

Aus dem Universitätsklinikum Münster

Klinik & Poliklinik für Neurochirurgie
Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Hansdetlef Wassmann

**In vitro Untersuchungen zum Effekt der ” Spreading
Depression” auf die synaptische Transmission im
Amygdala-Hippokampus-Kortex Präparat der Ratte**

INAUGURAL - Dissertation

Zur
Erlangung des doctor medicinae dentium

Der Medizinischen Fakultät
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

vorgelegt von
Gerrit Bals
aus Münster
2009

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

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. Wilhelm Schmitz
1. Berichterstatter: PD Dr. med. Christoph Greiner
2. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Ali Gorji

Tag der mündlichen Prüfung: 07.10.2009

Aus dem Universitätsklinikum Münster
Klinik & Poliklinik für Neurochirurgie
Geschäftsführender Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Hansdetlef Wassmann
Referent: PD Dr. med. Christoph Greiner
Koreferent: Prof. Dr. med. Ali Gorji

ZUSAMMENFASSUNG

In vitro Untersuchungen zum Effekt der "Spreading Depression" auf die synaptische Transmission im Amygdala-Hippokampus-Kortex Präparat der Ratte

Gerrit Bals

Die sogenannte „Spreading Depression“ (SD) spielt in der Entstehung der Migräne eine wichtige Rolle. Dabei handelt es sich um eine, sich gleichmäßig ausbreitende Erregungswelle mit nachfolgender, zeitlich limitierter Reduktion der neuronalen Erregbarkeit. In einem in vitro Modell wurden die Effekte der SD auf „long term potentations“ (LTP) in der lateralen Amygdala (LA) untersucht, die auch in der Angstenstehung eine wichtige Rolle spielt. Die Untersuchungen wurden an Amygdala-Hippokampus-Kortex Hirnschnitten der Ratte durchgeführt n=60. Die Ausbreitungsgeschwindigkeit der SD in der Amygdala betrug $3,3 \pm 0,1$ mm/min. Nach erfolgter SD wurden die Wirkung verschiedener Rezeptoragonisten und -antagonisten auf die LPT untersucht. Der D₂-Dopaminrezeptorantagonist Sulpiride zeigte dabei die deutlichste Suppression der LTP. Die Ergebnisse lassen darauf schließen, dass es sich um ein geeignetes in-vitro- Modell handelt um Substanzgruppen zu untersuchen die bei der Therapie der Migräne und Angsterkrankungen Anwendung finden könnten.

Bei der vorgelegten Arbeit handelt es sich um eine tierexperimentelle Arbeit, genehmigt von der Bezirksregierung Münster am 19.12.2002 (Aktenzeichen: 50.0835.1.0 (G 79/ 2002)).

Tag der mündlichen Prüfung: 07.10.2009

Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung	4
1. Einleitung.....	6
1.1 Theoretische Grundlagen	6
1.1.1 Migräne	6
1.1.2 Spreading Depression (SD).....	7
1.1.3 Amygdala	9
1.1.4 Long-term-potentiation (LTP).....	11
2. Material und Methode	11
2.1. Gewebeschnittpräparate	11
2.2. Versuchskammer	12
2.3. Elektrophysiologischen Aufzeichnungen.....	12
2.4. Induktion der „Spreading Depression“	13
2.5. Long-term potentiation (LTP)	13
2.6. Statistische Analyse.....	14
3. Ergebnisse	16
3.1. Ausbreitungsmuster von CSD und die Geschwindigkeiten	16
3.2. Miteinbeziehung der Glutamatrezeptoren	22
3.3. Miteinbeziehung der GABA _A - Rezeptoren.....	24
3.4. Miteinbeziehung der Dopamin- Rezeptoren	25
4. Diskussion	30
4.1. Spreading Depression (SD).....	30
4.2. Long-term-potentiation (LTP).....	31
4.3. SD induzierte Dysfunktionen der Amygdala	32
4.4. Schlussfolgerung	34
5. Literaturverzeichnis.....	35

1. Einleitung

Ursächlich für die Vorbotenphase, die so genannte Aura bei Migräneanfällen ist ein elektrophysiologisches Phänomen, in Form einer wandernden Störungsfront. Bei dieser Störung, die Streudepolarisation beziehungsweise im internationalen Sprachgebrauch als „Spreading Depression“ (SD) bezeichnet wird, handelt es sich um eine synchronisierte, langsam fortschreitende Depolarisation von Neuronen und Gliazellen, in deren Folge die elektrisch messbare Aktivität der Neurone für eine gewisse Zeit annähernd aufgehoben ist. Die SD beginnt mit ihrer Ausbreitung meist spontan an einem Punkt der Hirnrinde. Da auch vor einem epileptischen Anfall eine Aura bestehen kann, wird ein ähnlicher Zusammenhang wie bei der Migräne vermutet. In der Literatur gibt es eindeutige Hinweise auf einen Zusammenhang zwischen Migräne, Epilepsie und SD in der Amygdala.

1.1 Theoretische Grundlagen

1.1.1 Migräne

An Migränekopfschmerzen leiden ca. 10% der Bevölkerung, wobei Frauen dreimal so häufig wie Männer betroffen sind. Der meist einseitige, stechend pulsierende Kopfschmerz wird häufig durch Übelkeit, Lichtempfindlichkeit und Erbrechen begleitet. Bei manchen Patienten geht dem Migräneanfall eine Aura voraus. Die Migräne läuft typischerweise in vier Stadien ab:

1. Vorbotenphase
2. Auraphase
3. Kopfschmerzphase
4. Rückbildungsphase

Bei 30% Prozent der Patienten kündigen sich die Migräneattacken durch Vorboten an, die Stunden bis Tage dem Kopfschmerz vorausgehen. Die Symptome können dabei höchst unterschiedlich sein und werden von den Patienten als solche meist nicht bewusst registriert.

