 \pm 0,5$  sec. Die Abstände zwischen Neocortex und Hippocampus (in sec): 2,5; 0,6; 1,2; 0,6 ( $n = 4$ ) ergaben im Durchschnitt  $1,2 \pm 0,4$  sec und waren nicht signifikant kürzer ( $P = 0,808$ ).

Die Amplituden der TN waren bei Hippocampus (in mV): 0,85; 7,75; 0,65; 2,05; 0,65; 6,6; 2,35; 5,5; 2,05; 1,45; 5,35; 5,85; 0,55 ( $n = 13$ ) im Durchschnitt  $3,1 \pm 0,7$  mV. Bei Cortex konnten Amplituden von: 0,35; 6,1; 1,25; 0,5; 1,5; 1,05; 1,1; 5,15; 3,5; 2,7; 2,25; 1,45; 1,15 ( $n = 13$ ) gemessen werden, im Durchschnitt  $2,1 \pm 0,4$  mV, wobei der Unterschied nicht signifikant war ( $P = 0,397$ ).



Die Dauer der Erholung betrug beim Hippocampus in Minuten: 6; 17; 8; 7; 11; 6; 19; 12; 22; 8; 6; 12; 7 ( $n = 13$ ) im Schnitt  $11,1 \pm 1,4$  min und beim Neocortex: 5,4; 5,8; 7; 5; 9; 8; 21,6; 12; 20; 6,4; 4; 7; 8 ( $n = 13$ ) im Schnitt  $7,5 \pm 0,6$  min. Der Unterschied zeigt ein signifikantes Ergebnis ( $P = 0,038$ ) (Tab. 3-4).



**Abb. 3-1:** Originalaufzeichnung einer Terminalnegativierung während der Hypoxie im Hippocampus und der Neocortex. Maus, Amygdala-Hippocampus-Neocortex-Schnittpräparat.

Die Registrierung wurde mit einem Tintenschreiber vorgenommen. Sie zeigt ein Orginalversuch am Hippocampus der Maus. Als Vergleichsregion diente der Neocortex. 1. Zeitpunkt der Auslösung der Hypoxie durch das Umstellen der Begasung. 2. Zeitlicher Unterschied in der Latenzzeit. In diesem Versuch ist deutlich sichtbar, dass der Neocortex eine kürzere Latenzzeit im Vergleich zum Hippocampus aufweist. 3. Die Hypoxie. 4. Amplitudengröße. Dieser Versuch zeigt eine deutlich größere Amplitude beim Hippocampus als in dem Neocortex. (Tab. 3-2).

Versuchsnummer	Versuchsregion	Erstreaktion	Abstand beider Anfänge (sec)	Amplitude (mV)	Duration (min)
8922A003	Hippocampus	X	1,87	0,85	8
	Neocortex			0,35	5,4
8923A002	Hippocampus	X	5	7,75	17
	Neocortex			6,1	5,8
29.09.08	Hippocampus		2,5	0,65	8
	Neocortex	X		1,25	7
8930A003	Hippocampus		0,62	0,65	7
	Neocortex	X		0,5	5
8001A001	Hippocampus		1,20	2,05	11
	Neocortex	X		1,5	9
8002A001	Hippocampus	X	0.62	6,6	6
	Neocortex			1,05	8
8007A001	Hippocampus	X	3,75	2,35	19
	Neocortex			1,1	10
8004A005	Hippocampus	X	1,20	5,5	12
	Neocortex			5,15	12
8005A003	Hippocampus	X	1,20	2,05	22
	Neocortex			3,5	20
8011A004	Hippocampus	X	0,6	1,45	8
	Neocortex			2,7	6,4
8016A004	Hippocampus	X	0,3	5,35	6
	Neocortex			2,25	4
8N20A004	Hippocampus		0,6	5,85	12
	Neocortex	X		1,45	7
8006A005	Hippocampus	X	1,2	0,55	7
	Neocortex			1,15	8

**Tab. 3-1** Auswertung der Schreiberausdrücke, Hippocampus. Amygdala-Hippocampus-Neocortex-Schnittpräparat, Maus

Erstreaktion, zeitlicher Unterschied zwischen den Erstreaktionen, Amplitude der Terminalnegativierung (TN) im DC-Potential und Erholung des Gewebes. Hippocampus und Neocortex im Vergleich. Alle Werte wurden an den Originalaufzeichnungen des Schreibers ausgemessen und errechnet.

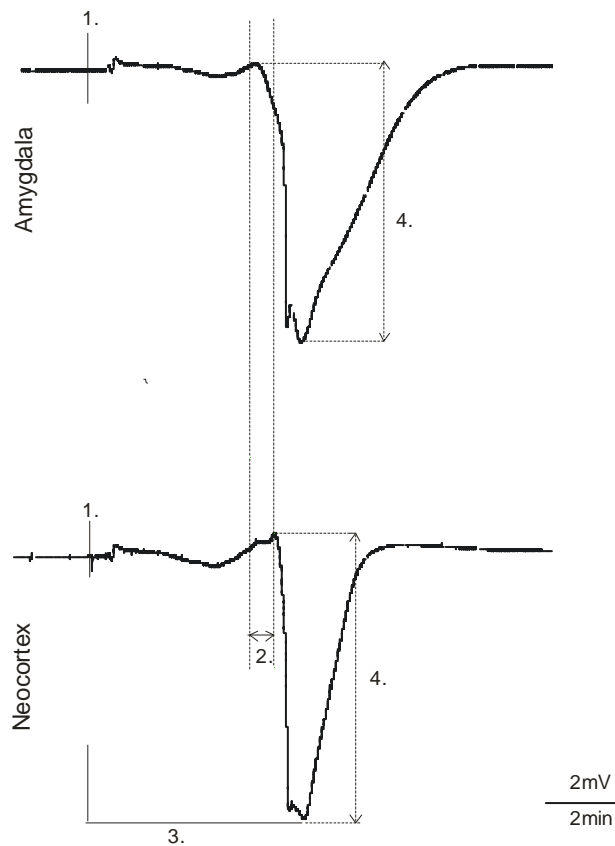
### 3.1.2 Amygdala

Es wurden 12 Registrierungen vorgenommen dessen Auswertung in (Tab. 3-2) dargestellt ist. Dabei wurde die TN von der Amygdala im Vergleich zum Neocortex aufgezeichnet.

Bei sieben der 12 Versuche trat die TN zuerst bei der Amygdala auf, bei 4 davon im Neocortex und einer der Versuche zeigte keinen Unterschied. Die Abstände zwischen TN der Amygdala und vom Cortex waren (in sec): 1,2; 1,2; 2,4; 4,8; 0,6; 0,6; 2,4 ( $n = 7$ ), d.h.  $1,8 \pm 0,5$  sec. Die Abstände zwischen Cortex und Amygdala lagen bei: 2,4; 0,6; 3,6; 1,2 ( $n = 4$ ), d.h.  $1,95 \pm 0,6$  sec und waren nicht signifikant größer ( $P = 0,945$ ). Ein Versuch zeigte keinen Unterschied in der Latenzzeit.

Die Amplituden der TN der Amygdala waren (in cm): 0,65; 2, 1,3; 2,05; 5,35; 2,35; 2,25; 0,25, 3,2, 7,65; 0,6; 1,6 ( $n = 12$ ), und die des Cortex: 0,5, 0,55, 2,15; 0,55; 5; 2,45; 2,35; 1,8; 7,6; 7,4, 5,5, 1,45. Der Vergleich der Amplitudengröße von  $2,4 \pm 0,6$  mV bei der Amygdala zu  $2,6 \pm 0,6$  mV beim Cortex zeigte keinen signifikanten Unterschied ( $P = 0,908$ ).

Die Dauer der Erholung des Gewebes zeigte bei der Amygdala folgende Werte (in min): 6; 5; 5; 3; 10; 14; 8; 14; 7; 11; 9; 13 ( $n = 12$ ) ( $8,7 \pm 1$  min). Die Werte vom Cortex waren: 10; 10; 3,3; 7,6; 12, 13; 10; 12; 6; 13, 8; 12 ( $n = 12$ ). Im Durchschnitt lagen sie bei  $9,7 \pm 0,8$  min und somit höher als bei der Amygdala, jedoch nicht signifikant ( $P = 0,481$ ) (Tab. 3-4).



**Abb. 3-2** Darstellung einer Terminalnegativierung während der Hypoxie in der Amygdala und dem Neocortex der Maus. Amygdala-Hippocampus-Neocortex-Schnittpräparat.

Die Registrierung wurde mit einem Tintenschreiber vorgenommen. Sie zeigt einen Originalversuch an der Amygdala der Maus. Als Vergleichsregion diente der Neocortex. 1. Zeitpunkt der Auslösung der Hypoxie durch das Umstellen der Begasung. 2. Zeitlicher Unterschied in der Latenzzeit. Es ist deutlich sichtbar, dass die Amygdala eine kürzere Latenzzeit im Vergleich zum Neocortex in diesem Versuch aufweist. 3. Die Hypoxie. 4. Amplitudengröße. (Tab. 3-2)

Versuchsnummer	Versuchsregion	Erstreaktion	Abstand beider Anfänge (sec.)	Amplitude (mV)	Duration (min)
8925A005	Amygdala	X	1,20	0,65	6
	Neocortex			0,5	10
8008A001	Amygdala	X	1,20	2	5
	Neocortex			0,55	10
8009A001	Amygdala		2,4	1,3	5
	Neocortex	X		2,15	3,3
8006A001	Amygdala	X	2,4	2,05	3
	Neocortex			0,55	7,6
8N11A001	Amygdala		0,6	5,35	10
	Neocortex	X		5	12
8N12A001	Amygdala	X	4,8	2,35	14
	Neocortex			2,45	13
8004A001	Amygdala		3,6	2,25	8
	Neocortex	X		2,35	10
8015A004	Amygdala	-	0	0,25	14
	Neocortex	-		1,8	12
8017A003	Amygdala	X	0,6	3,2	7
	Neocortex			7,6	6
8N23A005	Amygdala		1,2	7,65	11
	Neocortex	X		7,4	13
8N28A00?	Amygdala	X	0,6	0,6	9
	Neocortex			0,55	8
8N26A002	Amygdala	X	2,4	1,6	13
	Neocortex			1,45	12

**Tab. 3-2** Auswertung der Schreiberausdrücke der Originalversuch in der Amygdala, Amygdala-Hippocampus-Neocortex-Schnittpräparat, Maus

Erstreaktion, zeitlicher Unterschied zwischen den Erstreaktionen, Amplitude der Terminalnegativierung (TN) im DC-Potential und Erholung des Gewebes. Amygdala und Neocortex im Vergleich. Alle Werte wurden an den Originalaufzeichnungen des Schreibers ausgemessen und errechnet.

### 3.1.3. Neocortex

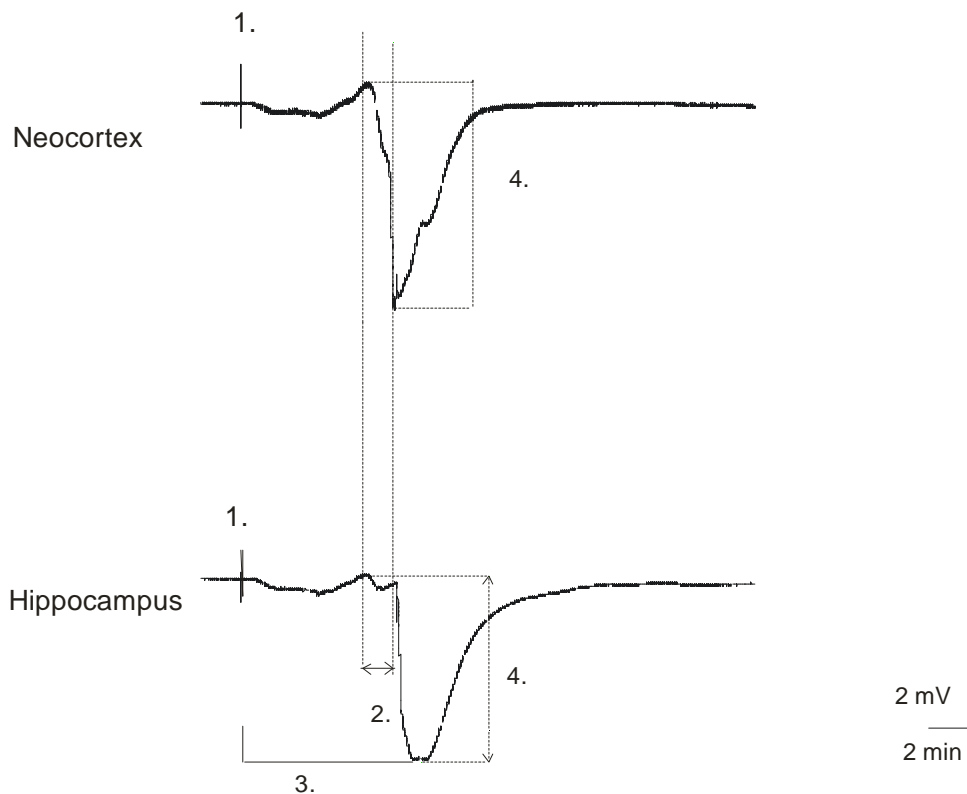
Es sind ebenfalls Registrierungen durchgeführt worden, bei denen die Amygdala und der Hippocampus als Vergleichsregionen zum Neocortex dienten. Insgesamt waren es 15 Registrierungen, von denen 4 mit der Amygdala und 11 mit dem Hippocampus durchgeführt wurden (Tab. 3-3). Sie werden im Folgenden nicht getrennt behandelt. Von 15 Versuchen trat die TN in 5 Fällen beim Neocortex zuerst auf, in 10 Fällen reagierte die Vergleichsregion zuerst.

Die zeitlichen Abstände zwischen neocorticalen TN und der der Amygdala/Hippocampus lagen bei (in sec): 3,6; 1,2; 0,6; 1,2 und 0,6 ( $n = 5$ ) und zwischen Amygdala/Hippocampus und Neocortex bei: 1,2; 1,2; 1,2; 1,2; 0,6; 1,8; 2,4; 1,2; 0,6; 0,6 ( $n = 10$ ). Durchschnittlich reagierte der Neocortex mit  $1,4 \pm 0,5$  sec langsamer als die Vergleichsregion wo der Durchschnitt bei  $1,2 \pm 0,1$  sec lag.

Die Amplituden der TN beim Neocortex waren in mV: 0,5; 1,15; 1,3; 2,05; 4,5; 3,7; 6, 3,45, 3,25, 7; 5,15; 0,45; 6,25; 6,35; 5,15 ( $n = 15$ ), im Durchschnitt  $3,7 \pm 0,5$  mV. Die Amplituden der beiden anderen Regionen lagen bei: 1,7; 1,15; 1,25; 4,15, 3,65; 1,4; 1,15; 3,25; 5,5; 8,25; 5,4; 2,2; 5,3; 7,9; 1,5 ( $n = 15$ ) und durchschnittlich bei  $3,5 \pm 0,6$  mV.

Die Dauer der Erholung betrug beim Neocortex  $12 \pm 1,7$  min und bei der Amygdala bzw. beim Hippocampus  $12 \pm 1,6$  min. Die einzelnen Werte dafür waren beim Neocortex (in min): 7; 7; 19; 18, 8, 22; 6; 10, 15; 8; 25, 3; 7; 10; 18 und bei Amygdala/Hippocampus: 12, 6; 15; 26; 10; 21; 3; 13; 12; 13; 18; 4; 5; 14; und 12.

Es bestanden keine signifikanten Unterschiede weder bei der Latenzzeit, der Amplitude noch bei der Erholungszeit (Tab. 3-4)



**Abb. 3-3:** Darstellung einer Terminalnegativierung während der Hypoxie im Neocortex und im Hippocampus der Maus. Amygdala-Hippocampus-Neocortex-Schnittpräparat. Die Registrierung wurde mit einem Tintenschreiber vorgenommen. Sie zeigt einen Originalversuch am Neocortex der Maus. Als Vergleichsregion diente der Hippocampus. 1. Zeitpunkt der Auslösung der Hypoxie durch das Umstellen der Begasung. 2. Zeitlicher Unterschied in der Latenzzeit. Es ist deutlich sichtbar, dass Neocortex eine kürzere Latenzzeit im Vergleich zum Hippocampus hatte. 3. Die Hypoxie. 4. Amplitudengröße. Die Amplitude vom Hippocampus ist kleiner als die des Neocortex (Tab. 3-3).

Versuchsnummer	Versuchsregion	Erstreaktion	Abstand beider Anfänge (sec)	Amplitude (mV)	Duration (min)
8N05A003	Neocortex		1,20	0,5	7
	Amygdala	X		1,7	12
8N10A002	Neocortex		1,20	1,15	7
	Amygdala	X		1,15	6
8N10A004	Neocortex	X	3,6	1,3	19
	Amygdala			1,25	15
8N13A001	Neocortex		1,20	2,05	18
	Amygdala	X		4,15	26
8N06A001	Neocortex		1,20	4,5	8
	Hippocampus	X		3,65	10
8N06A003	Neocortex		0,6	3,7	22
	Hippocampus	X		1,4	21
8005A005	Neocortex		1,8	6	6
	Hippocampus	X		1,15	3
8010A001	Neocortex	X	1,2	3,45	10
	Hippocampus			3,25	13
8008A003	Neocortex	X	0,6	3,25	15
	Hippocampus			5,5	12
8010A003	Neocortex		2,4	7	8
	Hippocampus	X		8,25	13
8016A006	Neocortex		1,2	5,15	25
	Hippocampus	X		5,4	18
8N07A007	Neocortex		0,6	0,45	3
	Hippocampus	X		2,2	4
8N09A003	Neocortex	X	1,2	6,25	7
	Hippocampus			5,3	5
8N07A006	Neocortex	X	0,6	6,35	10
	Hippocampus			7,9	14
8N26A005	Neocortex		0,6	5,5	18
	Hippocampus	X		1,5	12

**Tab. 3-3:** Auswertung der Schreiberausdrücke der Originalversuch im Neocortex, Amygdala-Hippocampus-Neocortex-Schnittpräparat, Maus

Erstreaktion, zeitlicher Unterschied zwischen den Erstreaktionen, Amplitude der Terminalnegativierung (TN) im DC-Potential und Erholung des Gewebes. Der Neocortex und Amygdala/ Hippocampus im Vergleich. Alle Werte wurden an den Originalaufzeichnungen des Schreibers ausgemessen und errechnet.