Bei 15-20% der Patienten geht dem Migräneanfall eine Aura voraus, wobei ganz unterschiedliche Symptome beschrieben werden. Am häufigsten treten visuelle Störungen (z.B. Skotome) auf, Verluste des räumlichen Sehens und visuelle Unschärfen, gefolgt von sensiblen Sensationen, Geruchsstörungen, Gleichgewichts- und Sprachstörungen. Charakteristikum der Migräneaura ist die fortschreitende Dynamik des Prozesses, wie es der Neurologe Lashley bereits 1941 an einem sich weiterbewegenden Skotom beschrieb. Diese Sensationen beruhen auf dem Phänomen der Streudepolarisierung, der so genannten „Spreading Depression“.

Im Anschluss an die Aura folgt die eigentliche Kopfschmerzphase, die meist als pulsierend und stechend wahrgenommen wird und von Übelkeit und Erbrechen begleitet wird. Die Dauer dieser Phase variiert zwischen 60 Minuten bis zu 3 Tagen. Die Rückbildungsphase kann bis zu 24 Stunden dauern.

1.1.2 Spreading Depression (SD)

1941 beschrieb der amerikanische Neurologe Lashley während einer Migräneaura die Ausbreitung eines Skotoms in seinem Gesichtsfeld (Gorji, 2001). Hierbei konnte er eine Ausbreitungsgeschwindigkeit von 2-3mm pro Minute bestimmen. Drei Jahre später beobachtete der Brasilianer Leão (1944) ein ähnliches Phänomen. Während der Durchführung von Experimenten am Kaninchenkortex beobachtete er erstmals eine sich über eine Hirnhemisphäre ausbreitende Unterdrückung der EEG-Wellen, die ebenfalls eine Ausbreitungsgeschwindigkeit von 2-3mm pro Minute

aufwies. Diese nannte er „spreading depression of electroencephalographic activity“ (Somjen, 2001). Diese elektrophysiologischen Veränderungen liegen im Grenzbereich zwischen Neuronen und Gliazellen und führen zu einem intrazellulären Anstieg von Na^+ , Cl^- , HCO_3^- , Ca^{2+} und H_2O . Durch intra-extrazelluläre Flüssigkeitsverschiebungen vermindert sich der Extrazellulärraum um bis zu 57% mit einem erhöhten Gehalt an extrazellulärem K^+ und exzitatorischen Neurotransmittern, wie Glutamat. Die SD breitet sich im Kortex mit einer Geschwindigkeit von ca. 3 mm pro Minute aus und wird von einer langsamen Verschiebung des extrazellulären Potenzials von bis zu 30 mV begleitet (Gorji, 2001). Auf die sehr kurze Übererregung folgt nach der Depolarisation eine vollständige Unterdrückung der elektrischen Aktivität, die bis zu 3 Minuten andauern kann. Erst nach ca. 15 Min. hat sich das neuronale Gewebe elektrophysiologisch wieder erholt. Die Rückbildung der Depolarisation und eine Wiederherstellung des Ausgangszustands werden durch energie-(ATP)abhängige Pumpmechanismen in den Zellmembranen der Neurone und Gliazellen (Na^+ / K^+ -ATPase) erzielt. Die während der SD verbrauchte Energie wird im normal durchbluteten Hirngewebe über den Glukose-Metabolismus bereitgestellt. (Hadjikhani et al., 2001, Somjen, 2001; Buzzi & Moskowitz 2005). Während des gesamten Prozesses kommt es zu einer transienten Veränderung der kortikalen Durchblutung.

Milner postulierte erstmals einen möglichen Zusammenhang zwischen der SD und Migräneattacken (Gorji, 2001). Neuere Untersuchungen mittels funktioneller Magnetresonanztomographie (fMRT) zeigen, dass es während visuellen Migräneattacken in der Sehrinde des okzipitalen Kortex zu einer darstellbaren „cortical spreading depression“ (CSD) kommt. Noch nicht ausreichende Informationen sind über die Effekte des CSD auf die Amygdala und ihre neuronale Aktivität bekannt (Obrenovitch, 1999; Gorji, 2001; Wernsmann et al., 2006; Sachs et al., 2007 Berger et al. 2008)

1.1.3 Amygdala

Die Amygdala ist eine paarig angelegte Ansammlung von Kernen in der Tiefe des medio-anterioren Temporallappens, die aus 13 Einzelkernen besteht und in Untereinheiten gegliedert ist.

Sie ist Teil des limbischen Systems, das zur Entstehung von Triebverhalten und zur Verarbeitung von Emotionen dient und eine entscheidende Rolle in der affektiven Auswertung der multimodalen, sensorischen Aufnahme und damit der konditionierten Furcht und Angst spielt (Pape & Stork, 2003). Externe Impulse werden in der Amygdala verarbeitet und vegetative Reaktionen darauf eingeleitet. (TerHorst et al., 1989; Amaral et al., 1992). Sie ist an Erregungswahrnehmungen beteiligt wozu affekt- oder lustbetonte Empfindungen, wie z.B. der Sexualtrieb zählen.

Die Afferenzen zur Amygdala sind hoch prozessiert. Bis auf den Geruchssinn werden sämtliche Informationen bereits in auditorischen, sekundären visuellen und sensorischen Gebieten der Großhirnrinde verarbeitet bzw. thalamisch verschaltet (Amaral et al., 1992). Hierbei erreichen die Afferenzen hauptsächlich den basolateralen Kernkomplex der Amygdala. Lediglich der Geruchssinn gibt über den Bulbus olfactorius Kollateralen ohne thalamische Umschaltung zur medialen Amygdala ab. Die zentrale Amygdala spielt eine wichtige integrative Rolle in der Schmerzwahrnehmung und empfängt Informationen von den äußeren Schichten des Trigemuskerngebiets über den seitlichen parabrachialen Bereich (Jasmin et al., 1997). Fasern vom zentralen Kern der Amygdala ziehen in und durch das Mittelhirn bis in die Brücke und die Medulla und sind unter anderem mit der periaqueductalen Region verschaltet (Mehler, 1980).