Versuch- /Vergleichsregion	Hippocampus		Amygdala		Cortex	
	Hippocampus	Neocortex	Amygdala	Neocortex	Neocortex	Hip/Amy
Latenzzeitdifferenz (sec)	1,7±0,5 <i>n</i> = 9	1,2±0,4 <i>n</i> = 4	1,8±0,5 <i>n</i> = 7	1,95±0,6 <i>n</i> = 4	1,4±0,5 <i>n</i> = 5	1,2±0,5 <i>n</i> = 10
Signifikanz	<i>P</i> = 0,808		<i>P</i> = 0,945		<i>P</i> = 0,951	
Amplitude (mV)	3,1±0,7 <i>n</i> = 13	2,1±0,4 <i>n</i> = 13	2,4±0,6 <i>n</i> = 12	2,6±0,6 <i>n</i> = 12	3,7±0,5 <i>n</i> = 15	3,5±0,6 <i>n</i> = 15
Signifikanz	<i>P</i> = 0,397		<i>P</i> = 0,908		<i>P</i> = 0,827	
Erholungsdauer (min)	11,1±1,4 <i>n</i> = 13	7,5±0,6 <i>n</i> = 13	8,7±1 <i>n</i> = 12	9,7±0,8 <i>n</i> = 12	12±1,7 <i>n</i> = 15	12±1,6 <i>n</i> = 15
Signifikanz	<i>P</i> = 0,038*		<i>P</i> = 0,481		<i>P</i> = 0,978	

**Tab. 3-4** Auswertung der Terminalnegativierung im DC-Potential. Maus, Amygdala-Hippocampus-Cortex-Schnittpräparat.

Vergleich der Latenzzeitdifferenz, der Amplitudengröße und der Erholungsdauer bei der Versuchsregion und der Vergleichsregion. Es handelt sich bei den Angaben, um Durchschnittswerte±/ S.E.M.P = Signifikanz im Vergleich zu jeweiligen Versuchsregion. Es sind anhand der p-Werte keine signifikanten Unterschiede, bis auf die Erholungszeit beim Hippocampus, auszumachen. Dieser Wert ist mit einem Stern (\*) gekennzeichnet.

## **3.2 Synaptische Veränderungen nach Hypoxie**

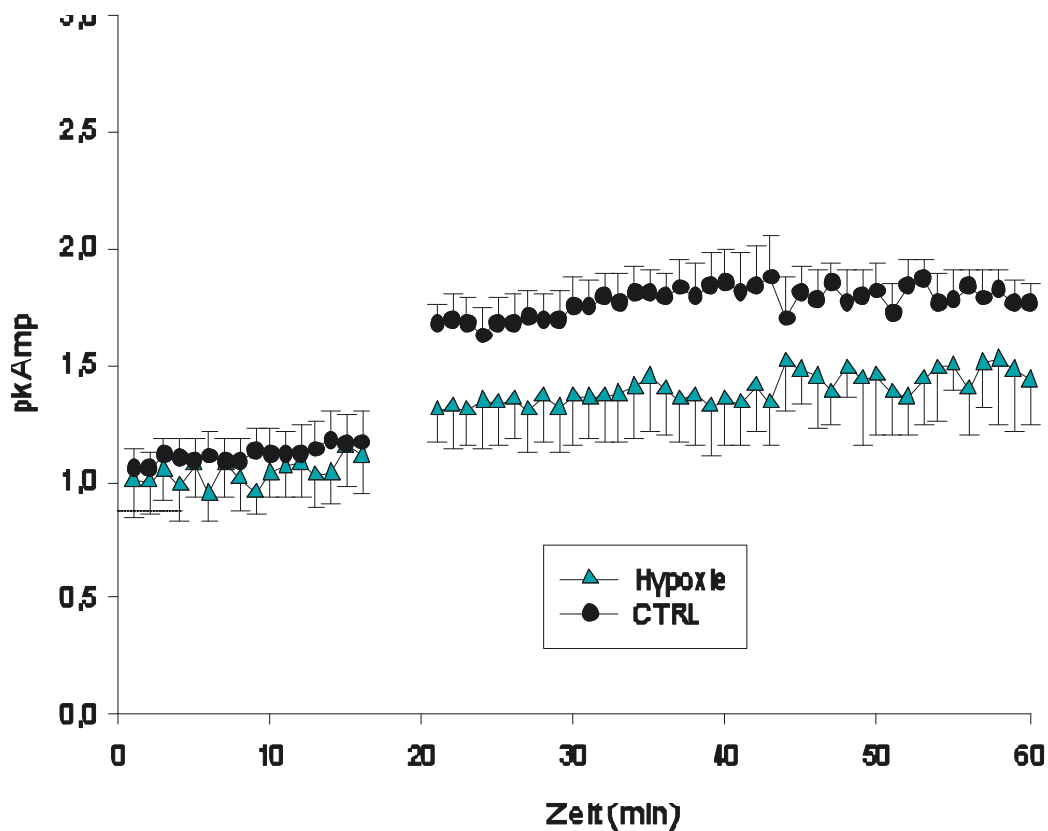
### **3.2.1 Hippocampus**

#### **3.2.1.1 Kontrollversuche**

Es wurden 6 Kontrollversuche am Hippocampus der Maus durchgeführt. Die Reizung erfolgte an den Schaffer-Kollateralen und die Ableitung über die CA1-Region. Nach einer Vorlaufphase in der die Amplitude von fEPSP für 15 Minuten stabil war, wurde ein tetanischer Reiz von 4 x 100 Hz in 1 Sekunde ausgelöst (LTP). Die Stimulation führte zu einer stabilen Erhöhung der mittleren fEPSP-Amplitude auf  $73 \pm 6 \%$  (Tab. 3-5; Abb. 3-4; Abb. 3-5).

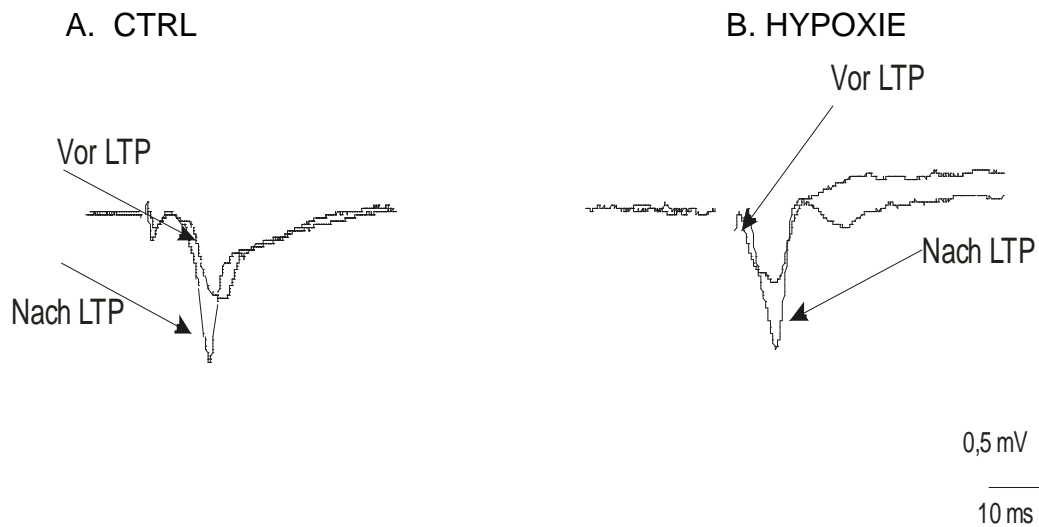
#### **3.2.1.2 Hypoxieversuche**

Es wurden 6 Versuche am Hippocampus durchgeführt bei denen nach einer Vorlaufphase von 15 Minuten durch Umstellung der Begasung Hypoxie erzeugt wurde. Nach einer Regenerationszeit von 30 Minuten wurde LTP ausgelöst und zeigte eine stabile Erhöhung der mittleren fEPSP-Amplitude von  $28 \pm 5 \%$ , die jedoch kleiner als bei den Kontrollversuchen ausfiel. Der Vergleich der fEPSP- Amplituden zeigte eine signifikante Verkleinerung der synaptischen Aktivität nach der Hypoxie ( $P \leq 0,001$ ) (Abb. 3-4; Abb. 3-5).



**Abb. 3-4** Gemittelte Kurven der Originalversuche mit Darstellung der Wirkung (in Form der relativen Amplitude der fEPSPs) von Hypoxie auf Langzeitpotenzierung im Hippocampus der Maus im Vergleich zu Kontrollversuchen (CTRL). Amygdala- Hippocampus- Neocortex- Schnittpräparat, Maus

Die waagerechte Linie verdeutlicht die 15minütige Stabilisierungsphase vor dem LTP. Die Lücke zeigt die LTP, die wegen der hohen mV-Zahl herausgenommen wurde. Die Linien danach zeigen die mittleren Amplituden nach dem LTP. Die Hypoxie bewirkt eine kleinere Steigerung der Amplituden nach LTP im Vergleich zu Kontrolle. Für alle Punkte ist der Standardfehler mit angegeben. CTRL:  $n = 6$ ; Hypoxie:  $n = 6$ .



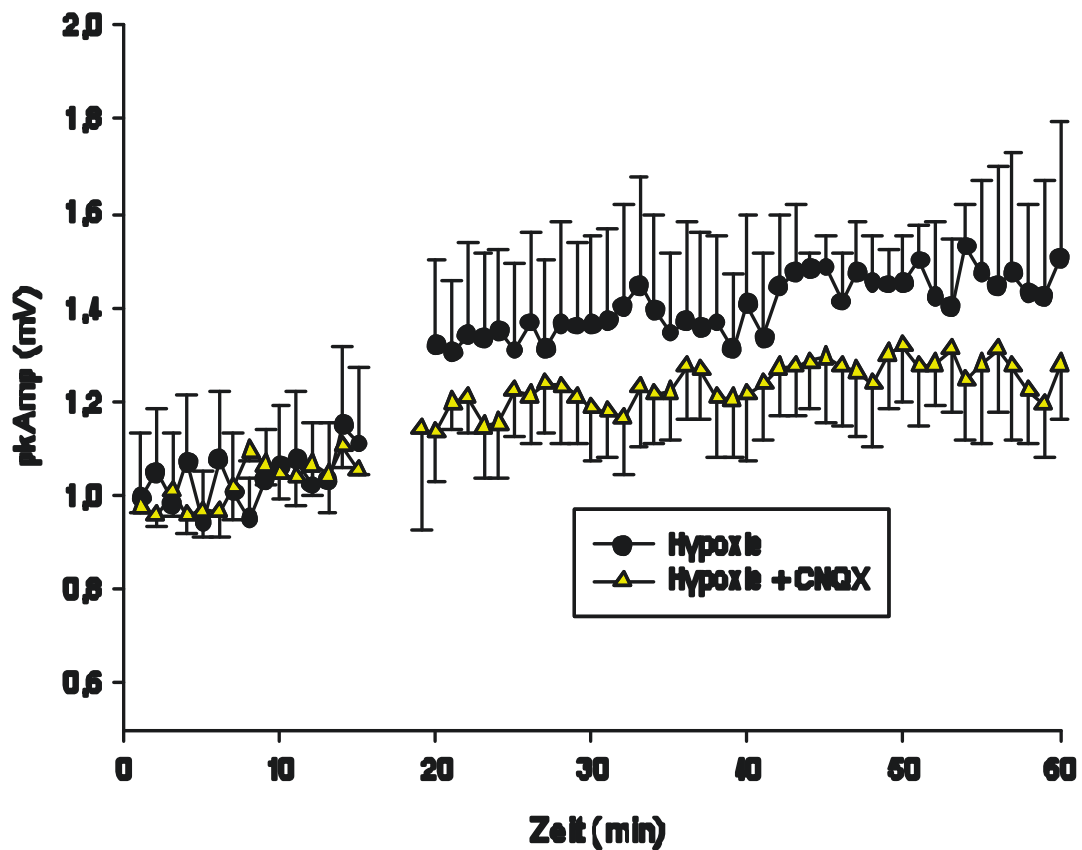
**Abb. 3-5** Der Effekt von Hypoxie auf fEPSP nach LTP in CA1-Region des Hippocampus. Amygdala-Hippocampus-Neocortex-Schnittpräparat, Maus.

Typische Originalregistrierungen postsynaptischer Antworten (fEPSP) der CA1-Region nach Stimulation der Schaffer-Kollateralen. (A) zeigt eine Registrierung aus einem Kontrollversuch (CTRL) vor dem LTP und eine nach dem LTP. Man sieht eine deutliche Vergrößerung der Amplitude. (B) zeigt ebenfalls Registrierungen vor und nach dem LTP aber aus einem Hypoxieversuch. Bei diesen Versuchen fand nach der Auslösung der Hypoxie eine 30minütige Erholungsphase statt, in der sich ein stabiles Potenzial wieder einstellen konnte. Aus dieser Zeit ist die erste Kurve (vor LTP). Die zweite Kurve zeigt das fEPSP nach dem LTP. Wie man sieht, ist es auch zu einer Vergrößerung der Amplitude gekommen. Es besteht ein signifikanter Unterschied zwischen den Kontrollversuchen und den Hypoxieversuchen bei der Amplitudengröße nach LTP.

### 3.2.1.3. Auswirkung von CNQX auf LTP

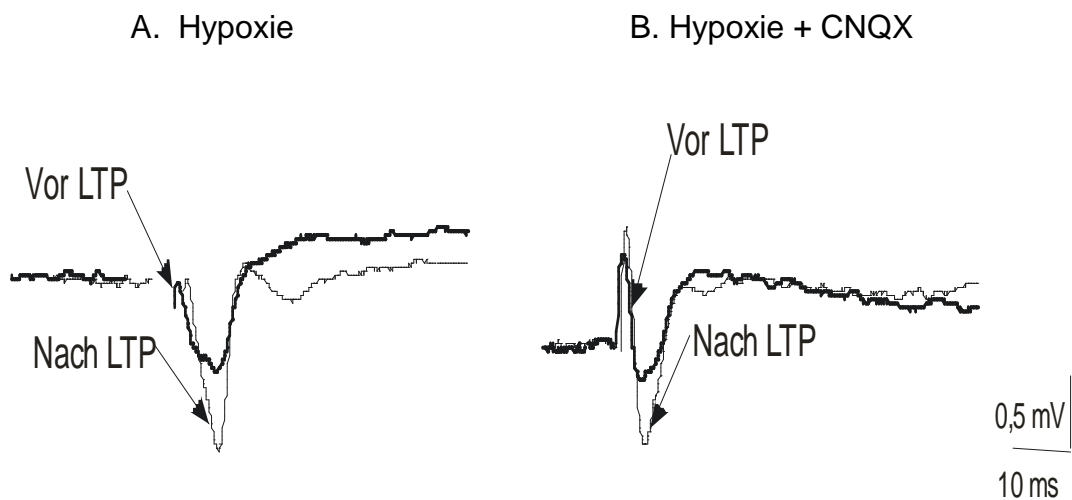
In 4 Versuchen wurde die Auswirkung des Glutamat-Rezeptor-Antagonisten CNQX auf die Langzeitpotenzierung (LTP) in der CA1 Region des Hippocampus untersucht. Nach der Hypoxie wurde der Versuch mit einer Lösung, die 10  $\mu\text{mol/l}$  CNQX enthielt, fortgeführt (Tab. 2-1). Die Auslösung von LTP erfolgte wie in den Hypoxieversuchen nach einer halben Stunde. Die Steigerung der

mittleren Amplituden betrug  $13 \pm 2 \%$  und war somit signifikant kleiner als ohne die Zugabe von CNQX (Abb. 3-6; Abb. 3-7).



**Abb. 3-6** Gemittelte Kurven der Originalversuche zur Darstellung der Wirkung von CNQX auf die Langzeitpotenzierung im Vergleich zu Hypoxieversuchen. Amygdala-Hippocampus-Neocortex-Schnittpräparat, Maus

Die waagerechte Linie verdeutlicht die 15 Minuten Stabilisierungsphase vor dem LTP auf die sich alle Werte beziehen. Die Lücke soll den Zeitpunkt der Auslösung von LTP anzeigen, die Werte wurden wegen der hohen mV-Zahl herausgenommen. Die Linien danach zeigen die mittleren Amplituden nach dem LTP. Der Einsatz von CNQX zeigt eine deutliche Verkleinerung der fEPSP-Amplituden nach dem LTP. Für alle Punkte ist der Standardfehler mit angegeben.



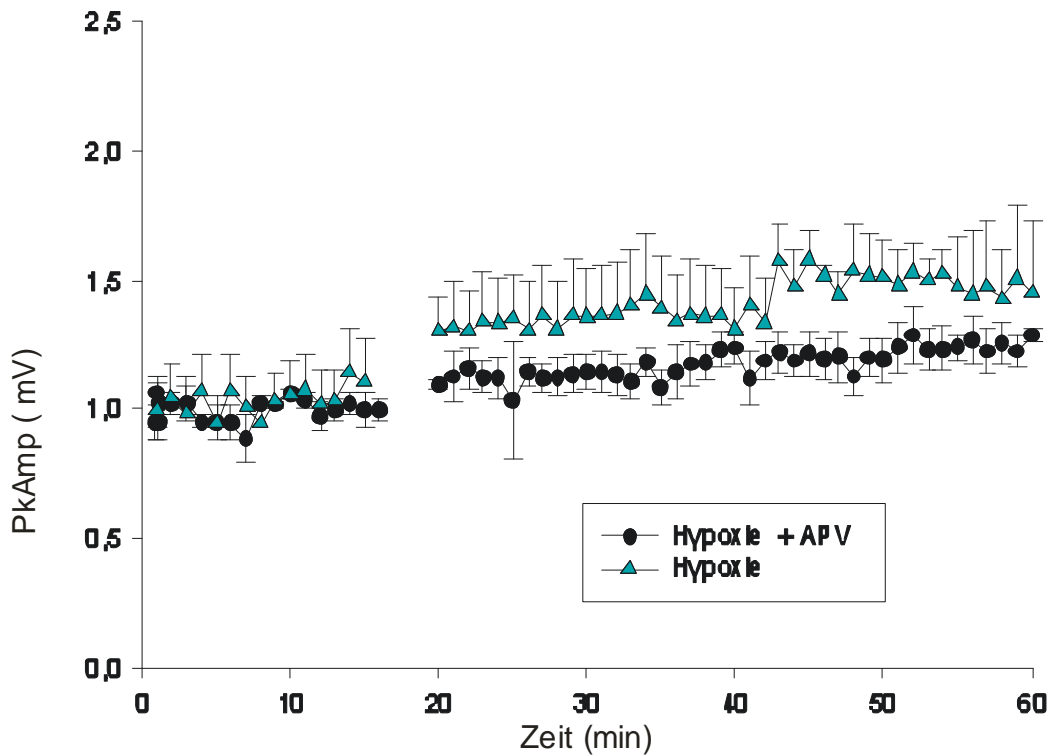
**Abb. 3-7** Der Effekt von CNQX auf fEPSP nach LTP in der CA1-Region des Hippocampus. Amygdala-Hippocampus-Neocortex-Schnittpräparat, Maus

Originalregistrierungen aus den Hypoxieversuchen und den Versuchen mit GABA-Rezeptor-Antagonisten CNQX am Hippocampus. (A) zeigt jeweils eine Registrierung aus einem Hypoxieversuch vor und nach dem LTP. Man sieht eine Vergrößerung der Amplitude. (B) zeigt ebenfalls Registrierungen vor und nach dem LTP aus einem Versuch mit CNQX, hier zeigt sich eine geringere Vergrößerung der Amplituden. Die Registrierung vor dem LTP stammt aus der 30minütigen Erholungsphase in der sich ein stabiles Potenzial wiedereinstellen konnte. Die zweite Kurve zeigt das fEPSP nach dem LTP. In beiden Versuchsreihen ist es zu einer Erhöhung der Reizantwort gekommen, wobei es einen signifikanten Unterschied zwischen der Amplitudengröße ohne CNQX und mit CNQX gibt.

### 3.2.1.3 Auswirkung von APV auf LTP

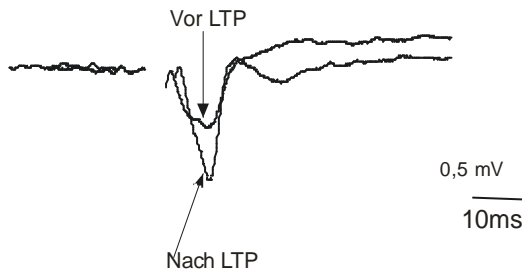
In 4 Versuchen wurde die Auswirkung vom NMDA-Rezeptor-Antagonisten APV auf die synaptische Übertragung in der CA1-Region des Hippocampus überprüft. Der Versuchsaufbau war derselbe wie bei den Hypoxieversuchen, die Lösung (Tab. 2-1) nach der Hypoxie enthielt APV ( $25 \mu\text{mol/l}$ ). Nach einer Erholungszeit von einer halben Stunde wurde LTP ausgelöst und die fEPSP gemes-

sen. Es stellte sich heraus, dass die mittlere fEPSP-Amplitude nach dem LTP im Vergleich zu den Hypoxieversuchen ohne Zugabe der Substanz kleiner werden (Abb. 3-8; Abb. 3-9). Der Wert liegt bei  $18 \pm 2 \%$  und ist nicht signifikant größer als ohne die Zugabe von APV (Tab. 3-5).

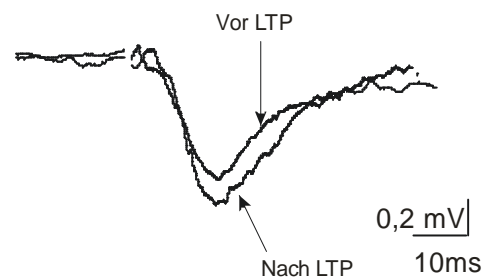


**Abb. 3-8** Gemittelte Kurven der Originalversuche zur Darstellung der Wirkung von APV auf die Langzeitpotenzierung im Vergleich zu Hypoxieversuchen in der CA1-Region im Hippocampus. Amygdala-Hippocampus-Neocortex-Schnittpräparat, Maus  
Die waagerechte Linie verdeutlicht die 15minütige Stabilisierungsphase vor dem LTP auf die sich alle Werte beziehen. Die Lücke soll den Zeitpunkt der Auslösung von LTP anzeigen, die Werte wurden wegen der hohen mV-Zahl herausgenommen. Die Linien danach zeigen die mittleren Amplituden nach dem LTP. Der Einsatz von APV zeigt eine Verkleinerung der fEPSP-Amplituden nach dem LTP, die nicht signifikant ist. Für alle Punkte ist der Standardfehler mit angegeben. Hypoxie n = 6; Hypoxie + APV n = 4.

### A. Hypoxie ohne APV



### B. Hypoxie mit APV



**Abb. 3-9** Der Effekt von APV auf fEPSP nach LTP in der CA1-Region im Hippocampus. Amygdala-Hippocampus-Neocortex-Schnittpräparat, Maus  
Originalregistrierungen aus den Hypoxieversuchen und den Versuchen mit NMDA-Rezeptor-Antagonisten APV im Hippocampus. (A) zeigt jeweils eine Registrierung aus einem Hypoxieversuch vor und nach dem LTP. Man sieht eine Vergrößerung der Amplitude. (B) zeigt ebenfalls Registrierungen vor und nach dem LTP aus einem Versuch mit APV, hier zeigt sich eine geringere Vergrößerung der Amplituden. Die Registrierung vor dem LTP stammt aus der 30minütigen Erholungsphase, in der sich ein stabiles Potenzial wiedereinstellen konnte. Die zweite Kurve zeigt das fEPSP nach dem LTP. In beiden Versuchsreihen ist es zu einer Erhöhung der Reizantwort gekommen, wobei es keinen signifikanten Unterschied zwischen der Amplitudengröße ohne APV und mit APV gibt (Tab. 3-5).

## 3.2.2 Amygdala

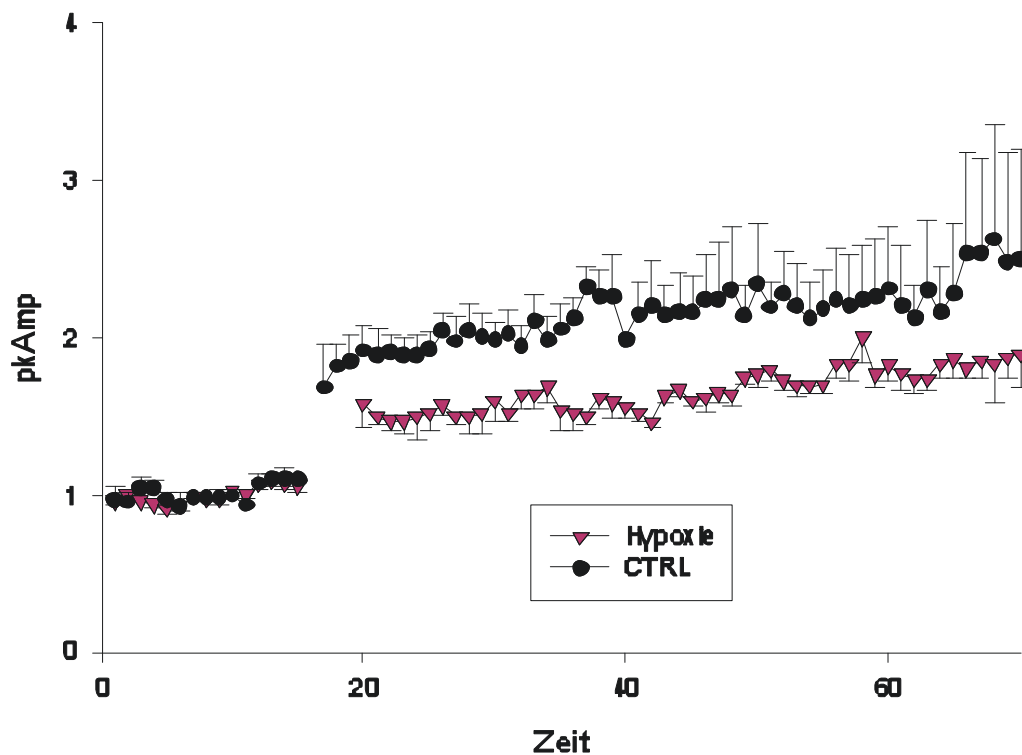
### 3.2.2.1 Kontrollversuche

Es wurden 6 Kontrollversuche an der lateralen Amygdala der Maus durchgeführt. Nach einer Vorlaufphase in der die Amplitude von EP für 15 Minuten stabil war, wurde ein tetanischer Reiz von  $4 \times 100$  Hz in 1 Sekunde ausgelöst (LTP). Die Stimulation führte zu einer stabilen Erhöhung der mittleren EP-Amplitude auf  $86 \pm 8$  % (Tab. 3-5; Abb. 3-10).



### 3.2.2.2 Hypoxieversuche

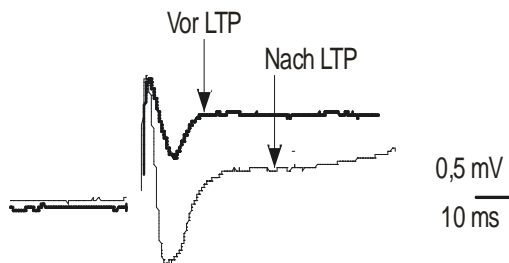
Es wurden 6 Versuche an der lateralen Amygdala der Maus durchgeführt bei denen nach einer Vorlaufphase von 15 Minuten durch Umstellung der Begasung Hypoxie erzeugt wurde. Nach einer Regenerationszeit von 30 Minuten wurde LTP ausgelöst und zeigte eine stabile Erhöhung der mittleren EP-Amplitude von  $56 \pm 5 \%$ , die jedoch kleiner als bei den Kontrollversuchen ausfiel. Der Vergleich der prozentuellen Steigerung nach LTP von den Kontrollversuchen mit den Hypoxieversuchen zeigte eine signifikante Verkleinerung synaptischen Aktivität nach der Hypoxie ( $P = 0,021$ ) (Abb. 3-10; Abb. 3-11).



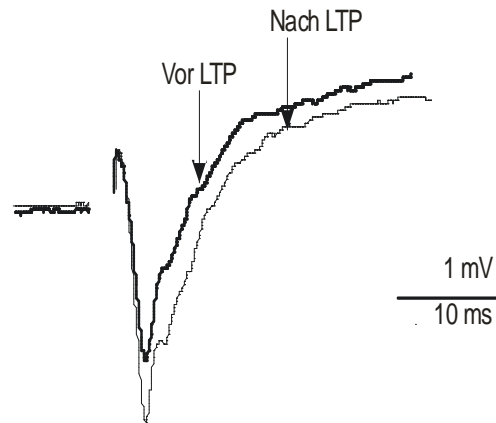
**Abb. 3-10** Gemittelte Kurven der Originalversuch mit Darstellung der Wirkung (in Form der relativen Amplitude der EPs) von Hypoxie auf Langzeitpotenzierung in der lateralen Amygdala der Maus im Vergleich zu Kontrollversuchen (CTRL). Amygdala-Hippocampus-Neocortex-Schnittpräparat, Maus

Die waagerechte Linie verdeutlicht 15minütige Stabilisierungsphase vor dem LTP. Die Lücke zeigt das LTP, das wegen der hohen mV-Zahl herausgenommen wurde. Die Linien danach zeigen die mittleren Amplituden nach dem LTP. Die Hypoxie bewirkt eine signifikant kleinere Steigerung der Amplituden nach LTP im Vergleich zu Kontrolle. Für alle Punkte ist der Standardfehler mit angegeben. CTRL  $n = 6$ ; Hypoxie  $n = 6$ .

### A. CTRL



### B. Hypoxie



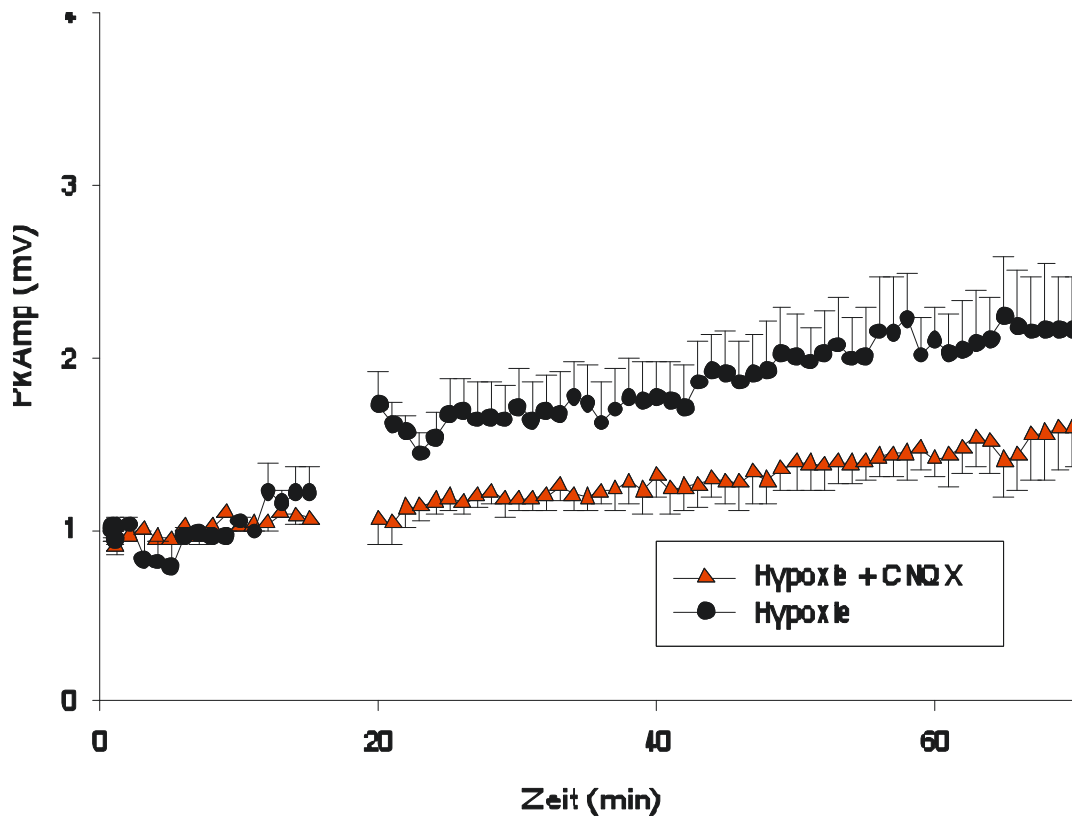
**Abb. 3-11** Der Effekt von Hypoxie auf evozierte Potenziale in der lateralen Amygdala. Amygdala-Hippocampus-Neocortex-Schnittpräparat, Maus.

Typische Originalregistrierungen postsynaptischer Antworten (EP) der lateralen Amygdala. (A) zeigt eine Registrierung aus einem Kontrollversuch (CTRL) vor dem LTP und eine nach dem LTP. Man sieht eine deutliche Vergrößerung der Amplitude. (B) zeigt ebenfalls Registrierungen vor und nach dem LTP aber aus einem Hypoxieversuch. Bei diesen Versuchen fand nach der Auslösung der Hypoxie eine 30minütige Erholungsphase in der sich ein stabiles Potenzial wiedereinstellen konnte. Aus dieser Zeit ist die erste Kurve (vor LTP). Die zweite Kurve zeigt das EP nach dem LTP. Wie man sieht, ist es auch zu einer Vergrößerung der Amplitude gekommen. Es besteht ein signifikanter Unterschied zwischen den Kontrollversuchen und den Hypoxieversuchen bei der Amplitudengröße nach LTP.

#### 3.2.2.3 Auswirkung von CNQX auf LTP

In 4 Versuchen wurde die Auswirkung des Glutamat-Rezeptor-Antagonisten CNQX auf die Aktivität in der lateralen Amygdala untersucht. Nach der Hypoxie wurde der Versuch mit einer Lösung fortgeführt der 10  $\mu\text{mol/l}$  CNQX beigefügt wurden (Tab. 2-1). Die Auslösung von LTP erfolgte wie in den Hypoxieversuchen nach einer halben Stunde. Die Steigerung der mittleren Amplituden betrug

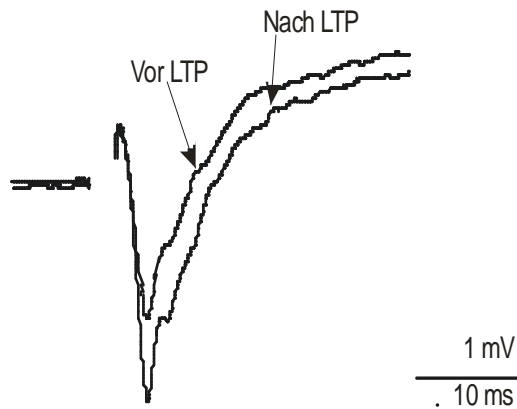
15,7 ± 3 % und war somit signifikant kleiner ( $P \leq 0,001$ ) als ohne die Zugabe von CNQX (Abb. 3-12; Abb. 3-13).