Über die Efferenzen der Amygdala werden unterschiedlichste neurophysiologische Prozesse gesteuert, die bei der Angstenstehung u.a. Fluchtreaktionen auslösen können. Die Produktion der Neurotransmitter

Dopamin, Adrenalin und Acetylcholin wird über Efferenzen angeregt, die über den Locus caeruleus, den Nucleus tegmentalis lateralis dorsalis, sowie die Area tegmentalis ventralis laufen. Die Produktion dieser Neurotransmitter wirkt aufmerksamkeits- und vigilanzsteigernd. Durch Efferenzen zum Nucleus parabrachialis wird die Atmung stimuliert, wodurch eine schnellere Flucht ermöglicht wird. Die Stimulation des Nucleus motorius des Nervus trigeminus, wie auch des Nervus facialis führt zu einem ängstlichen Gesichtsausdruck. Weitere Efferenzen ziehen zur Formatio reticularis um das Reflexniveau zu verstärken, sowie zum Nucleus dorsalis des Nervus vagus zur Beeinflussung des Magen-Darm-Trakts und Hypothalamus. Von dort aus wird die ACTH-Ausschüttung stimuliert und der Sympathikus aktiviert.

Veränderungen im Bereich der Amygdala durch Infarkte oder Tumore führen zu einer Vielzahl von Fehlfunktionen. Hierzu gehören autistische Störungen, die Narkolepsie, Depressionen, posttraumatische Belastungsstörungen, Phobien, Gedächtnisstörungen sowie die Unfähigkeit der emotionalen Einschätzung von Situationen (Manning & Mayer, 1995; Werka, 1997; Shi & Davis, 1999).

An Tierversuchen konnte gezeigt werden, dass je nach Lokalisation der elektrischen Stimulation in der Amygdala unterschiedliche Reaktionen hervorgerufen werden können (Fifkova & Syka, 1964; Krivanek & Fifkova, 1965). So führte die elektrische Stimulation in den zentralen Kernen zu Fluchtreaktion oder Wut. Eine Pulserhöhung, wie auch eine Änderung des Fressverhaltens und der Sexualität konnten an jeweils anderen Punkten provoziert werden.

1.1.4 Long-term-potentiation (LTP)

1973 entdeckten Bliss und Lomo, dass mittels kurzer tetanischer Stimulation von Neuronen des Gyrus dentatus über den Perforant Pathway im Hippokampus eine Erhöhung erregender postsynaptischer Potenziale in der Zielzelle erzeugt werden kann. Sie nannten dieses Phänomen lang anhaltende Potenzierungen (long-term potentations; LTP). Die LTP kann an Pyramidenneuronen des Hippokampus für längere Zeiträume in Form von erhöhten exzitatorischen postsynaptischen Potenzialen, die auf die Testreize folgen, nachgewiesen werden.

2. Material und Methode

2.1. Gewebeschnittpräparate

Die Experimente wurden an Schnittpräparaten aus dem Gehirn von Ratten vorgenommen (n=60). Das Gewicht der männlichen und der weiblichen Ratten lag zwischen 250-400g.

Die Ratten wurden mit Methohexital tief narkotisiert und dekapitiert. Die Gehirne wurden entnommen und in eine 4°C kalte, mit Carbogen begaste Präinkubationslösung überführt. Die Kleinhirne wurden entfernt und die Hemisphären sagittal geteilt. Das gewonnene Amygdala-Hippokampus-Kortex Schnittpräparat besteht aus Anteilen des temporalen, des perirhinalen und entorhinalen Kortex, des Subiculums, des Gyrus dentatus und der Amygdala. Die Schnittdicke der Präparate betrug 500 µm. Die Schnittpräparate wurden bei 28°C in ACSF (ACSF = artificial cerebrospinal fluid) aufbewahrt und kontinuierlich mit 95% O₂ und 5% CO₂ begast. Der pH wurde bei 7,4 stabil gehalten. Die Lösung enthielt (mmol/l): NaCl 124, KCl 4, CaCl₂ 1.0, NaH₂PO₄ 1.24, MgSO₄ 1.3, NaHCO₃ 26 und Glukose 10 (siehe Tabelle). Nach 30 Minuten Inkubation wurde der Lösung CaCl₂ zugeführt und dieses auf 2,0 mmol/l erhöht.

2.2. Versuchskammer

Nach weiteren 30 Minuten wurde der Schnitt in eine Messkammer vom „interface typ“ überführt. Hierbei handelt es sich um eine Versuchskammer, in der das Hirnschnittpräparat von unten kontinuierlich mit ACSF bei 32°C umspült wird (1.5-2 ml/ Minute) und die Oberfläche mit wasserdampfgesättigtem O₂-Carbongemisch befeuchtet wird. Durch ein Kodak-Linspapier wurde ein gleichmäßiges Umspülen des Gewebeschnittes ermöglicht.

Über die Carbogenbegasung wurde der pH-Wert der Lösung auf 7,35 – 7,5 eingestellt. Die Versuchsbedingungen wurden durch kontinuierliche Messungen mittels Thermoelement und einer pH-Elektrode in der Ableitkammer kontrolliert. Die Flüssigkeit in der Versuchskammer wurde, durch die Einstellung der Fließgeschwindigkeit innerhalb von 6 min ausgetauscht. Über einen regelbaren Wärmetauscher wurde die Temperatur der Lösung während der Versuche auf 32°C gehalten. Die Schnittpräparate durch ein über der Ableitkammer installiertes Mikroskop visuell kontrolliert.