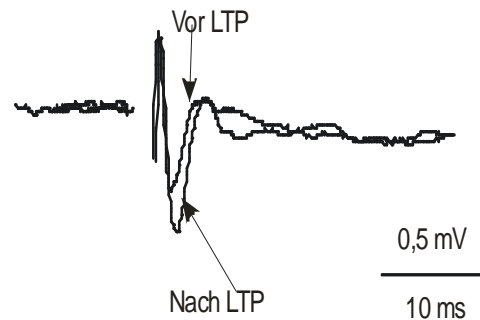
**Abb. 3-12** Gemittelte Kurven der Originalversuche zur Darstellung der Wirkung von CNQX auf die Langzeitpotenzierung im Vergleich zu Hypoxieversuchen in der lateralen Amygdala. Amygdala-Hippocampus-Neocortex-Schnittpräparat, Maus

Die waagerechte Linie verdeutlicht die 15minütige Stabilisierungsphase vor dem LTP auf die sich alle Werte beziehen. Die Lücke soll den Zeitpunkt der Auslösung von LTP anzeigen, die Werte wurden wegen der hohen mV-Zahl herausgenommen. Die Linien danach zeigen die mittleren Amplituden nach dem LTP. Der Einsatz von CNQX zeigt eine deutliche Verkleinerung der fEPSP-Amplituden nach dem LTP. Für alle Punkte ist der Standardfehler mit angegeben. Hypoxie  $n = 6$ ; Hypoxie + CNQX  $n = 4$

### A. Hypoxie



### B. Hypoxie + CNQX



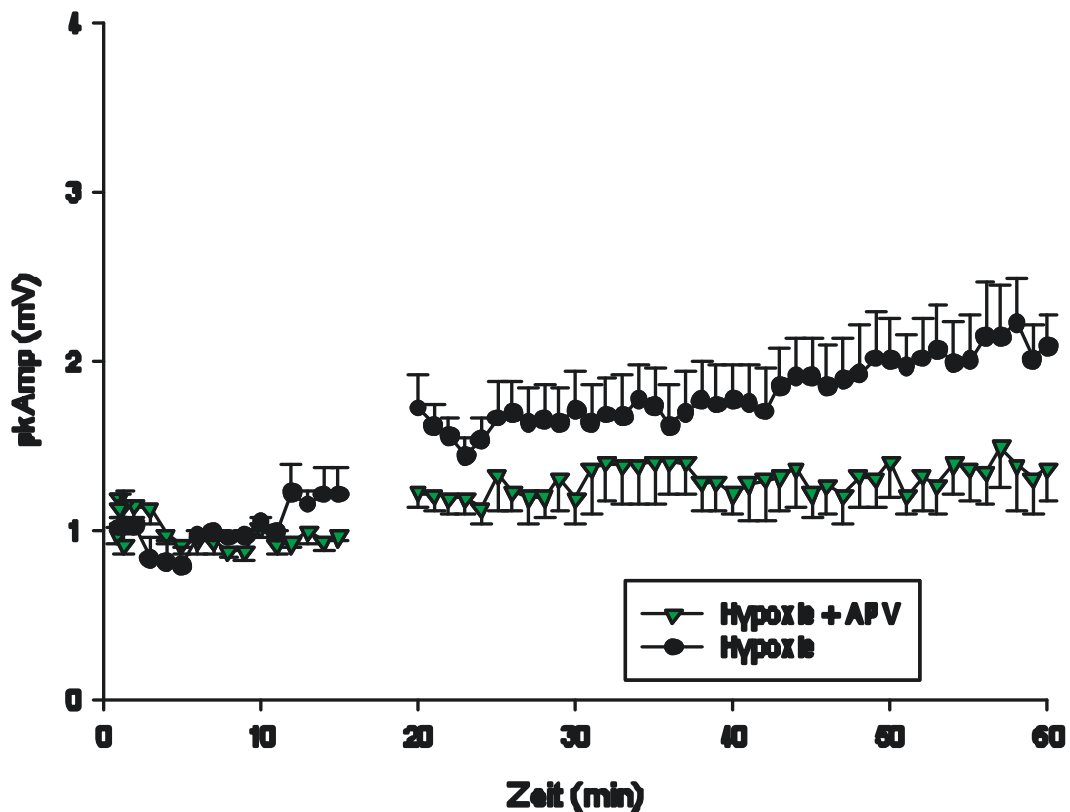
**Abb. 3-13** Der Effekt von CNQX auf EP nach LTP in der lateralen Amygdala. Amygdala-Hippocampus-Neocortex-Schnittpräparat, Maus

Originalregistrierungen aus den Hypoxieversuchen und den Versuchen mit AMPA-Rezeptor-Antagonisten CNQX an der lateralen Amygdala. (A) zeigt jeweils eine Registrierung aus einem Hypoxieversuch vor und nach dem LTP. Man sieht eine Vergrößerung der Amplitude. (B) zeigt ebenfalls Registrierungen vor und nach dem LTP aus einem Versuch mit CNQX, hier zeigt sich eine geringere Vergrößerung der Amplituden. Die Registrierung vor dem LTP stammt aus der 30minütigen Erholungsphase, in der sich ein stabiles Potenzial wiedereinstellen konnte. Die zweite Kurve zeigt das fEPSP nach dem LTP. In beiden Versuchsreihen ist es zu einer Erhöhung der Reizantwort gekommen, wobei es einen signifikanten Unterschied zwischen der Amplitudengröße ohne CNQX und mit CNQX gibt.

#### 3.2.2.4 Auswirkung von APV auf LTP

In 4 Versuchen wurde die Auswirkung vom NMDA-Rezeptor-Antagonisten APV auf die synaptische Übertragung in der lateralen Amygdala überprüft. Der Versuchsaufbau war derselbe wie bei den Hypoxieversuchen, die Lösung (Tab.2-1) nach der Hypoxie enthielt APV (25  $\mu\text{mol/l}$ ). Nach einer Erholungszeit von einer halben Stunde wurde LTP ausgelöst und die EP gemessen. Es stellte sich heraus, dass die mittlere EP-Amplitude nach dem LTP im Vergleich zu den Hypo-

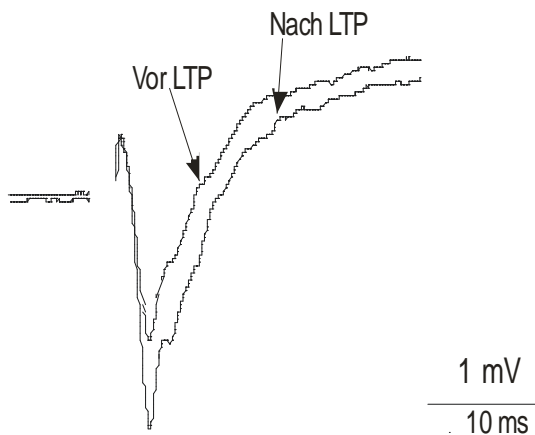
xieversuchen ohne Zugabe der Substanz kleiner wird. (Abb. 3-14; Abb. 3-15). Der Wert liegt bei  $33 \pm 6 \%$  und ist signifikant kleiner als ohne die Zugabe von APV.



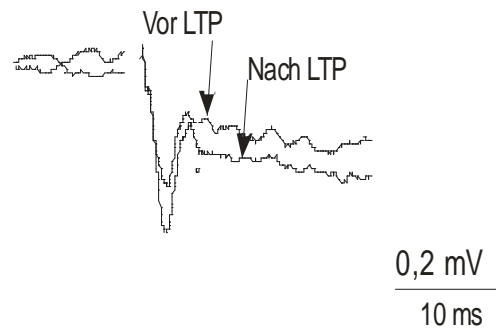
**Abb. 3-14** Gemittelte Kurven der Originalversuche zur Darstellung der Wirkung von APV, einem NMDA-Rezeptor-Antagonisten, auf die Langzeitpotenzierung im Vergleich zu Hypoxieversuchen in der lateralen Amygdala. Amygdala-Hippocampus-Neocortex-Schnittpräparat, Maus

Die waagerechte Linie verdeutlicht die 15minütige Stabilisierungsphase vor dem LTP auf die sich alle Werte beziehen. Die Lücke soll den Zeitpunkt der Auslösung von LTP anzeigen, die Werte wurden wegen der hohen mV-Zahl herausgenommen. Die Linien danach zeigen die mittleren Amplituden nach dem LTP. Der Einsatz von APV zeigt eine Verkleinerung der EP-Amplituden nach dem LTP, die nicht signifikant ist (Tab. 3-5). Für alle Punkte ist der Standardfehler mit angegeben. Hypoxie n = 6; Hypoxie + APV n = 4.

### A. Hypoxie



### B. Hypoxie + APV



**Abb. 3-15** Der Effekt von APV auf EP nach LTP in der lateralen Amygdala. Amygdala-Hippocampus-Neocortex-Schnittpräparat, Maus

Originalregistrierungen aus den Hypoxieversuchen und den Versuchen mit NMDA-Rezeptor-Antagonisten APV in der lateralen Amygdala. (A) zeigt jeweils eine Registrierung aus einem Hypoxieversuch vor und nach dem LTP. Man sieht eine Vergrößerung der Amplitude. (B) zeigt ebenfalls Registrierungen vor und nach dem LTP aus einem Versuch mit APV, hier zeigt sich eine geringere Vergrößerung der Amplituden. Die Registrierung vor dem LTP stammt aus der 30minütigen Erholungsphase, in der sich ein stabiles Potenzial wiedereinstellen konnte. Die zweite Kurve zeigt das EP nach dem LTP. In beiden Versuchsreihen ist es zu einer Erhöhung der Reizantwort gekommen, wobei es keinen signifikanten Unterschied zwischen der Amplitudengröße ohne APV und mit APV gibt (Tab. 3-5).

## 3.2.3 Neocortex

### 3.2.3.1 Kontrollversuche

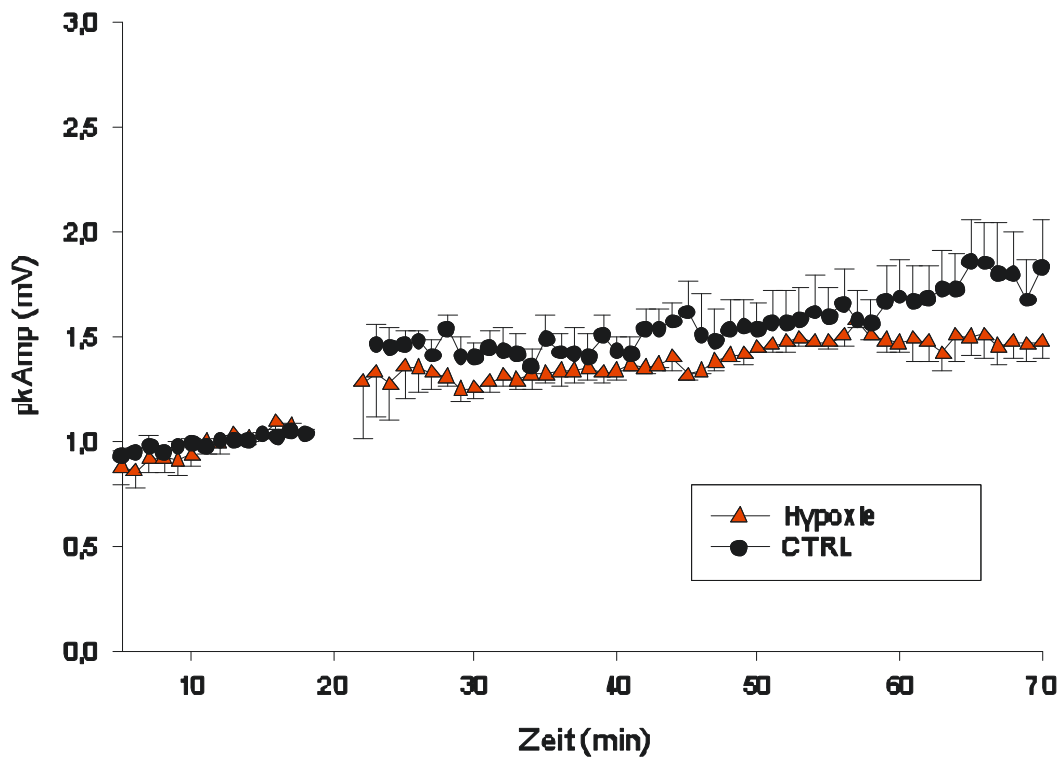
Es wurden 6 Kontrollversuche an dem Neocortex der Maus durchgeführt. Nach einer Vorlaufphase in der die Amplitude von EP für 15 Minuten stabil war, wur-

de ein tetanischer Reiz von 4 x 100 Hz in 1 Sekunde ausgelöst (LTP). Die Stimulation führte zu einer stabilen Erhöhung der mittleren fEPSP-Amplitude auf  $72 \pm 11 \%$  (Tab. 3-5; Abb. 3-16).

### **3.2.3.2 Hypoxieversuche**

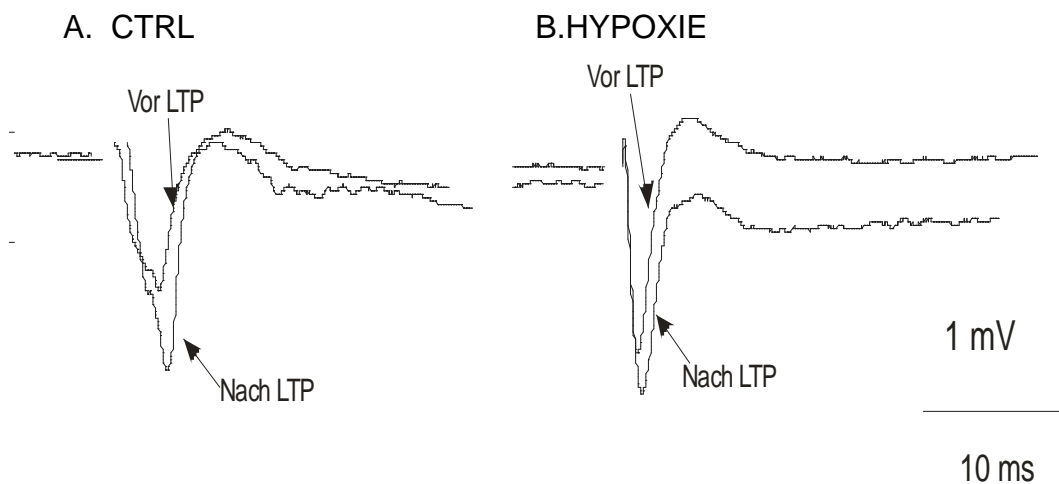
Es wurden 6 Versuche an dem Neocortex der Maus durchgeführt bei denen nach einer Vorlaufphase von 15 Minuten durch Umstellung der Begasung Hypoxie erzeugt wurde. Nach einer Regenerationszeit von 30 Minuten wurde LTP ausgelöst und zeigte eine stabile Erhöhung der mittleren fEPSP-Amplitude von  $39 \pm 6 \%$ , die jedoch kleiner als bei den Kontrollversuchen ausfiel. Der Vergleich der fEPSP-Amplituden zeigte eine signifikante Verkleinerung synaptischen Aktivität nach der Hypoxie ( $P = 0,034$ ) (Abb. 3-16; Abb. 3-17).





**Abb. 3-16** Gemittelte Kurven der Originalversuch mit Darstellung der Wirkung (in Form der relativen Amplitude der fEPSPs) von Hypoxie auf Langzeitpotenzierung im Neocortex der Maus im Vergleich zu Kontrollversuchen (CTRL). Amygdala- Hippocampus- Neocortex- Schnittpräparat, Maus

Die waagerechte Linie verdeutlicht eine 15minütige Stabilisierungsphase vor dem LTP. Die Lücke zeigt das LTP, das wegen der hohen mV-Zahl herausgenommen wurde. Die Linien danach zeigen die mittleren Amplituden nach dem LTP. Die Hypoxie bewirkt eine signifikant kleinere Steigerung der Amplituden nach LTP im Vergleich zu Kontrolle. Für alle Punkte ist der Standardfehler mit angegeben. CTRL  $n = 6$ ; Hypoxie  $n = 6$ .



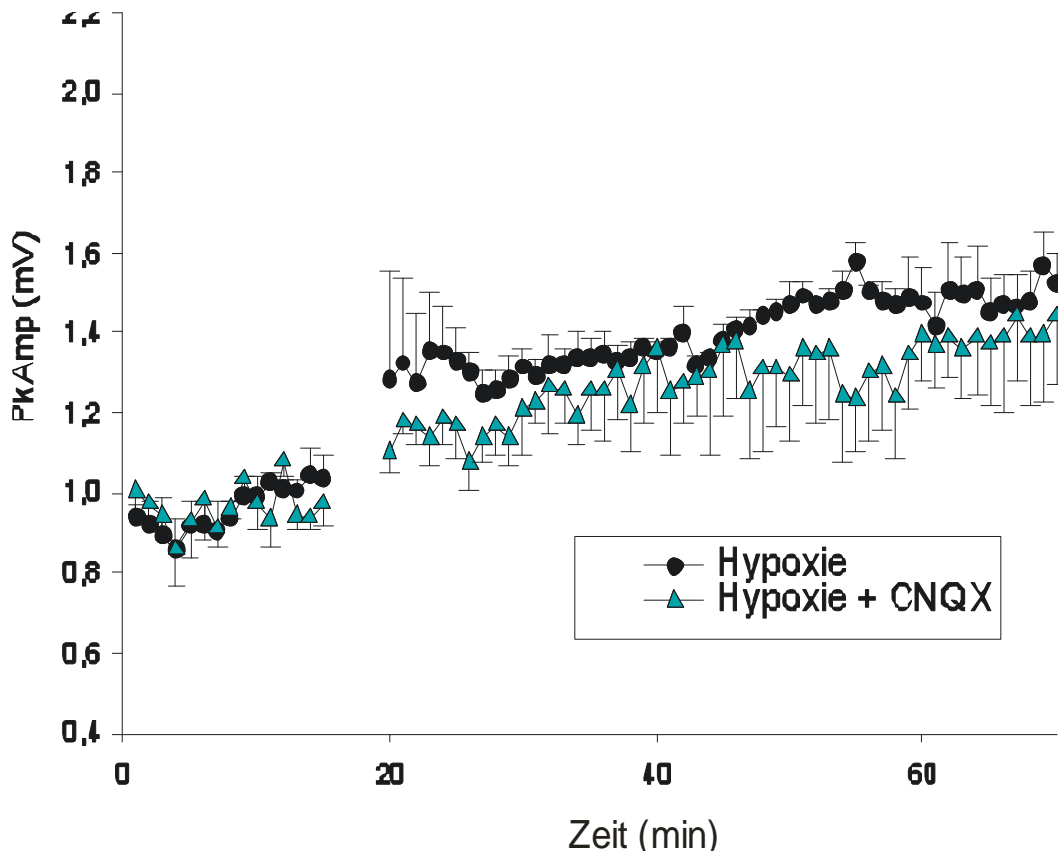
**Abb. 3-17** Der Effekt von Hypoxie auf fEPSP im Neocortex. Amygdala-Hippocampus-Neocortex-Schnittpräparat, Maus.

Typische Originalregistrierungen postsynaptischer Antworten (fEPSP) im Neocortex. (A) zeigt eine Registrierung aus einem Kontrollversuch (CTRL) vor dem LTP und eine nach dem LTP. Man sieht eine deutliche Vergrößerung der Amplitude. (B) zeigt ebenfalls Registrierungen vor und nach dem LTP aber aus einem Hypoxieversuch. Bei diesen Versuchen fand nach der Auslösung der Hypoxie eine 30minütige Erholungsphase in der sich ein stabiles Potenzial wiedereinstellen konnte. Aus dieser Zeit ist die erste Kurve (vor LTP). Die zweite Kurve zeigt das EP nach dem LTP. Wie man sieht ist es auch zu einer Vergrößerung der Amplitude gekommen. Es besteht ein signifikanter Unterschied zwischen den Kontrollversuchen und den Hypoxieversuchen bei der Amplitudengröße nach LTP.

### 3.2.3.3. Auswirkung von CNQX auf LTP

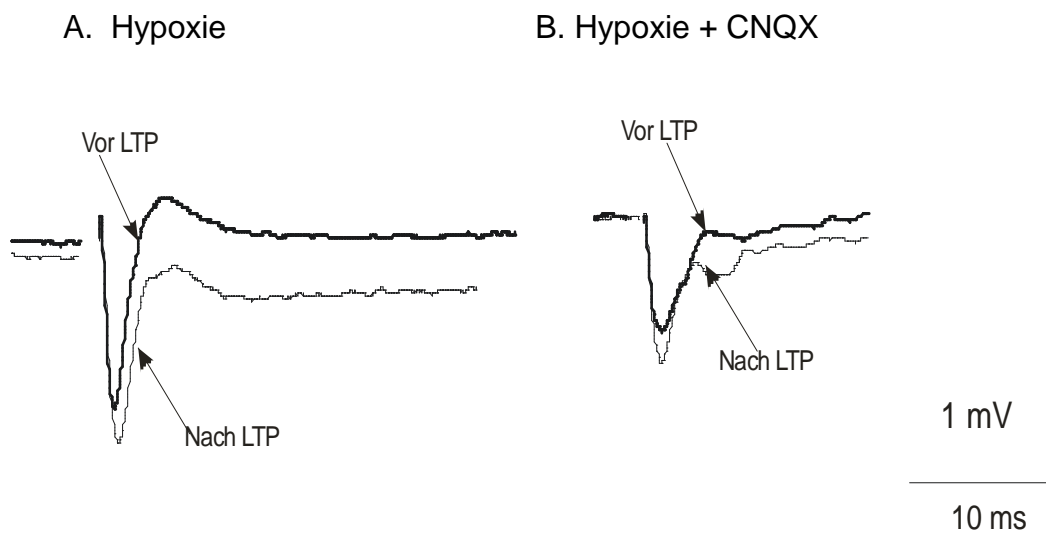
In 4 Versuchen wurde die Auswirkung des Glutamat-Rezeptor-Antagonisten CNQX auf die Aktivität in dem Neocortex untersucht. Nach der Hypoxie wurde der Versuch mit einer Lösung fortgeführt die 10  $\mu\text{mol/l}$  CNQX enthielt (Tab. 2-1). Die Auslösung von LTP erfolgte wie in den Hypoxieversuchen nach einer halben Stunde. Die Steigerung der mittleren Amplituden betrug  $29 \pm 9 \%$  und

war somit nicht signifikant kleiner ( $P = 0,417$ ) als ohne die Zugabe von CNQX (Abb. 3-18; Abb. 3-19).



**Abb. 3-18** Gemittelte Kurven der Originalversuche zur Darstellung der Wirkung von CNQX auf die Langzeitpotenzierung im Vergleich zu Hypoxieversuchen im Neocortex. Amygdala-Hippocampus-Neocortex-Schnittpräparat, Maus

Die waagerechte Linie verdeutlicht die 15minütige Stabilisierungsphase vor dem LTP auf die sich alle Werte beziehen. Die Lücke soll den Zeitpunkt der Auslösung von LTP anzeigen, die Werte wurden wegen der hohen mV-Zahl herausgenommen. Die Linien danach zeigen die mittleren Amplituden nach dem LTP. Der Einsatz von CNQX zeigt eine Verkleinerung der EP-Amplituden nach dem LTP, die jedoch nicht signifikant ist. Für alle Punkte ist der Standardfehler mit angegeben. Hypoxie  $n = 6$ ; Hypoxie + CNQX  $n = 4$ .



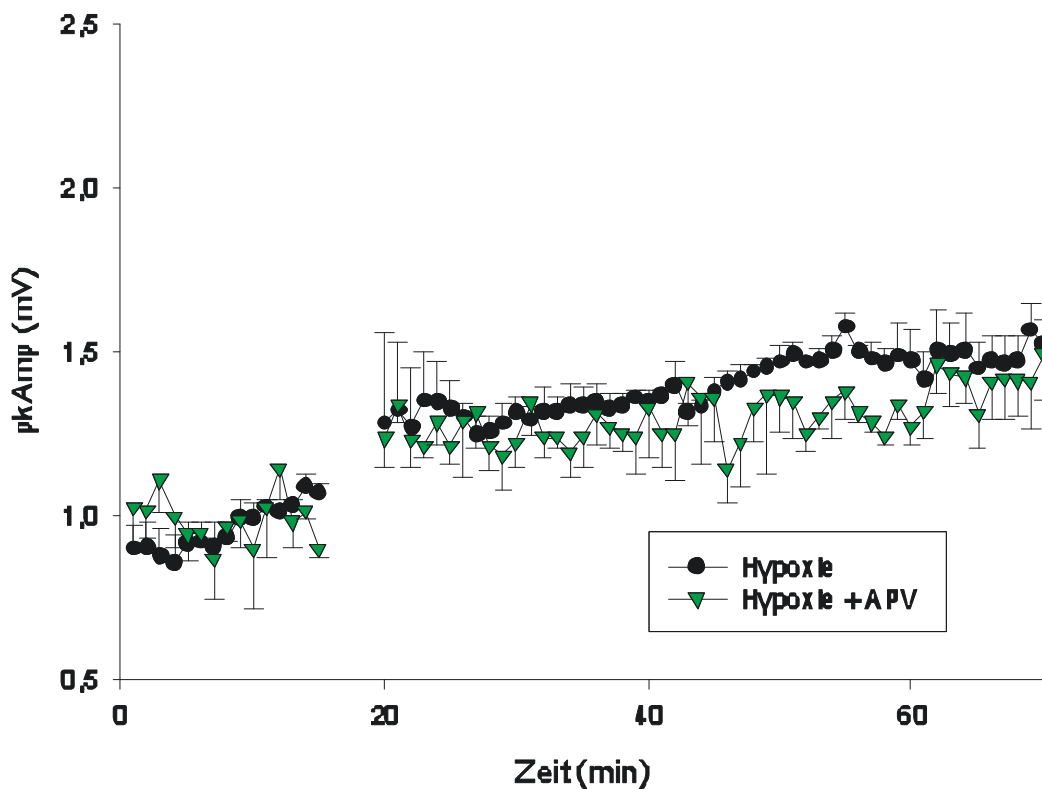
**Abb. 3-19** Der Effekt von CNQX auf fEPSP nach LTP im Neocortex. Amygdala-Hippocampus-Neocortex-Schnittpräparat, Maus

Originalregistrierungen aus den Hypoxieversuchen und den Versuchen mit GABA-Rezeptor-Antagonisten CNQX am Neocortex. (A) zeigt jeweils eine Registrierung aus einem Hypoxieversuch vor und nach dem LTP. Man sieht eine Vergrößerung der Amplitude. (B) zeigt ebenfalls Registrierungen vor und nach dem LTP aus einem Versuch mit CNQX, hier zeigt sich eine geringere Vergrößerung der Amplituden. Die Registrierung vor dem LTP stammt aus der 30minütigen Erholungsphase, in der sich ein stabiles Potenzial wiedereinstellen konnte. Die zweite Kurve zeigt das fEPSP nach dem LTP. In beiden Versuchsreihen ist es zu einer Erhöhung der Reizantwort gekommen, wobei es keinen signifikanten Unterschied zwischen der Amplitudengröße ohne CNQX und mit CNQX gibt.

### 3.2.3.3 Auswirkung von APV auf LTP

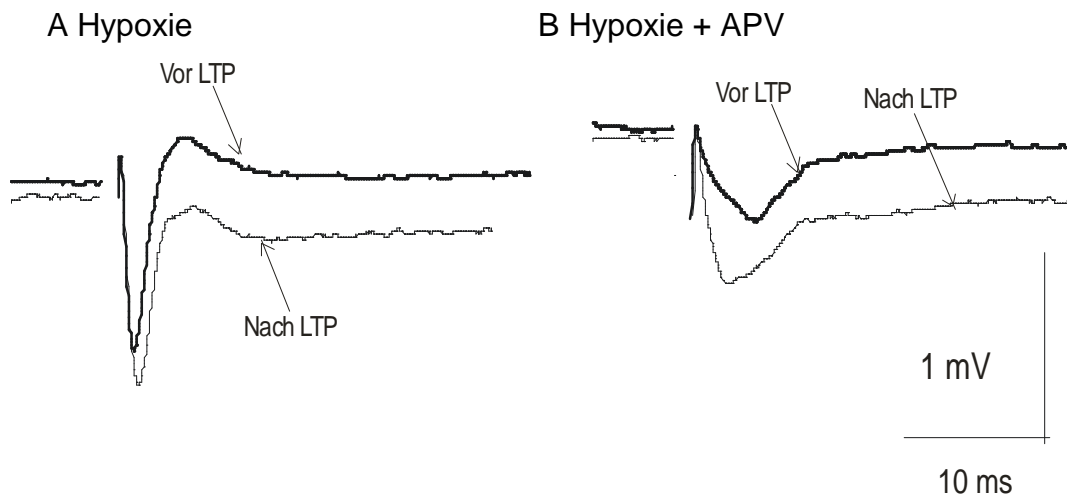
In 4 Versuchen wurde die Auswirkung vom NMDA-Rezeptor-Antagonisten APV auf die synaptische Übertragung in dem Neocortex überprüft. Der Versuchsaufbau war derselbe wie bei den Hypoxieversuchen, die Lösung (Tab. 2-1) nach der Hypoxie enthielt APV (25  $\mu\text{mol/l}$ ). Nach einer Erholungszeit von einer halben Stunde wurde LTP ausgelöst und die EP gemessen. Es stellte sich heraus,

dass die mittlere fEPSP-Amplitude nach dem LTP im Vergleich zu den Hypoxieversuchen ohne Zugabe der Substanz kleiner wurde. (Abb. 3-20; Abb. 3-21). Der Wert liegt bei  $38 \pm 5\%$  und ist nicht signifikant größer als ohne die Zugabe von APV (Tab. 3-5).



**Abb. 3-20** Gemittelte Kurven der Originalversuche zur Darstellung der Wirkung von APV, einem NMDA-Rezeptor-Antagonisten, auf die Langzeitpotenzierung im Vergleich zu Hypoxieversuchen im Neocortex. Amygdala-Hippocampus-Neocortex-Schnittpräparat, Maus

Die waagerechte Linie verdeutlicht die 15minütigen Stabilisierungsphase vor dem LTP auf die sich alle Werte beziehen. Die Lücke soll den Zeitpunkt der Auslösung von LTP anzeigen, die Werte wurden wegen der hohen mV-Zahl herausgenommen. Die Linien danach zeigen die mittleren Amplituden nach dem LTP. Der Einsatz von APV zeigt eine Verkleinerung der fEPSP-Amplituden nach dem LTP, die nicht signifikant ist. Für alle Punkte ist der Standardfehler mit angegeben. Hypoxie n = 6; Hypoxie + APV n = 4.



**Abb. 3-21** Der Effekt von APV auf fEPSP nach LTP im Neocortex. Amygdala-Hippocampus-Neocortex-Schnittpräparat, Maus.

Originalregistrierungen aus den Hypoxieversuchen und den Versuchen mit NMDA- Rezeptor-Antagonisten APV im Neocortex. (A) zeigt jeweils eine Registrierung aus einem Hypoxieversuch vor und nach dem LTP. Man sieht eine Vergrößerung der Amplitude. (B) zeigt ebenfalls Registrierungen vor und nach dem LTP aus einem Versuch mit APV, hier zeigt sich eine geringere Vergrößerung der Amplituden. Die Registrierung vor dem LTP stammt aus der 30minütigen Erholungsphase, in der sich ein stabiles Potenzial wiedereinstellen konnte. Die zweite Kurve zeigt das fEPSP nach dem LTP. In beiden Versuchsreihen ist es zu einer Erhöhung der Reizantwort gekommen, wobei es keinen signifikanten Unterschied zwischen der Amplitudengröße ohne APV und mit APV gibt (Tab. 3-5).

	CTRL	HYPOXIE	APV 25 $\mu\text{mol/l}$	CNQX 10 $\mu\text{mol/l}$
Hippocampus	<b>73 ± 6%</b> <i>n</i> = 6	<b>28 ± 5%</b> <i>n</i> = 6	<b>18 ± 2%</b> <i>n</i> = 4	<b>13 ± 2%</b> <i>n</i> = 4
	<b><i>P</i> = &lt;0,001*</b>		<b><i>P</i> = 0,147</b>	<b><i>P</i> = 0,047*</b>
Amygdala	<b>86 ± 8%</b> <i>n</i> = 6	<b>56 ± 5%</b> <i>n</i> = 6	<b>33 ± 6%</b> <i>n</i> = 4	<b>15 ± 3%</b> <i>n</i> = 4
	<b><i>P</i> = 0,021*</b>		<b><i>P</i> = 0,039*</b>	<b><i>P</i> = &lt;0,001*</b>
Neocortex	<b>72 ± 11%</b> <i>n</i> = 6	<b>39 ± 6%</b> <i>n</i> = 6	<b>38 ± 5%</b> <i>n</i> = 4	<b>29 ± 9%</b> <i>n</i> = 4
	<b><i>P</i> = 0,034*</b>		<b><i>P</i> = 0,978</b>	<b><i>P</i> = 0,417</b>

**Tab. 3-5** Mittlere prozentuale Vergrößerung der fEPSP-/EP-Amplituden +/- S.E.M nach LTP im Verhältnis zu mittleren Amplituden vor dem LTP. *P* ist die Signifikanz in Bezug zur Hypoxie. Maus, Amygdala-Hippocampus-Neocortex-Schnittpräparat.

Die Werte der Prozentualen Steigerung im Vergleich zwischen CTRL (Kontrollversuche) und Hypoxie (Versuche bei denen nach 15 Minuten experimentell Hypoxie ausgelöst wurde) zeigen eine signifikante Verkleinerung der Amplituden nach LTP bei den Hypoxieversuchen. Die Zugabe von CNQX bewirkt eine weitere Verkleinerung der Amplituden im Vergleich zu Hypoxieversuchen, die bei Hippocampus und Amygdala signifikant sind. Die Zugabe von APV lässt die Amplituden kleiner werden, im Vergleich zu Hypoxieversuchen jedoch nicht signifikant. Die signifikanten Werte sind mit einem Stern (\*) gekennzeichnet.

## 4 Diskussion

Ein wesentlicher Aspekt dieser Arbeit ist die Untersuchung der Wirkung von Hypoxie auf den Neocortex und Strukturen des limbischen Systems: den Hippocampus und die Amygdala der Maus *in vitro*. Untersucht wurden die Toleranz des Gewebes auf Hypoxie (in Form von DC-Negativierung) und der Einfluss dieser hypoxischen Bedingungen auf die synaptische Übertragung. Im Vergleich zu nicht hypoxisch vorbelasteten Gewebe konnte anhand der fEPSP/EP-Amplituden die Ausprägung der durch Hypoxie verursachten Einschränkung, bei der synaptischen Übertragung aufgezeigt werden.

Bei der Auswertung der Terminalnegativierung bei Hypoxie zeigte der Neocortex eine größere Toleranz für hypoxische Bedingungen als der Hippocampus oder die Amygdala. In 26 von 39 Fällen war die Latenzzeit von Hippocampus und Amygdala kürzer als die des Neocortex. Weiterhin zeigte sich ein signifikanter Unterschied bei den Erholungszeiten in der Versuchsreihe mit Hippocampus und Neocortex - der Hippocampus erholte sich rascher als der Neocortex.

Die vorliegende Studie konnte zeigen, dass eine Hypoxie die synaptische Aktivität im Hippocampus, in der Amygdala und im Neocortex beeinflusst. Der Vergleich der fEPSP/EP-Amplituden vor und nach dem LTP zeigte bei den Kontrollversuchen eine Vergrößerung dieser Amplituden. Beim Vergleich von Kontrollversuchen und Hypoxieversuchen zeigte sich eine signifikante Hemmung der LTP bei Induktion einer Hypoxie.

Es wurden zusätzlich die beiden Rezeptor-Antagonisten APV und CNQX getestet. APV, ein NMDA-Rezeptor-Antagonist, senkte die synaptische Aktivität in den Hypoxieversuchen noch weiter. Auffallend war, dass lediglich die Amygdala ein signifikantes Ergebnis in dieser Testreihe geliefert hat. Dagegen senkte CNQX, ein AMPA-Rezeptor-Antagonist, die Amplituden nach LTP bei Amygdala und Hippocampus signifikant.



Es steht fest, dass die Neurone von Säugetieren anfällig für eine Hypoxie sind (Lipton, 1999). Das Gehirn ist ein metabolisch sehr aktives Organ, welches aber praktisch keine O<sub>2</sub>-Reserven enthält. Bei einer plötzlichen Ischämie/Hypoxie kann das Gehirn mit seinen Reserven, in Höhe von etwa 0,2ml/100g O<sub>2</sub> und intrazellulärer Energie, den normalen O<sub>2</sub> Verbrauch für ein paar Sekunden und die Energie für 1 bis 2 Minuten bei 37°C aufrechterhalten (Sun *et al.*, 2001). Eine irreversible Schädigung des Hirngewebes tritt sowohl *in vivo* als auch *in vitro* nach 10 Minuten auf (Lipton, 1999). In Tiermodellen *in vivo* ist eine starke Terminalnegativierung im DC-Potential ein Zeichen für Hypoxie oder Ischämie (Speckmann und Caspers, 1974; Caspers *et al.*, 1987), ebenso wie *in vitro* an Hirnschnittpräparaten (Schurr *et al.*, 1995; Wassmann *et al.*, 1996). Diese Terminalnegativierung wird in erster Linie durch den Zusammenbruch des Membranpotentials der Neurone erklärt (Köhling *et al.*, 1996). Hierbei kommt es zu einer exzessiven intrazellulären Calcium-Akkumulation, einem Natrium-Einstrom in die Zelle, einer vermehrten Freisetzung des exzitatorisch wirkenden Glutamats und zu einem Anstieg der extrazellulären Kaliumionen-Konzentration. Daraufhin schwellen die Neurone an und engen den Extrazellularraum ein. Werden die energiereichen Substrate verbraucht, versagen die membrangebundenen Ionenpumpen und die Zellmembrane depolarisieren. Weiterhin lässt sich ein Abfall des extrazellulären pH-Wertes und eine gesteigerte Produktion von Fettsäuren und freien Sauerstoffradikalen feststellen (Speckmann und Caspers, 1974; Köhling *et al.*, 1996). Solche Terminalnegativierungen wurden auch im menschlichen Neocortex beobachtet (Köhling *et al.*, 1996).