2.3. Elektrophysiologischen Aufzeichnungen

Die extrazellulären Feldpotenziale (FP) wurden mit Mikroelektroden aus Glas (150 mmol/l NaCl; 2-10 MΩ) aufgenommen. Mithilfe eines Elektrodenziehgerätes wurde ihr Innendurchmesser auf 0,87 mm bei einem Außendurchmesser von 1,5 mm gezogen. Anschließend wurden die Elektrodenspitzen manuell auf einen Durchmesser von 5-10µm zurück gebrochen, mit Kontrolllösung gefüllt und mit zwei Mikromanipulatoren in die Amygdala des Gewebeschnittes, ca. 100µm unter der Schnittoberfläche, platziert. Um die Mikroelektroden an den Verstärker zu koppeln, wurden KCl-Brücken verwendet. Als Referenzelektrode diente

eine KCl-Ausflusselektrode, die sich im Bad befand. Die KCl- Brücken bestanden aus zusammengesteckten Kapillaren, deren Außendurchmesser 5mm und der Innendurchmesser 3mm betrug. Sie wurden mit 2mmol/l KCl gefüllt und waren über einen Ag/AgCl-Draht mit dem Verstärker verbunden. Die Feldpotenziale wurden oszilloskopisch aufgezeichnet. Die Intensität der Stimulation der evozierten Potenziale wurde auf 50% der Maximalamplitude stabil gehalten. Folgenden Substanzen wurden der Badlösung zugegeben: Bicucullin, 6-cyano-7-nitroquinoxaline-2,3-dione (CNQX), DL-2-amino-5-phosphonovaleric acid (APV), Quinipirole, Somatostatin, Tetrahydracannabinol und Sulpirid. Berechnet wurde die Amplitude der evozierten Potenziale unter Zugabe der Lösungen. Dabei wurde von der Grundlinie bis zum negativen Maximum der Potenziale gemessen.

2.4. Induktion der „Spreading Depression“

Einen Tag vor dem Versuch wurde die Spitze einer Glaselektrode mit KCl beträufelt. Die entstandene Kristallisierung wurde zur Auslösung von SD genutzt. Hierfür wurden die Kristalle an der Glaselektrode, mittel eines speziellen Halters, kurz mit dem Gewebe in Berührung gebracht. Die daraufhin ausgelöste SD wurde in Bezug auf Umfang-, Dauer-, und Geschwindigkeit ausgewertet.

2.5. Long-term potentiation (LTP)

Um externe Kapsel Fasern anzuregen, wurden einzelne elektrische Impulse (0,05 HZ) erzeugt. Die Ableitelektrode bestand aus einer zweipoligen Platinelektrode. Über den gesamten Versuchszeitraum wurden die Impulse in der lateralen Amygdala im Minutenabstand wiederholt. Nach einer Versuchsdauer von 75 Minuten wurde drei LTP im Abstand von 45

Sekunden ausgelöst (Stimulation 100 Hz, Impulsdauer 0.1ms, Wiederholung alle 200ms). Nach Auslösung der drei LTPs wurde der mit den o.g. Substanzen versetzte ACSF (Tab. 1, Nr. 4-10) abgesetzt und durch die Inkubationslösung II (Tab. 1, Nr. 2) ersetzt.

2.6. Statistische Analyse

Alle Daten werden als Mittelwert \pm SEM gegeben. Die Daten wurden statistisch unter Verwendung des Mann-Whitney- Rank- Sum- Test (MRST) verglichen. Eine Signifikanz wurde bei einem Wahrscheinlichkeitswerte kleiner als 0.05 angenommen. Statistische Vergleiche mit den Gruppen, die kleiner als $n = 2$ sind, wurden nicht durchgeführt.

Nr	Name	NaCl (mmol/l)	KCl (mmol/l)	NaH ₂ PO ₄ (mmol/l)	MgSO ₄ (mmol/l)	NaHCO ₃ (mmol/l)	CaCl ₂ (mmol/l)	Glucose (mmol/l)	Substanz
1	Präinkubations- Lösung (YI)	124	4	1,24	1,3	26	1	10	
2	Inkubations- Lösung (YII) +	124	4	1,24	1,3	26	2	10	
4	Inkubations- Lösung (YII) + APV	124	4	1,24	1,3	26	2	10	APV (100 µM)
5	Inkubations- Lösung (YII) + Bicuculline	124	4	1,24	1,3	26	2	10	Bicuculline (10 µM)
6	Inkubations- Lösung (YII) + CnQX	124	4	1,24	1,3	26	2	10	CNQX (10 µM)
7	Inkubations- Lösung (YII) + Quinipirole	124	4	1,24	1,3	26	2	10	Quinipirole (10 µM)
8	Inkubations- Lösung (YII) + Somatostatin	124	4	1,24	1,3	26	2	10	Somatostatin (2 µM)
9	Inkubations- Lösung (YII) + Tetrahydrocan nabinol	124	4	1,24	1,3	26	2	10	Tetrahydroca nnabinol (100 µM)
10	Inkubations- Lösung (YII) + Sulpirid	124	4	1,24	1,3	26	2	10	Sulpirid (10µM)

Tab.1: Zusammensetzung der verwendeten Lösungen (YI: Yamamoto I, YII: Yamamoto II, Yamamoto mit der jeweiligen Substanz)

	Periode 1	Periode 2	Periode 3
Lösung/ Substanzen	Y II-Lösung	Y II-Lösung + Zugabe der jeweiligen Substanz	Y II-Lösung

3. Ergebnisse

Durch kurze Berührung der Amygdala mit einer KCl-behafteten Glaselektroden spitze konnten regelmäßige durchgehende Depolarisationen ausgelöst werden. Die Dauer der Depolarisation betrug 2 - 20 Minuten. Während dieses Zeitraumes konnte keine weitere Erregungsausbreitung registriert werden. Anschließend sind den Gewebsschnitten unterschiedliche Substanzen zugeführt worden. Hierbei haben sich bei den Substanzen Tetrahydrocannabinol ($P = 1,000$), Bicuculline ($P = 0,190$) und APV ($P = 0,114$) die evozierten Potentiale, im Vergleich zu den Versuchen welche ohne diese Substanzen durchgeführt wurden, nicht signifikant verändert. Diesbezüglich zeigten die Versuche, welchen die Substanzen [CNQX ($P = 0,001$), Quinipirole ($P = <0,001$), Somatostatin ($P = <0,001$), Sulpirid ($P = 0,016$)] zugeführt wurden eine deutliche Signifikanz. Allen Versuchen gleich ist, dass sich die Amplituden, welche durch die SD bedingten evozierten Potentiale hervorgerufen wurden, auf einem höheren Niveau normalisierten.