Bei der Betrachtung der Latenzzeiten ist ein Unterschied zwischen Neocortex und Hippocampus bzw. Amygdala festzustellen. In doppelt so vielen Fällen war die Latenzzeit im Neocortex länger als in einer der anderen untersuchten Hirnregionen. Diese Beobachtung steht in guter Übereinstimmung mit der höheren Empfindlichkeit, somit mit früher auftretender Gewebeschädigung bei hypoxisch-ischämischen Bedingungen im Hippocampus im Vergleich zum Neocortex (Yanagihara *et al.*, 1985; Globus *et al.*, 1990). Dafür könnte eine unterschiedliche Verteilung von Rezeptoren, wie zum Beispiel der NMDA-Rezeptoren, ver-

antwortlich sein (Monyer *et al.*, 1989). Beide Rezeptorarten sind im gesamten Hirn zu finden und die Verteilung der NMDA-Rezeptoren ist der der AMPA-Rezeptoren sehr ähnlich. So findet man in der Amygdala eine große Anzahl von GABA-Rezeptoren, die überwiegend in der lateralen Amygdala lokalisiert sind (Dehbandi *et al.*, 2008). Die CA1-Region des Hippocampus enthält eine hohe NMDA-Rezeptor-Konzentration (Cotman *et al.*, 1987).

Eine andere Ursache für die unterschiedliche Empfindlichkeit der Strukturen könnte die Verteilung der Ionenkanäle sein. So wurden ATP-sensitive Kalium-Kanäle, die den Kaliumausstrom bei der TN steuern sollen, vor allem im Cortex von Ratten gefunden (Haddad und Jiang, 1994).

Ein weiterer Unterschied zeigte sich bei der Erholungszeit. Der Hippocampus erholte sich signifikant schneller als der Neocortex. Erklärt werden könnte dieses mit der sogenannten „anoxic long term potentiation“. In vivo (Miyazaki *et al.*, 1993) wie auch in vitro (Hammond *et al.*, 1994) konnte eine Erhöhung der synaptischen Aktivität nach Hypoxie festgestellt werden. Hammond *et al.* (1994) führte dieses Phänomen auf die „Hochregulation“ von NMDA-Rezeptoren und somit auf einen Anstieg der intrazellulären Calciumkonzentration zurück.

Ein weiterer Grund dafür könnte die in den Versuchen der vorliegenden Studie ausgelöste Hypoxie sein, die unter Umständen nicht stark genug war, um das Gewebe zu schädigen. Außerdem werden die toxischen Metabolite wie Kaliumionen und exzitatorische Transmitter wie z.B. Glutamat, die durch Akkumulation in vivo beim neuronalen Zelltod eine große Rolle spielen, durch die konstante Perfusion der Versuchskammer mit frischer Lösung teilweise abtransportiert (Hillered *et al.* 1989).

Long-term potentiation wurde häufig wegen ihrer extrem langen Dauer, als ein elementarer Mechanismus der Informationsspeicherung in Nervensystem beschrieben, beziehungsweise als ein geeignetes Modell für die Untersuchung von Mechanismen der funktionellen Plastizität und der Prozesse des Lernens und der Gedächtnisbildung. Es ist als grundlegender Mechanismus synaptischer Informationsspeicherung schon lange bekannt und liefert zudem gute Funktionsmodelle zur Analyse psychischer Störungen. Es gibt unterschiedliche

affine Liganden, die Bedeutung für die LTP und somit für das Gedächtnis, den hypoxischen Zelltod oder für die Entstehung psychotischer Symptomatik haben (Gaebel, 1998). Somit konnte die LTP gut dazu benutzt werden, die Wirkung von Hypoxie auf die synaptische Übertragung in dieser Studie darzustellen. Am besten erforscht ist LTP an den Synapsen der Pyramidenzellen in der CA1-Region und den Schaffer-Kollateralen des Hippocampus. Weiterhin konnte die Ähnlichkeit in der synaptischen Physiologie bei Hippocampus und Amygdala gezeigt werden. Li *et al.* (2001) belegen, dass eine niederfrequente Stimulation des synaptischen Inputs an der basolateralen Amygdala zu einer dauerhaften Verbesserung der synaptischen Übertragung führt. Im Gegensatz zu der synaptischen Plastizität im Hippocampus, basiert diese synaptische Plastizität in der Amygdala auf Kainat-Glutamat-Rezeptoren und breitet sich zu benachbarten inaktivierten Synapsen aus. Diese einzigartigen physiologischen Merkmale der Plastizität der Amygdala können wichtige Auswirkungen auf das Verhalten haben. Dafür spricht auch die Beobachtung der signifikanten Steigerung der fEPSP-/EP- Amplituden in den Kontrollversuchen an Amygdala und Hippocampus. Beide Strukturen sind hinsichtlich LTP bereits gut erforscht. Auch der Neocortex wurde in Studien untersucht und zeigte in der vorliegenden Untersuchung ebenfalls eine Verbesserung der synaptischen Übertragung nach LTP. LTP ist für motorische Lernprozesse im primären motorischen Cortex ein durchaus wichtiger Mechanismus (Bütefisch *et al.*, 2000). Im perirhinalen Cortex es eine Rolle beim räumlichen Denken (Nagahara *et al.*, 1995).

Die Wirkung von Hypoxie auf die von mir untersuchten Strukturen wurde bereits oben beschrieben und erklärt die hemmende Wirkung auf die Synapsen. Alle drei Strukturen reagierten auf Hypoxie mit einer signifikanten Verringerung der synaptischen Aktivität, die sich durch die Verkleinerung der fEPSP/EP- Amplituden registrieren ließ. Es war kein Unterschied zwischen den Strukturen in Beziehung auf die mittlere Amplituden-Steigerung zu sehen.

Für die Entstehung von LTP ist in erster Linie die Aktivierung der NMDA-Rezeptoren nötig (Collingridge *et al.*, 1983). Ein zweiter Mechanismus für LTP

wurde in den Moosfasern des Hippocampus, wo funktionstüchtige NMDA-Rezeptoren fehlen, entdeckt, (Harris und Cotman, 1986). Diese Art der LTP basiert auf Kainat-Glutamat-Rezeptoren (Bortolotto *et al.*, 1999) und kann unabhängig von den AMPA-Rezeptoren ausgelöst werden (Vignes and Collingridge, 1997). APV blockiert zuverlässig die Induktion von LTP (Zhuo, 2009) womit sich die inhibitorische Wirkung von APV in dieser Studie begründen lässt. In der vorliegenden Versuchsreihe fiel auf, dass die Amygdala als einzige der getesteten Regionen sowohl auf APV wie auch auf CNQX mit einer signifikanten Senkung der synaptischen Aktivität reagiert hatte. Beide Antagonisten unterdrückten die LTP in der lateralen Amygdala, CNQX zeigt zudem eine depressive Wirkung im Hippocampus. Weiterhin war auffällig, dass keiner der Antagonisten eine Wirkung auf den Neocortex zeigte, obwohl andere Studien belegen konnten, dass sowohl APV (Gorji *et al.*, 2003) als auch CNQX (Ling *et al.*, 1995) eine hemmende Wirkung auf die Aktivität im Neocortex haben. Harris *et al.* (1984) hat die Hemmung der LTP an den Schaffer-Kollateralen des Hippocampus und im Neocortex beschrieben, dieses konnte in dieser Studie jedoch nicht ganz bestätigt werden. Es konnte nur die Verringerung der Aktivität im Hippocampus durch CNQX aber nicht durch APV demonstriert werden. Es wäre möglich, dass die Übertragung in dieser Region eher auf AMPA/Kainat-Rezeptoren als auf NMDA-Rezeptoren basiert. Ähnliche Ergebnisse haben Kealy und Cummins (2009) bei der Untersuchung der gleichen Rezeptor-Antagonisten im Hippocampus und in perirhinaler Cortex beschrieben. Wobei der Cortex in der vorliegenden Studie, wie bereits erwähnt, keine weitere Reaktion auf die Antagonisten gezeigt hatte. In diesem Zusammenhang ist jedoch zu berücksichtigen, dass die untersuchten Regionen in meiner Studie durch Hypoxie vorgeschädigt waren. Alle anderen Studien zeigten die Wirkung von CNQX bzw. APV auf unvorbelastetes Gewebe und sind somit nicht direkt vergleichbar. Man kann vermuten, dass die Vorschädigung durch Hypoxie der Grund für die unterschiedliche Reaktion auf die beiden Antagonisten sein könnte. Frühere Studien haben bereits die hemmende Wirkung der Hypoxie und die daraus resultierende verringerte Verfügbarkeit von Na-Kanälen und der damit einhergehenden Abnahme der neuronalen Erregbarkeit im Neocortex (Cummins *et al.*,

1993) und im Hippocampus (O'Reilly *et al.*, 1997) belegt. Eine starke Hemmung der neuronalen Aktivität im Neocortex könnte der Grund dafür sein, warum es keine Wirkung von APV und CNQX auf die fEPSP- Amplituden gab.

Es ist darauf hinzuweisen, dass die LTP in meiner Versuchsreihe mit den Rezeptor-Antagonisten nicht komplett blockiert wurde. Es war lediglich eine Verringerung der synaptischen Aktivität zu verzeichnen, jedoch keine komplette Inaktivierung. Solche Ergebnisse wurden bereits bei Experimenten mit einem NMDA-Rezeptorblocker beschrieben, die als Erklärung eine NMDA-Rezeptor unabhängige LTP anführten (Zhuo, 2009). Eine zu geringere Dosis des Blockers könnte ebenfalls ein Grund dafür sein, dass es eine Restaktivität der Synapsen gab, welche zu einer bereits beschriebenen Steigerung der fEPSP/EP- Amplituden nach LTP führte.

Hypoxie bewirkt je nach Dauer und Intensität eine Beeinträchtigung der glutamatergen (Hammond *et al.*, 1994), der GABAergen (Rosen and Morris, 1993) und cholinergen synaptischen Transmission (Porkka- Heiskanen *et al.*, 1997).

In tierexperimentellen Untersuchungen fanden sich Hinweise dafür, dass der Neurotransmitter Glutamat eine wichtige Rolle bei der Gedächtnisbildung spielt. Er wirkt auf NMDA-Rezeptoren, denen eine wichtige Rolle bei LTP im Hippocampus zugeschrieben wird. Außerdem sind komplexe Wechselwirkungen von anderen Neurotransmittern und Neuropeptiden mit bestimmten Gedächtnisprozessen möglich (Khan, 1986).

Eine der häufigsten Folgen einer Hypoxie beim Menschen ist der Verlust von Erinnerungen und ein Rückgang in der Fähigkeit zu Lernen (Lipton, 1999) Es gibt zwei Faktoren, die die extreme Empfindlichkeit des Gedächtnisses auf Hypoxie bestimmen:

1. Die wichtige Rolle der Vernetzung und der Neurone im Hippocampus (Alkon *et al.*, 1998), vor allem die der CA1-Neurone und die der synaptischen Inputs, die für die Kodierung und den Abruf von räumlichen Gedächtnis verantwortlich sind.

2. Die extreme Empfindlichkeit dieser Netzwerke auf Hypoxie (Lipton, 1999). Der Verlust der synaptischen Plastizität, wie sie in dieser Studie gezeigt werden konnte, kann sehr gut zu Gedächtnisverlust aufgrund von Hypoxie führen. Die extreme Empfindlichkeit der CA1-Region des Hippocampus im Vergleich zu anderen Hirnarealen, kann durch eine hohe Dichte an Ionen-Kanälen erklärt werden (De Jong *et al.*, 1999).

Schon früh konnte gezeigt werden, dass die synaptische Plastizität sehr sensibel auf Hypoxie reagiert, noch bevor es zu Anzeichen für zelluläre Schäden kommt. Es wurde bewiesen, dass andere Faktoren als der Zellverlust zu z.B. Verhaltensstörungen führen können (Jaspers *et al.*, 1990). Die Kainat-Rezeptor übertragene LTP in der Amygdala könnte ein Mechanismus für die Impulse sein, die in direktem Zusammenhang mit starken Emotionen stehen. Somit könnte dieser Mechanismus dazu beitragen, einige der häufigsten Störungen des emotionalen Gedächtnisses, einschließlich der post-traumatischen Belastung zu erklären (Chapman, 2001). Die Dysfunktion der betrachteten Hirnareale nach einer Läsion wurde bereits klinisch untersucht: Es konnte gezeigt werden, dass die Stimulation der Amygdala zu Pupillendilatation, Unruhe, Reizbarkeit und Erregung führt (Kaada, 1971). Eine, meist durch operative Eingriffe bedingte, Hemmung der Amygdala führte zu Hypersexualität, verringerter Aufmerksamkeit und Heißhunger (King und Brothers, 1992). Es gibt Anzeichen dafür, dass der Hippocampus beim räumlichen Denken, beim Lernen und bei Emotionen eine Rolle spielt (Leniger *et al.*, 2003). Beim Ausfall dieser Struktur wurden Amnesie, emotionale Störungen oder Hyperaktivität beobachtet (Bures *et al.*, 1957; Isaacson und Pribram, 1975; Dalessio, 1980; Daquin *et al.*, 2001). Der Neocortex hat weitreichende Aufgaben bei der Ausbildung von Bewusstsein, der Sprache, dem Denken, dem Gedächtnis samt Lernen und der Erinnerung sowie beim Ablauf von Körperbewegungen (Schmidt und Thews, 2000). Die Folgen einer Schädigung im Bereich des Neocortex können unterschiedlich sein. In den meisten Fällen ist das motorische System betroffen mit einer Störung der Bewegungsabläufe oder einer kompletten Lähmung. Ist die mittlere Hirnarterie betroffen zeigen sich zusätzlich Sprachstörungen.

Viele dieser Symptome können nach einem Schlaganfall am Patienten beobachtet werden.

Für die Therapie der Folgen eines Schlaganfalls auf molekularer Ebene existiert bisher keine kausale Therapie, es können lediglich die Symptome behandelt werden. Die zerebralen Defekte reichen von Einbußen bei motorischen und sensorischen Fähigkeiten bis hin zu emotionalen und psychischen Veränderungen. Die Folgen sind oft irreversibel.

Die vorliegenden Ergebnisse deuten darauf hin, dass Glutamat-Rezeptoren eine Schlüsselrolle bei der Kontrolle der assoziativen Plastizität in der lateralen Amygdala im Hippocampus und im Neocortex einnehmen. Während eines Schlaganfalls kommt es zur Schädigung des Gewebes und vor allem der synaptischen Übertragung bis hin zum Zelltod. Somit können Glutamat-Rezeptoren ein Ziel für die pharmakologische Behandlung von psychiatrischen Erkrankungen wie Angst, von Amnesien oder Depressionen werden. Womöglich könnte man mit Pharmaka die Rezeptoren soweit beeinflussen, dass der Zelltod verhindert werden kann und somit auch die Folgen eines Schlaganfalls wie motorische Ausfälle.

## 5 Literaturverzeichnis

1. Adolphs, R., Tranel, D., Damasio, A.R. (1998)  
The human amygdala in social judgment.  
Nature 393, 470-474.
2. Adolphs, R., Tranel, D., Damasio, H., Damasio, A., (1994)  
Impaired recognition of emotion in facial expressions following bilateral damage to the human amygdala.  
Nature 372, 669-672.
3. Alkon, D.L., Nelson, T.J., Zhao, W.Q., and Cavallaro, S. (1998)  
Time domains of neuronal Ca<sup>2</sup> signaling and associative memory: steps through a calcitonin, ryanodine receptor, K channel cascade.  
Trends Neurosci 21, 529–537.
4. Amaral, D.G., Price, J.L., Pitkanen, A. & Carmichael, S.T. (1992)  
Anatomical organization of the primate amygdaloid complex.  
In Aggleton, J.P. (ed.), The Amygdala. Neurobiological Aspects of Emotion, Memory, and Mental Dysfunction. Wiley-Liss, New York, pp. 1–66.
5. Anonymus (1998)  
Gesundheitswesen.  
In: Statistisches Bundesamt (Ed): Statistisches Bundesamt. Wiesbaden, Kapitel 16, 430-46027.
6. Astrup, J., Symon, L., Branston, N.M. and Lassen, N.A. (1977)  
Cortical evoked potential and extracellular K<sup>+</sup> and H<sup>+</sup> at critical levels of brain ischemia.  
Stroke 8 1, pp. 51–57.



7. Bachevalier, J. (1994)  
Medial temporal lobe structures and autism: a review of clinical and experimental findings.  
*Neuropsychologia* 32, 627-648.
8. Bailey, C.H, Bartsch, D., Kandel, E.R. (1996)  
Toward a molecular definition of long-term memory storage.  
*Proc Natl Acad Sci USA* 93, 13445-13452.
9. Bannerman, D.M., Rawlins, J.N., McHugh, S.B., Deacon, R.M., Yee, B.K., Bast, T., Zhang, W.N., Pothuizen, H.H., and Feldon, J. (2004)  
Regional dissociations within the hippocampus- memory and anxiety.  
*Neurosci Biobehav Rev* 28, 273–283.
10. Batchelor, S., Thompson, E.O., Miller, L.A. (2008)  
Retrograde memory after unilateral stroke.  
*Cortex* 44(2), 170-8.
11. Baron-Cohen, S., Ring, H.A., Bullmore, E.T., Wheelwright, S., Ashwin, C., Williams, S.C. (2000)  
The amygdala theory of autism.  
*Neurosci Biobehav Rev* 24, 355-364.
12. Bortolotto, Z.A., Clarke, V.R., Delany, C.M., Parry, M.C., Smolders, I., Vignes, M., Ho, K.H., Miu, P., Brinton, B.T., Fantaske, R., Ogden, A., Gates, M., Omstein, P.L., Lodge, D., Bleakman, D., Collingridge, G.L., (1999)  
Kainate receptors are involved in synaptic plasticity.  
*Nature* 402, 297–301.