3.1. Ausbreitungsmuster von CSD und die Geschwindigkeiten

Die Analyse von SD innerhalb der Amygdala ergab eine Ausbreitungsgeschwindigkeit von $3,3 \pm 0,1$ mm/min. Festgestellt wurde diese Geschwindigkeit, indem man den Abstand zwischen den beiden Mikroelektroden maß und den Unterschied bezüglich der Zeit zwischen der Ankunft an den Elektroden teilte.

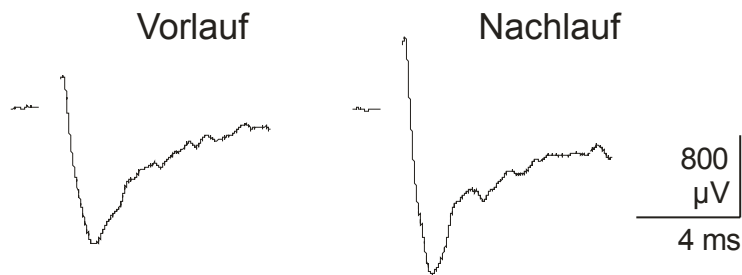
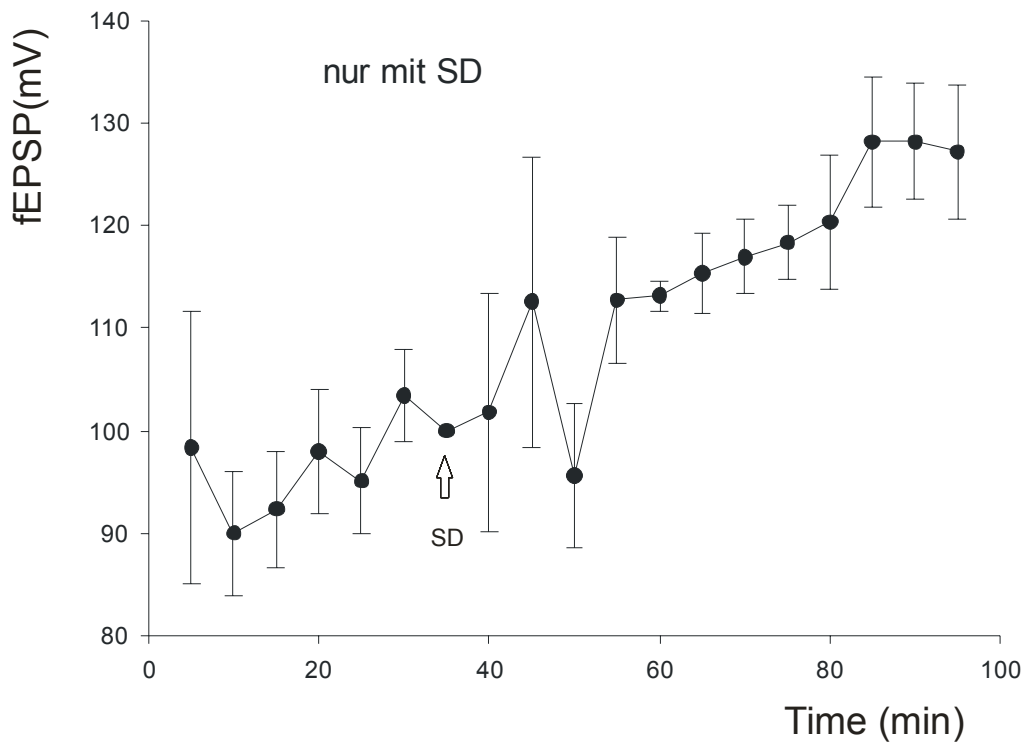


Abb. 1-1:

- Beim ersten Versuch wurde an dem Schnittpräparat 30 Minuten lang ein minütlicher Reiz ausgelöst anschließend SD durchgeführt und in den folgenden 60 Minuten die Reaktion des Gewebes aufgezeichnet. Hierbei vergrößerten sich die evozierten Potentiale (Amplitude) nach dem SD auf $131\% \pm 5\%$. Vergleicht man diese Versuche (Abb.2-1; $n=12$) mit den Versuchen in welchen kein SD durchgeführt wurde (Abb.2-2; $n=6$), so ergibt sich ein signifikanter Unterschied (Mann-Whitney-Rank-Sum-Test: $P = 0,115$). Dies zeigt deutlich die Wirkung von Spreading Depression (SD) auf die neuronale-gliale Erregungs- (Depolarisations-) Welle. Ratte, Amygdala- Gewebeschnitt.