13. Bauman, M.L., Kemper, T.L. (1993)  
Cytoarchitectonic changes in the brain of people with autism. In: Bauman, M.L., Kemper, T.L. (Eds.).  
The Neurobiology of Autism. Johns Hopkins, Baltimore, MD, pp. 119-145.
14. Bear, M.F., Malenka, R.C. (1994)  
Synaptic plasticity: LTP and LTD.  
Curr Opin Neurobiol 4, 389-399.
15. Birbaumer, N., Grodd, W., Diedrich, O., Klose, U., Erb, M., Lotze, M., Schneider, F., Weiss, U., Flor, H. (1998)  
fMRI reveals amygdala.
16. Bissiere, S., Humeau, Y. & Luthi, A. (2003)  
Dopamine gates LTP induction in lateral amygdala by suppressing feed-forward inhibition.  
Nat Neurosci 6, 587–592.
17. Bliss, T.V, Collingridge, G.L. (1993)  
A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus.  
Nature 361, 31-39 69.
18. Bliss, T.V. & Lomo, T., (1973)  
Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path.  
J Physiol 232, 331-356.
19. Brand, M. und Markowitsch, H.J. (2003)  
The principle of bottleneck structures.  
In: Kluwe, R.H., Lüer, G. und Rösler, F. (Hrsg.) Principles of learning and memory. Basel: Birkhäuser, 171-184.

20. Brand, M. und Markowitsch, H.J. (2006)  
Memory processes and the orbitofrontal cortex.  
In: Zald, D. und Rauch, S. (Hrsg.) The orbitofrontal cortex. Oxford University Press, 285-306.
21. Brand, M., Markowitsch, H.J. (2007)  
Dissoziative („psychogene“) Gedächtnisstörungen – Neuropsychologie und funktionelle Hirnbildgebung.  
Neuroforum 2, 40-46.
22. Bures, J. and Buresova, O. (1957)  
Die anoxische Terminaldepolarisation als Indicator der Vulnerabilität der Großhirnrinde bei Anoxie und Ischämie,  
Pflügers Arch 264, 325-334.
23. Bütefisch, C.M., Davis, B.C. *et al.* (2000)  
Mechanisms of use-dependent plasticity in the human motor cortex.  
Proc Nat Acad Sci USA 97, 3661–3665.
24. Caspers, H., Speckmann, E.-J. und Lehmkuhler, A. (1987)  
DC Potentials of the cerebral cortex. Seizure activity and changes in gas pressure.  
Rev Physiol Biochem Pharmacol 106, 127-178.
25. Chapman, P.F. (2001)  
The diversity of synaptic plasticity.  
Nat Neurosci, 556-558.
26. Chapman, P.F., Ramsay, M.F., Krezel, W., Knevet, S.G. (2003)  
Synaptic plasticity in the amygdala comparison with hippocampus  
Ann N Y Acad Sci 985, 114-124.

27. Clugnet, M.C. and LeDoux, J.E. (1990)  
Synaptic plasticity in fear conditioning circuits: induction of LTP in the lateral nucleus of the amygdala by stimulation of the medial geniculate body.  
J Neurosci 10, 2818-2824.
28. Collingridge, G.L., Kehl, S.J., McLennan, H., (1983)  
Excitatory amino acids in synaptic transmission in the Schaffer collateral-commissural pathway of the rat hippocampus.  
J Physiol 334, 33–46.
29. Coppen, A.J., Doogan, D.P. (1988)  
Serotonin and its place in the pathogenesis of depression.  
J Clin Psychiatry 49 Suppl: 4-11.
30. Cotman, C.W., Monaghan, D.T., Ottersen, O.P., Storm-Mathisen, J. (1987)  
Anatomical organization of excitatory amino acid receptors and their pathways.  
TINS 10, 273-280.
31. Cummins, T.R., Jiang, C., Haddad, G.G. (1993)  
Human neocortical excitability is decreased during anoxia via sodium channel modulation.  
J Clin Invest 91, 608–615.
32. Dalessio, D.J. (1980)  
Wolff's headache and other head pain.  
Oxford University Press, New York.
33. Daquin, G., Micallef, J., Blin, O. (2001)  
Yawning.  
Sleep Med Rev 5; 299-312.

34. Dehbandi, S., Speckmann, E.J., Pape, H.C., Gorji, A. (2008)  
A Cortical spreading depression modulates synaptic transmission of the rat lateral amygdala.  
Eur J Neurosci 27(8), 2057-65.
35. De Jong, G.I., Farkas, E., Stienstra, C.M., Plass, J.R.M., Keijser, J.N., De la Torre, J.C., and Luiten, P.G.M. (1999)  
Cerebral hypoperfusion yields capillary damage in the hippocampal CA1 area that correlates with spatial memory impairment.  
Neuroscience 91, 203–210.
36. Drevets, W.C. (2000)  
Functional anatomical abnormalities in limbic and prefrontal cortical structures in major depression.  
Prog Brain Res 126, 413-431.
37. Eid, T., Du, F. & Schwarz, R. (1995)  
Differential neuronal vulnerability to amino-oxyacetate and quinolinate in the rat parahippocampal region.  
Neuroscience 68, 645–656.
38. Gaebel, W. (1998)  
Zwischen Spezialisierung und Integration- Perspektiven der Psychiatrie und Psychotherapie.  
Wien/New York: Springer, S.129.
39. Gainotti, G. (1972)  
Emotional behaviour and hemispheric side of the lesion.  
Cortex 8, 41-55.

40. Gainotti, G., Azzoni, A., Razzano, C., Lanzilotta, M., Marra, C. & Gasparini, F. (1997)  
The Post-Stroke Depression Rating Scale: A test specifically devised to investigate affective disorders of stroke patients.  
Journal of Clinical and Experimental Neuropsychology 19, 340-356.
41. Gibson, G.E. *et al.* (1981)  
Brain dysfunction in mild to moderate hypoxia.  
Am J Med 70, 1247-1254.
42. Gisvold, S.E., Haraldsteht, O. (1989)  
Pathophysiology of Brain Ischaemia - Possible Therapeutic Targets.:  
Traber, J., Gispen, W.H. (Hrsg) Nimodipine and central nervous system function.  
New vistas Schattauer, Stuttgart, 109-116.
43. Globus, M.Y., Busto, R., Martinez, E., Valdés, I., Dietrich, W.D. (1990)  
Ischemia induces release of glutamate in regions spared from histopathologic damage in the rat.  
Stroke 21 (11 Suppl), III 43-6.
44. Goda, M., Kovac, S., Speckmann, E.J., Gorji, A. (2008)  
Glutamate and dopamine receptors contribute to the lateral spread of epileptiform discharge in rat neocortical slices,  
Epilepsia 49(2), 237-247.
45. Goldstein, K. (1939)  
The organism: A holistic approach to biological derived from pathological data in men.  
New York: American Book Camp

46. Gorji, A. (2001)  
Spreading depression: a review of the clinical relevance  
Brain Res Brain Res Rev 38(1-2), 33-60.
47. Gorji, A., Scheller, D., Speckmann, E-J. ( 2003)  
The lateral spread of epileptiform discharge in rat neocortical slices : effect of focal phencyclidine application.  
Pharmacopsychiatry 36, 113-120.
48. Greger, R. (1996)  
Membranpotential. In „Lehrbuch der Physiologie“.  
Klinke, R., Silbernagel, S. (Hrsg.), Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 2. Auflage, 47-58.
49. Haddad, G.G., Jiang, C. (1994)  
Mechanisms of neuronal survival during hypoxia: ATP-sensitive K<sup>+</sup> channels.  
Biol Neonate 65(3-4), 160-5.
50. Hamann, G.F. (1997)  
Der akute Hirninfarkt: Pathophysiologie und moderne Therapiekonzepte.  
Radiologe 37, 843-852.
51. Hammond, C., Crepel, V., Gozlan, H. and Ben-Ari, Y.(1994)  
Anoxic LTP sheds light on the multiple facets of NMDA receptors,  
Trends Neurosci 17 (11), 497-503.
52. Harris, E.W., Cotman, C.W., (1986)  
Long-term potentiation of guinea pig mossy fiber responses is not blocked by N-methyl D-aspartate antagonists.  
Neurosci Lett 70, 132–137.

53. Harris, E.W., Ganong, A.H., and Cotman, C.W. (1984)  
Long-term potentiation in the hippocampus involves activation of N-methyl-D-aspartate receptors.  
Brain Res 323, 132-137.
54. Hebb, D.O. (1949)  
The Organization of Behaviour. A neurophysiological theory.  
John Wiley & Sons. New York
55. Herrmann, M. (1991)  
Emotional-affektive Veränderungen nach cerebrovaskulären Insulten mit Aphasie. Eine theoretische Übersicht und methodenkritische Studie zu depressiven Veränderungen bei Aphasikern.  
Inaugural Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde der Medizinischen Fakultät der Albert-Ludwigs-Universität Freiburg i. Breisgau.
56. Hillered, L., Hallstrom, A., Segersvard, S., Persson, L., Ungerstedt, U. (1989)  
Dynamic of extracellular metabolites in the striatum after middle cerebral artery occlusion in the rat monitored by intracerebral microdialysis.  
J Cereb Blood Flow Metab 9 (5), 607-616.
57. Hossmann, K.A. (1987)  
Experimentelle Grundlagen der Ischämietoleranz des Hirns.  
Z Kardiol 76 Suppl.4, 47-66.
58. Huff, W., Ruhrmann, S., Sitzer, M. (2001)  
Diagnostik und Therapie der Depression nach Schlaganfall.  
Fortschr Neurol Psychiat 69, 581-591.



59. Huff, W., Steckel, R., Sitzer, M. (2003)  
„Poststroke Depression“ Epidemiologie, Risikofaktoren und Auswirkungen auf den Verlauf des Schlaganfalls.  
Nervenarzt 74, 104-114.
60. Hunt, S.P., Mantyh, P.W. (2001)  
The molecular dynamics of pain control.  
Nat Rev Neurosci 2, 83-91.
61. Isaacson, R.L., Pribram, K.H. (1975)  
The hippocampus.  
Plenum Press, New York.
62. Jasmin J, L., Burkey, A.R., Card, J.P. & Basbaum, A.I. (1997)  
Transneuronal labelling of a nociceptive pathway, the spino (trigemino-) parabrachio- amygdaloid, in the rat.  
J Neurosci 17, 3751-3765.
63. Jaspers, R.M., Block, F., Heim, C., and Sontag, K.-H. (1990)  
Spatial learning is affected by transient occlusion of common carotid arteries (2VO): comparison of behavioural and histopathological changes after ‘2VO’ and ‘four-vessel-occlusion’ in rats.  
Neurosci Lett 117,149–153.
64. Jodar, L., Kaneto, H. (1995)  
Synaptic plasticity: stairway to memory.  
Jap. J. Pharmacol., 68, 359-387
65. Johnston, D., Magee, J. C., Colbert, C. M. *et al.* (1996)  
Active properties of neuronal dendrites.  
Annu Rev Neurosci 19,165-86.

66. Jungehülsing, G.J., Müller-Nordhorn, A.J., Nolte, B.C.H, Roll, A.S., Rossnagel, B.K. Kempfski, O.S. (1994)  
Neuroprotektion.  
Anaesthesist 43 Suppl. I2, 25-33.
67. Kaada, B.R., Feldman, R.S., Langfeldt, T. (1971)  
Failure to modulate autonomic reflex discharge by hippocampal stimulation in rabbits  
Physiol Behav 7(2), 225-31
68. Kealy, J., Commins, S. (2009)  
Antagonism of glutamate receptors in the CA1 to perirhinal cortex projection prevents long-term potentiation and attenuates levels of brain-derived neurotrophic factor.  
Brain Res 10.1016/j.brainres.2009.01.067
69. Kempfski OS. (1994)  
Neuroprotection. Models and basic principles  
Anaesthesist 43 Suppl 2;S25-33.
70. Khan, A.U. (1986)  
Clinical disorders of memory.  
Plenum, New York
71. King, A.S., & Brothers, L.A. (1992)  
The amygdale and social behavior.  
In Aggleton, J.P. (ed.), The amygdala: Neurobiological aspects of emotion, memory and mental dysfunction.  
Whiley-Liss, New York, pp. 353-378.

72. Klinker, R., Silbernagel, S. (1996)  
Erregungsübertragung in Zellverbänden. In „Lehrbuch der Physiologie“. Georg Thieme Verlag, Stuttgart 2. Auflage, 59-78.
73. Kolominisky-Rabas *et al.* (1998)  
A prospective community-based study of stroke in Germany—Erlangen Stroke Project (ESPro): incidence and case fatality at 1, 3, 12 month. Stroke. 29:2501-6. PMID 9836758.
74. Koroleva and Bures, J. (1996)  
The use of spreading depression waves for acute and long-term monitoring of the penumbra zone of focal ischemic damage in rats. Proc Natl Acad Sci pp. 3710–3714.
75. Koroleva, V.I., Korolev, O.S., Loseva, E. and Bures, R. (1998)  
The effect of MK-801 and of brain-derived polypeptides on the development of ischemic lesion induced by photothrombotic occlusion of the distal middle cerebral artery in rats. Brain Res 786, pp. 104–114.
76. Köhling, R., Schmidinger, A., S. Hiilsmann, S., Vanhatalo, S., Lücke, A., Straub, H., Speckmann, E.-J., Tuxhorn, J., Wolf, P., Lahl, R., Pannek, H., Opiel, F., Greiner, C., Moskopp, D., Wassmann, H. (1996)  
Anoxic terminal negative DC-shift in human neocortical slices in vitro. Brain Research 741, 174-179.
77. Kronenberg, G., Katchanov, J., Endres, M. (2006)  
Post stroke depression: clinical aspects epidemiology, therapy and pathology. Nervenarzt 77(10), 1176,1179-82, 1184-5.

78. Krzovska, M. (2006)  
Basics Neurologie. Elsevier, Urban & Fischer Verlag,
79. Kurtzke, J.F. (1982)  
The current neurologic burden of illness and injury  
US Neurol 32, 1207-1212.
80. Kuschinsky, W. (1991)  
Physiology of cerebral blood flow and metabolism.  
Arzneimittelforschung 41, 284-288.
81. Labiche, L., Chan, W., Saldin, K.R. *et al.* (2002)  
Sex and Acute Stroke Presentation.  
Ann Emerg Med 40 (5), 453-460.
82. LeDoux, J. (1993)  
Emotional Network in the brain.  
In: Lewis, M. : Handbook of emotions.  
New York : The Guilford Press, S. 109-118.
83. LeDoux, Joseph, (1996)  
Netz der Gefühle. New York: Simon and Schuster.
84. Leniger, T., von den Driesch, S., Isbruch, K., Diener, H.C., Hufnagel, A.  
(2003)  
Clinical characteristics of patients with comorbidity of migraine and epilepsy.  
Headache 43(6), 672-7
85. Li, H., Chen, A., Xing, G., Wei, M.L., Rogawski, M.A. (2001)  
Kainate receptor-mediated heterosynaptic facilitation in the amygdala.  
Nat Neurosci 4(6), 612-20.

86. Ling, D.S., Benardo, L.S. (1995)  
Recruitment of GABA\* Inhibition in Rat Neocortex is Limited and Not NMDA Dependent  
L Neurophysiol 74, 2329-2335.
87. Linden, D.J. (1994)  
Long-term synaptic depression in the mammalian brain.  
Neuron 12, 457-472.
88. Lipton, P. (1999)  
Ischemic cell death in brain neurons.  
Physiol Rev 79, 1431–1568.
89. Malenka, R.C. (1995)  
Synaptic plasticity in hippocampus and neocortex: a comparison. „The cortical neuron“, Gutnick, M.J., Moody, I. (Hrsg.),  
Oxford University Press, New York, 98-108.
90. Malenka, R.C. & Bear, M.F. (2004)  
LTP and LTD: an embarrassment of riches.  
Neuron 44, 5–21.
91. Malmgren, R., Bamford, J., Warlow, C., Sandercock, P., Slattery, J.(1989)  
Projecting the number of patients with first-ever strokes and patients newly handicapped by stroke in England and Wales.  
Br Med J 298, 656-660.
92. Manfredini, R., Boari, B., Smolensky, M.H., Salmi, R., la Cecililia, O., Maria Malagoni, A., Haus, E., Manfredini, F.(2005)  
Circadian variation in stroke onset: identical temporal pattern in ischemic and hemorrhagic events.  
Chronobiol Int 22(3), 417-53.

93. Manning, B.H. & Mayer, D.J. (1995)  
The central nucleus of the amygdal contributes to the lateral amygdal.  
Eur J Neurosci 11, 1217-1222.
94. Mehler, W.R. (1980)  
Subcortical afferent connections of the amygdala in the monkey.  
J Comp Neurol 190, 733-762.
95. Miyazaki, S., Katayama, Y., Furuichi, M., Kinoshita, K., Kawamata, T. and Tsubokawa, T. (1993)  
Post-ischemic potentiation of Schaffer collateral/CA1 pyramidal cell responses of the rat hippocampus in vivo: involvement of N-methyl-D-aspartate receptors.  
Brain Res 611, 155-159.
96. Monyer, H., Goldberg, M.P. und Choi, D.W. (1989)  
Glucose deprivation neuronal injury in cortical culture.  
Brain Res 483 (2), 347-354.
97. Mountcastle, V.B. (1997)  
The columnar organization of the neocortex.  
Brain 120, 701–722.
98. Nagahara, A.H., Otto, T., Gallagher, M., (1995)  
Entorhinal–perirhinal lesions impair performance of rats on two versions of place learning in the Morris water maze.  
Behav Neurosci 109, 3–9.
99. Olsen, T.S., (1986)  
Regional cerebral blood flow after occlusion of the middle cerebral artery.  
Acta Neurol Scand 73, pp. 321–337.

100. Opitz, P.J. (Hrsg.) (1995)  
Weltprobleme.  
Bonn: Bundeszentrale für politische Bildung, 4.Auflage.
101. Oppenheimer, S. and Hachinski, V. (1992)  
Complications of acute stroke.  
Lancet 339, pp. 721–724.
102. O'Reilly, J.P., Cummins, T.R., Haddad, G.G. (1997)  
Oxygen deprivation inhibits Na<sup>+</sup> current in rat hippocampal neurones via protein kinase C.  
J Physiol (Lond) 503, 479–488.
103. Pape, H.C. & Stork, O. (2003)  
Genes and mechanisms in the amygdala involved in the formation of fear memory.  
Ann NY Acad Sci 985, 92–105.
104. Porkka-Heiskanen, T., Strecker, R.E., Thakkar, M., Bjorkum, A.A., Greene, R.W., and McCarley, R.W. (1997)  
Adenosine: a mediator of the sleep-inducing effects of prolonged wakefulness.  
Science (Wash DC) 276, 1265–1267.
105. Ramon y Cajal, S. (1968)  
"The structure of Ammon's horn".  
Thomas, Springfield, 78.
106. Rosen, A.S. and Morris, M.E. (1993)  
Anoxic depression of excitatory and inhibitory postsynaptic potentials in rat neocortical slices.  
J Neurophysiol 607, 54–60.