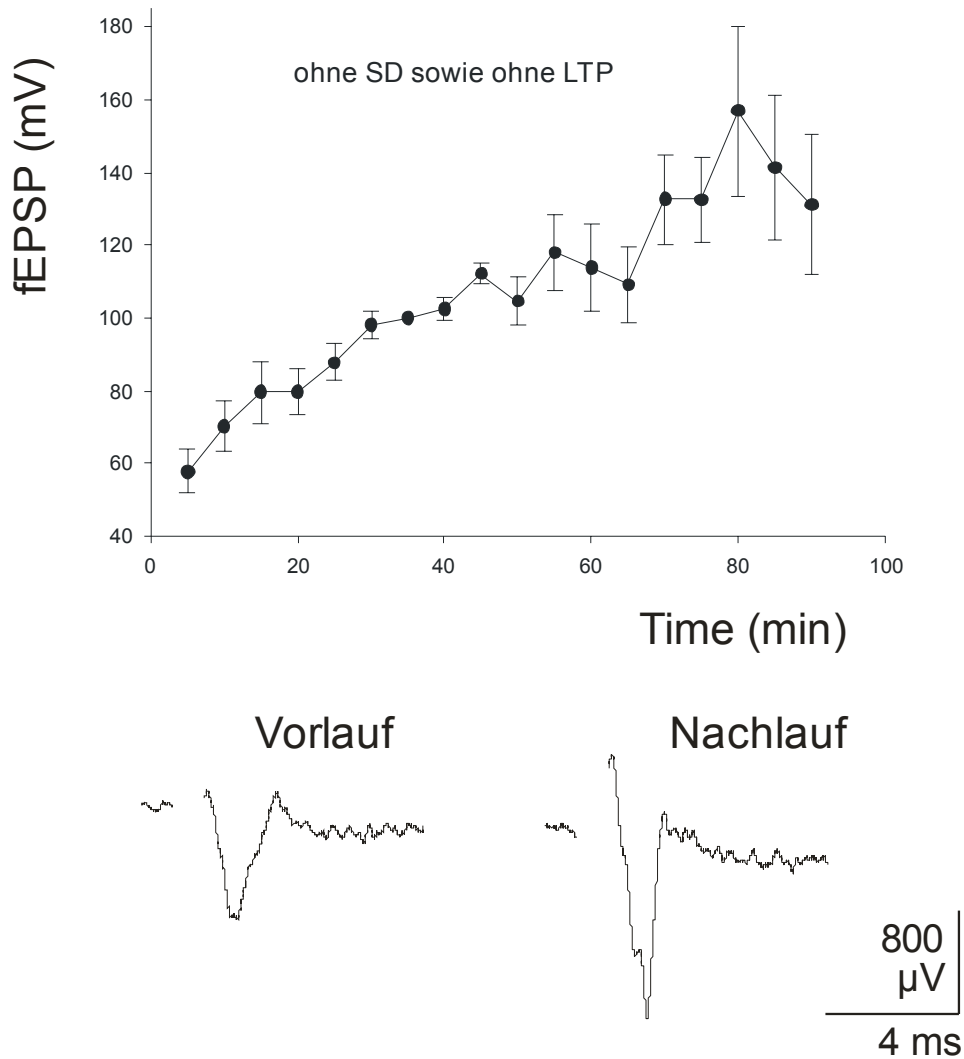


Abb. 1-2:

- Im zweiten Versuch wurde der erste Versuch wiederholt, jedoch mit dem Unterschied, dass hier weder SD noch LTP ausgelöst wurden. Auch hier erhöhte sich die Amplitude, bedingt durch die evozierten Potenziale im weiteren Versuchverlauf auf $148\% \pm 9\%$ ($n=6$; Mann-Whitney-Rank-Sum-Test: $P = 0,115$, siehe ersten Versuch). Ratte, Amygdala-Gewebeschnitt.

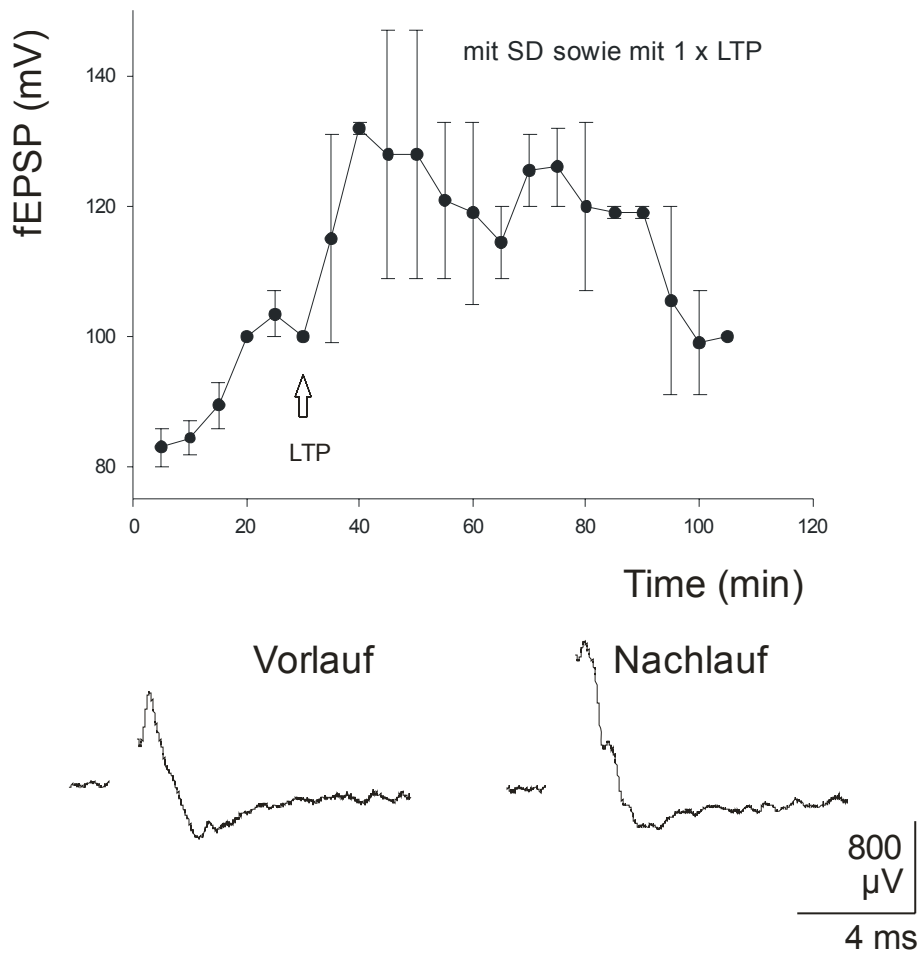


Abb. 1-3:

- Der dritte Versuch (Abb.2-3; n = 2) begann nach 15 Minuten mit SD, nach 60 Minuten wurde 1 x LTP ausgelöst und weitere 60 Minuten aufgezeichnet. Nachdem 1-mal LTP, erhöhte sich die Amplitude, bedingt durch die evozierten Potenziale im weiteren Versuchverlauf auf $144\% \pm 14\%$. Verglichen mit Tests, bei denen der gleiche Versuchsablauf durchgeführt wurde, mit dem Unterschied, dass nicht einmal sondern 3-mal LTP ausgelöst wurde (Abb. 2-4; n = 4), ist kein signifikanter Unterschied entstanden (Mann-Whitney-Rank-Sum-Test: $P = 0,086$).
Ratte, Amygdala- Gewebeschnitt.

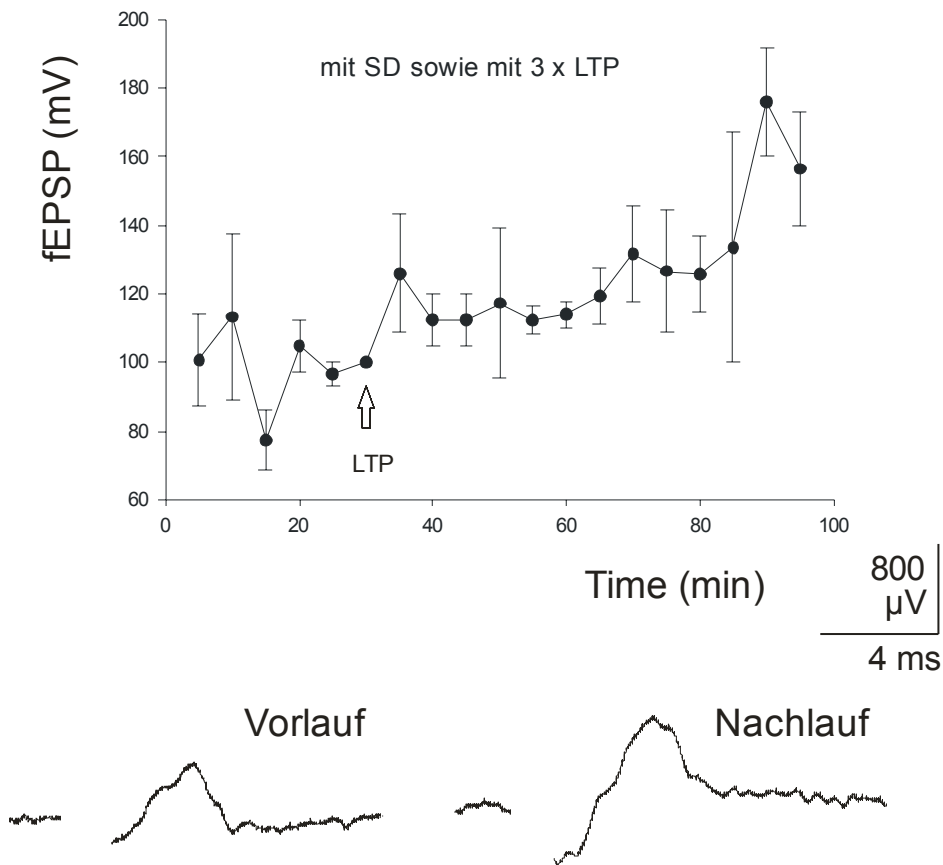


Abb. 1-4:

- Im vierten Versuch wurde der dritte Versuch wiederholt. Hier wurde LTP jedoch 3 x ausgelöst, wodurch sich die Amplitude, bedingt durch die evozierten Potenziale im weiteren Versuchverlauf erhöhte auf $132\% \pm 5\%$ ($n = 4$; Mann-Whitney-Rank-Sum-Test: $P = 0,086$ siehe Versuch 3) erhöhte. Ratte, Amygdala-Gewebeschnitt.