107. Schildkraut, J. J. (1965)  
The catecholamine hypothesis of affective disorders: A review of supporting evidence.  
American Journal of Psychiatry 122, 509-522.
108. Schurr, A., Payne, R.S., Heine, M.F., Rigor, B.M. (1995)  
Hypoxia, excitatory and neuroprotection in the hippocampal slice preparation.  
J Neurosci Methods 59, 129-138.
109. Siesjö, B.K. (1992)  
Pathophysiology and treatment of focal cerebral ischemia. Part I: Pathophysiology.  
J Neurosurg 77, 169-184.
110. Siesjö, B.K. (1993)  
A new perspective on ischemic brain damage?  
Prog Brain Res 96, 1-9.
111. Silbernagl, S., Lang, F., (2005)  
Taschenatlas der Physiologie, 10,360.
112. Schmidt, R.F., Thews, G., Lang, F. (2000)  
Physiologie des Menschen, Schmidt, Thews, Lang (Hrsg.),  
Springer-Verlag GmbH.
113. 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.



114. Speckmann, E.J. und Caspers, H. (1974)  
The effect of O<sub>2</sub> and CO<sub>2</sub> tension in the nervous tissue on neuronal activity and DC-potential. In A. Remond. (Hrsg.),  
Handbook of Electroencephalography and Clinical Neurophysiology,  
Vol.2/C, pp. 2C/71-2C/89.
115. Speckmann, E.F., Hescheler, J., Köhling, K. (2008)  
Repetitorium Physiologie.  
Elsevier, Urban & Fischer Verlag, 5, 127-131.
116. Sun, M., Xu., H., Alkon, D.L. (2001)  
Pharmacological Protection of Synaptic Function, Spatial Learning, and  
Memory from Transient Hypoxia in Rats.  
J Pharm 300, 408-416.
117. TerHorst, G.J., De Boer, P., Luiten, P.G.M. & Van Willigen, J.D. (1989)  
Ascending projections from the nucleus of the solitary tract to the  
hypothalamus. A Phaseolus vulgaris lectin tracing study in the rat.  
Neuroscience 31, 785–797.
118. Traystman, R.J., Kirsch, J.R., Koehler, R.C.(1991)  
Oxygen radical mechanisms of brain injury following ischemia and reper-  
fusion.  
J Appl Physiol 71, 1185-1195.
119. Trepel, M. (2004)  
Neuroanatomie : Struktur und Funktion. München  
Urban & Fischer
120. Tsumoto, T. (1992)  
Long-term potentiation and long-term depression in the neocortex.  
Prog Neurobiol 39, 209-228.

121. Vaisanen, J., Linden, A.-M., Lakso, M., Wong, G., Heinemann, U. & Castren, E. (1999)  
Excitatory actions of NMDA receptor antagonist in rat entorhinal cortex and cultured entorhinal cortical neurons.  
*Neuropsychopharmacology* 21, 137–146.
122. Vignes, M., Collingridge, G.L., (1997)  
The synaptic activation of kainate receptors.  
*Nature* 388, 179–182.
123. Wassmann, H., Moskopp, D., Woesler, B., Lücke, A., Speckmann, E.-J., Köhling, R., Straub, H., Hülsmann, S., Greiner, C. (1996)  
Repetitive hypoxic exposure of brain slices and electrophysiological response as an experimental model for investigation of cerebroprotective measurements.  
*Neurol Res* 18, 367-369
124. Watanabe, Y., Ikegaya, Y., Saito, H. & Abe, K. (1995)  
Roles of GABA<sub>A</sub>, NMDA and muscarinic receptors in induction of long-term potentiation in the medial and lateral amygdala in vitro.  
*Neurosci Res* 21, 317–322.
125. Weltermann, B., Rogalewski, A., Homann, .J. *et al.* (2000)  
Wissen über Schlaganfall in der deutschen Bevölkerung.  
*Dtsch Med Wschr* 125, 416-420
126. Werka, T. (1997)  
The effects of the medial and cortical amygdala lesions on post-stress analgesia in rats.  
*Behave Brain Res* 86, 59-65.

127. Wernsmann, B., Pape, H.C., Speckmann, E.J., Gorji, A. (2006)  
Effect of cortical spreading depression on synaptic transmission of rat hippocampal tissues.  
Eur J Neurosci 23(5), 1103-10.
128. Wittchen, H.-U. & Perkonigg, A. (1996)  
Epidemiologie psychischer Störungen.  
In: Ehlers, A. & Hahlweg, K. (Hrsg.). Enzyklopädie der Psychologie: Themenbereich D, Praxisgebiete: Serie Klinische Psychologie. Grundlagen Klinischen Psychologie, Bd. 1, 69-144. Göttingen: Hogrefe.
129. Yanagihara, T., Yoshimine, T., Morimoto, K., Yamamoto, K., Homburger H.A.(1985)  
Immunohistochemical investigation of cerebral ischemia in gerbils.J. neuropathol.  
Exp Neurol 44(2), 204-15.
130. Zhuo, M. (2009)  
Plasticity of NMDA receptor NR2B subunit in memory and chronicPain.  
Molecular Brain 2:4.
131. Zivin, J.A., Choi, D.W. (1991)  
Stroke Therapy.  
Sci Am 265, 56-63.

## 6 Danksagung

An erster Stelle bin ich meinem Doktorvater Herrn Professor Dr. med. Ali Gorji zu großen Dank verpflichtet, der mich zu dieser Arbeit führte und mir mit wertvollen Tipps und Ratschlägen bei der Fertigstellung zur Seite stand.

Frau S. Sasikanthan und Frau B. Herrenpoth danke ich ganz herzlich für die hervorragende Einweisung in den Versuchszentrum sowie die qualifizierte technische Unterstützung bei der Vorbereitung und Durchführung der Experimente. Ihre zuverlässige Betreuung und ihre stete Erreichbarkeit haben zur Verwirklichung der vorliegenden Arbeit sehr beigetragen

Mein herzlicher Dank gilt auch den Mitarbeitern der elektronischen und feinmechanischen Werkstätten des Institutes für Physiologie, die mir bei technischen Problemen immer zur Seite standen. Besonders hervorheben möchte ich die Herren T. Westhoff und L. Sasse. Hierbei sei auch allen anderen wissenschaftlichen und nichtwissenschaftlichen Mitarbeitern des Institutes für Physiologie gedankt, die mir in irgendeiner Form behilflich waren.

Des Weiteren möchte ich an dieser Stelle Martyna danken, ohne die es mir nicht möglich gewesen wäre, meine Versuchsreihen und technischen Arbeiten in der gewünschten Art und Weise durchzuführen und den Laboralltag durchzuhalten. Für viel Lachen und Freude an dieser Arbeit zu Zeiten, als ich dieses nicht mehr für möglich hielt. Von ganzem Herzen „Danke!“

Aus ganzem Herzen danke ich nicht zuletzt meinen Eltern, meiner Oma, meinem tollen Mann, meinem Bruder, meinen Schwiegereltern, Schwager und Schwägerinnen und allen meinen Freunden, vor allem Vanessa und Oliver für das Korrekturlesen der Arbeit. Ich danke Allen für ihre stete und bedingungslose Unterstützung, durch welche die Fertigstellung dieser Arbeit erst möglich wurde.

## 7 Curriculum Vitae

## 8 Anhang

### 8.1 Abbildungsverzeichnis

<b>Abb.1-1</b> Afferenzen zur Amygdala (LeDoux 1996).....	13
<b>Abb.1-2</b> Medialer Temporallappen (aus: Kolb und Whishaw, 1993) .....	14
<b>Abb.1-3</b> Zeichnung der neuronalen Verbindungen eines Nagetier-Hippocampus (Santiago Ramon y Cajal, 1911) .....	16
<b>Abb.2-1</b> Schematische Darstellung der Versuchsprotokolle. Es wurden Versuche mit Sauerstoffentzug (A) und Kontrollversuche (B) ohne Sauerstoffentzug durchgeführt. .	27
<b>Abb.2-2</b> Protokoll zur Auswertung der evozierten Potentiale .....	30
<b>Abb.2-3</b> Protokoll zur Auswertung der Veränderung von DC-Potential .....	31
<b>Abb.3-1</b> Originalaufzeichnung einer Terminalnegativierung während der Hypoxie im Hippocampus und der Neocortex. Maus, Amygdala-Hippocampus-Neocortex-Schnittpräparat. ....	34
<b>Abb.3-2</b> Darstellung einer Terminalnegativierung während der Hypoxie in der Amygdala und der Neocortex der Maus. Amygdala-Hippocampus-Neocortex-Schnittpräparat. ....	37
<b>Abb.3-3</b> Darstellung einer Terminalnegativierung während der Hypoxie in den Neocortex und im Hippocampus der Maus. Amygdala-Hippocampus-Neocortex-Schnittpräparat. ....	40
<b>Abb.3-4</b> Gemittelte Kurven der Originalversuche mit Darstellung der Wirkung (in Form der relativen Amplitude der fEPSPs) von Hypoxie auf Langzeitpotenzierung im Hippocampus der Maus im Vergleich zu Kontrollversuchen (CTRL). Amygdala-Hippocampus- Neocortex- Schnittpräparat, Maus.....	44
<b>Abb.3-5</b> Der Effekt von Hypoxie auf fEPSP nach LTP in CA1-Region des Hippocampus. Amygdala-Hippocampus-Neocortex-Schnittpräparat, Maus. ....	45
<b>Abb.3-6</b> Gemittelte Kurven der Originalversuche zur Darstellung der Wirkung von CNQX auf die Langzeitpotenzierung im Vergleich zu „Hypoxieversuchen“. Amygdala-Hippocampus-Neocortex-Schnittpräparat, Maus.....	46
<b>Abb.3-7</b> Der Effekt von CNQX auf fEPSP nach LTP in der CA1-Region des Hippocampus. Amygdala-Hippocampus-Neocortex-Schnittpräparat, Maus .....	47

<b>Abb.3-8</b> Gemittelte Kurven der Originalversuche zur Darstellung der Wirkung von APV auf die Langzeitpotenzierung im Vergleich zu „Hypoxieversuchen“ in der CA1-Region im Hippocampus. Amygdala-Hippocampus-Neocortex-Schnittpräparat, Maus.....	48
<b>Abb.3-9</b> Der Effekt von APV auf fEPSP nach LTP in der CA1-Region im Hippocampus. Amygdala-Hippocampus-Neocortex-Schnittpräparat, Maus.....	49
<b>Abb.3-10</b> Gemittelte Kurven der Originalversuch mit Darstellung der Wirkung (in Form der relativen Amplitude der EPs) von Hypoxie auf Langzeitpotenzierung in der lateralen Amygdala der Maus im Vergleich zu Kontrollversuchen (CTRL). Amygdala-Hippocampus- Neocortex- Schnittpräparat, Maus.....	51
<b>Abb.3-11</b> Der Effekt von Hypoxie auf evozierte Potenziale in der lateralen Amygdala. Amygdala-Hippocampus-Neocortex-Schnittpräparat, Maus.....	52
<b>Abb.3-12</b> Gemittelte Kurven der Originalversuche zur Darstellung der Wirkung von CNQX auf die Langzeitpotenzierung im Vergleich zu „Hypoxieversuchen“ in der lateralen Amygdala. Amygdala-Hippocampus-Neocortex-Schnittpräparat, Maus.....	53
<b>Abb.3-13</b> Der Effekt von CNQX auf EP nach LTP in der lateralen Amygdala. Amygdala-Hippocampus-Neocortex-Schnittpräparat, Maus.....	54
<b>Abb.3-14</b> Gemittelte Kurven der Originalversuche zur Darstellung der Wirkung von APV, einem NMDA-Rezeptor-Antagonisten, auf die Langzeitpotenzierung im Vergleich zu „Hypoxieversuchen“ in der lateralen Amygdala. Amygdala-Hippocampus-Neocortex-Schnittpräparat, Maus.....	55
<b>Abb.3-15</b> Der Effekt von APV auf EP nach LTP in der lateralen Amygdala. Amygdala-Hippocampus-Neocortex-Schnittpräparat, Maus.....	56
<b>Abb.3-16</b> Gemittelte Kurven der Originalversuch mit Darstellung der Wirkung (in Form der relativen Amplitude der fEPSPs) von Hypoxie auf Langzeitpotenzierung im Neocortex der Maus im Vergleich zu Kontrollversuchen (CTRL). Amygdala-Hippocampus- Neocortex- Schnittpräparat, Maus.....	58
<b>Abb.3-17</b> Der Effekt von Hypoxie auf EP im Neocortex. Amygdala-Hippocampus-Neocortex-Schnittpräparat, Maus.....	59
<b>Abb.3-18</b> Gemittelte Kurven der Originalversuche zur Darstellung der Wirkung von CNQX auf die Langzeitpotenzierung im Vergleich zu „Hypoxieversuchen“ im Neocortex. Amygdala-Hippocampus-Neocortex-Schnittpräparat, Maus.....	60
<b>Abb.3-19</b> Der Effekt von CNQX auf EP nach LTP im Neocortex. Amygdala-Hippocampus-Neocortex-Schnittpräparat, Maus.....	61
<b>Abb.3-20</b> Gemittelte Kurven der Originalversuche zur Darstellung der Wirkung von APV, einem NMDA-Rezeptor-Antagonisten, auf die Langzeitpotenzierung im Vergleich	

zu „Hypoxieversuchen“ im Neocortex. Amygdala-Hippocampus-Neocortex-Schnittpräparat, Maus.....	62
<b>Abb.3-21</b> Der Effekt von APV auf EP nach LTP im Neocortex. Amygdala-Hippocampus-Neocortex-Schnittpräparat, Maus.....	63



## 8.2 Tabellenverzeichnis

<b>Tab.1-1</b> Ursachen für mögliche psychische Veränderungen als Folge eines Schlaganfalls ( aus „Stadien der Krankheitsverarbeitung nach einem Schlaganfall „ Hager, Ziegler, 1998).....	5
<b>Tab.3-1</b> Auswertung der Schreiber ausdrücke, Hippocampus, Amygdala-Hippocampus- Neocortex- Schnittpräparat, Maus.....	35
<b>Tab.3-2</b> Auswertung der Schreiber ausdrücke der Originalversuch in der Amygdala, Amygdala- Hippocampus- Neocortex- Schnittpräparat, Maus .....	38
<b>Tab.3-3</b> Auswertung der Schreiber ausdrücke der Originalversuch in der Neocortex, Amygdala- Hippocampus- Neocortex- Schnittpräparat, Maus.....	41
<b>Tab.3-4</b> Auswertung der Terminalnegativierung im DC-Potential. Maus, Amygdala-Hippocampus-Cortex-Schnittpräparat. ....	42
<b>Tab.3-5</b> Mittlere prozentuale Vergrößerung der fEPSP-/EP-Amplituden +/- S.E.M nach LTP im Verhältnis zu mittleren Amplituden vor dem LTP. P ist die Signifikanz in Bezug zur Hypoxie. Maus, Amygdala-Hippocampus-Neocortex-Schnittpräparat. ....	64

### 8.3 Abkürzungsverzeichnis

Abb. : Abbildung

AMPA:  $\alpha$ -Amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazol-acid

APV: 2-amino-5-phosphonopentanoic acid

ATP : Adenosintriphosphat

bzw. : beziehungsweise

ca. : circa

cm: Zentimeter

CNQX : *N*-methyl-D-aspartate

CT: Computertomografie

CSD : Cortical Spreading Depression

d.h.: das heißt

DC-Potential: langsames Summenpotential, "slow potential", Gleichspannung : "direct current":

EPSP: Exzitatorisches postsynaptisches Potential

*et al.*: et alii

fEPSP: (field) exzitatorisches postsynaptisches Potenzial

GABA: Gamma-Amino-Buttersäure (Neurotransmitter)

g: Gramm

HFS: high- frequency- stimulus

Hz: Hertz

IPSP: inhibitorisches postsynaptisches Potential

Kg.: Kilogramm

KCL: Kaliumchlorid

Lsg.: Lösung

LTP: long - term potentiation / Langzeitpotenzierung

mA: Milliampere

M $\Omega$ : Megaohm

mg: Milligramm

min.: Minute(n)

ml: Milliliter

mm: Millimeter

mmol: Millimol

MRT: Magnetresonanztomographie

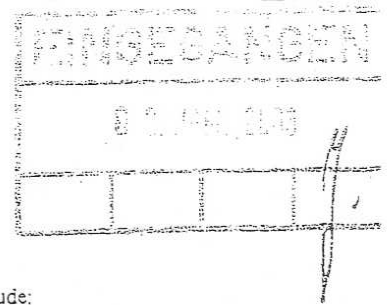
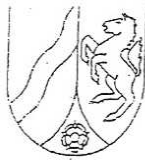
NMDA: *N*-Methyl-D-aspartat

PSD: poststroke depression

pCO<sub>2</sub>/pO<sub>2</sub> : Partialdruck von Kohlendioxid/ Sauerstoff

sec: Sekunde  
SD: spreading depression  
s.o.: siehe oben  
Tab: Tabelle  
TN: Terminalnegativierung  
u.a.: unter anderem  
z.B.: zum Beispiel  
ZNS: Zentralnervensystem  
 $\mu\text{mol/l}$ : Mikromol pro Liter  
 $\mu\text{M}$ : Mikromolar





## 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:  
irmgard.moellers@bezreg-muenster.nrw.de  
Aktenzeichen:  
5070835.1.0 (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:

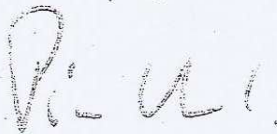
Gegen diesen Bescheid kann innerhalb eines Monats nach Bekanntgabe Widerspruch erhoben werden. Der Widerspruch ist bei mir unter der oben genannten Anschrift schriftlich oder zur Niederschrift einzureichen.

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