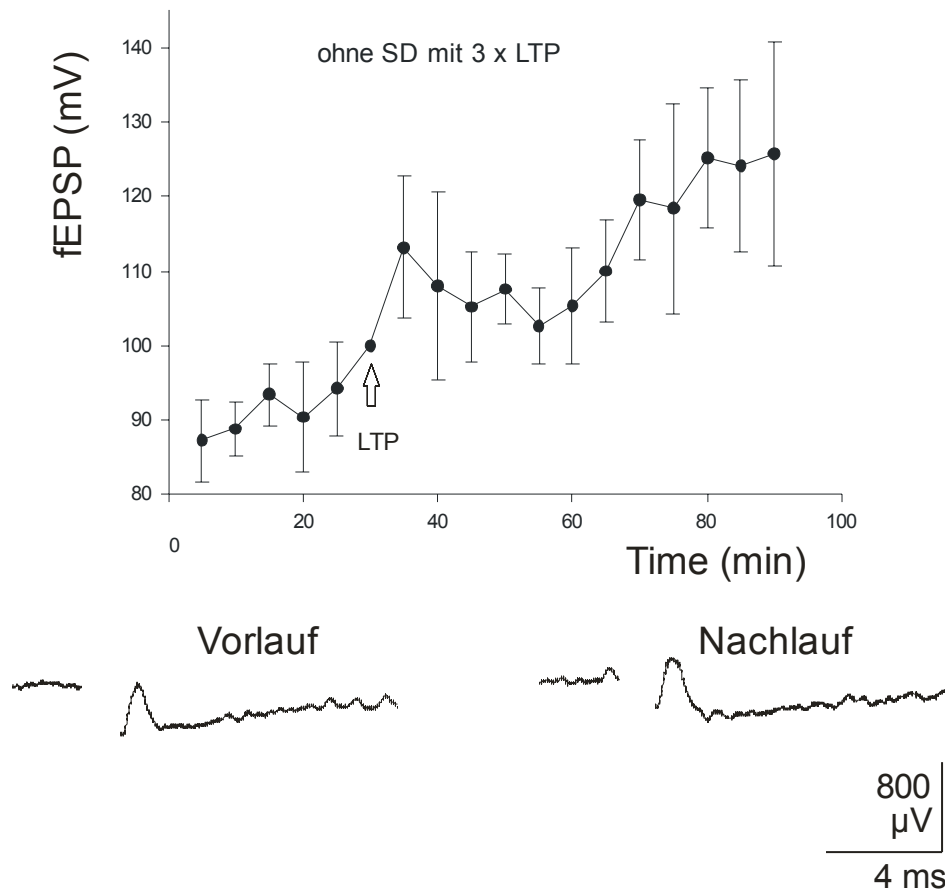


Abb. 1-5:

- Im fünften Versuch (n=5) wurde kein SD ausgelöst, jedoch 3 x LTP. Auch hier erhöhte sich die Amplitude und zwar um $140\% \pm 12\%$. Verglichen mit dem zweiten Versuch (Abb.2-2) besteht keine deutliche Signifikanz des LTP's (Mann-Whitney-Rank-Sum-Test: $P = 0,628$). Ratte, Amygdala- Gewebeschnitt.

3.2. Miteinbeziehung der Glutamatrezeptoren

APV ist ein Antagonist zu den N-Methyl-D-Aspartat (NMDA)-Rezeptoren. NMDA-Rezeptoren gehören zu den ionotropen Glutamatrezeptoren. Hierbei handelt es sich um Ionenkanäle, welche in der Zellmembran durch die Bindung ihres Liganden Glutamat aktiviert werden. Durch die Zugabe von APV (10 μ M; siehe Tab.1, Nr.4) konnte die Rolle der NMDA- Subrezeptoren in der LA überprüft werden. Hier fiel die Wirkung auf 168% \pm 27% (MRST, P = 0,001). Die Zugabe von CNQX (100 μ M; siehe Tab.1, Nr.6), welcher ein non-NMDA Antagonist ist, gab ebenfalls Aufschluss über den NMDA-Rezeptor. So verringerte sich die Wirkung des LTP's an der LA (MRST, 128% \pm 15% P = 0,001).

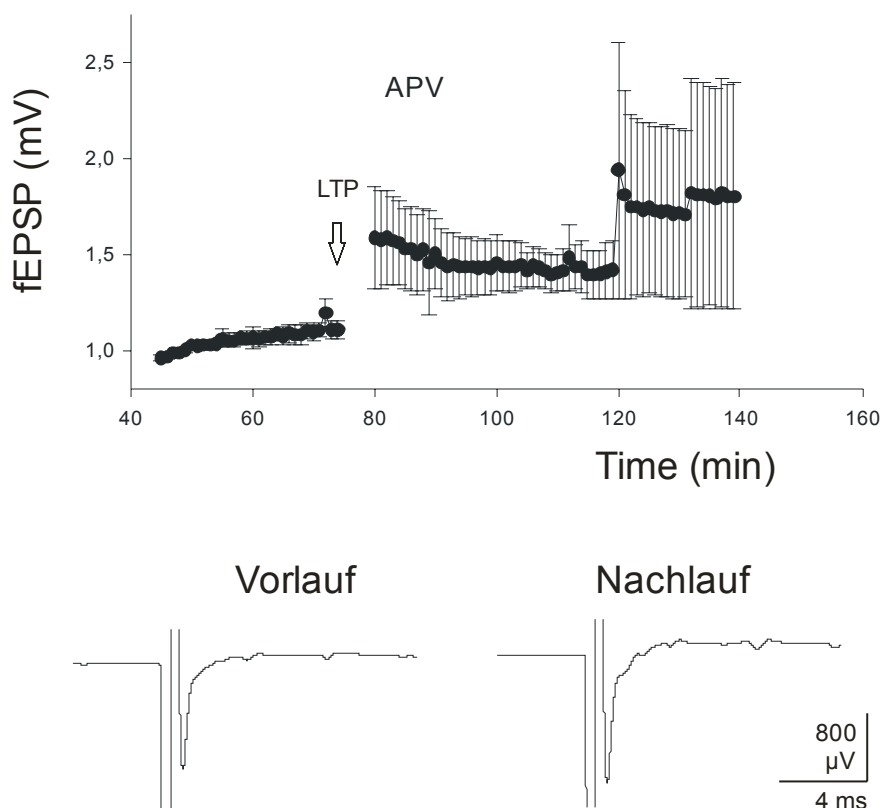


Abb. 1-6:

- Beim sechsten Versuch ist, nachdem SD ausgelöst wurde, die Lösung mit APV (10 μ M; siehe Tab.1, Nr.4) versetzt worden. 60 Minuten später wurde dann wieder 3 x LTP ausgelöst, anschließend verlief der Versuch weiter, ohne dass dem Gewebe weiter Medikamente zugeführt wurden. Die Amplitude erhöhte sich im weiteren Versuchverlauf, bedingt durch die evozierten Potenziale, auf 168% \pm 27% (n= 4; Mann- Whitney- Rank- Sum- Test: P = 0,114; Abb. 1-6). Ratte, Amygdala- Gewebeschnitt.

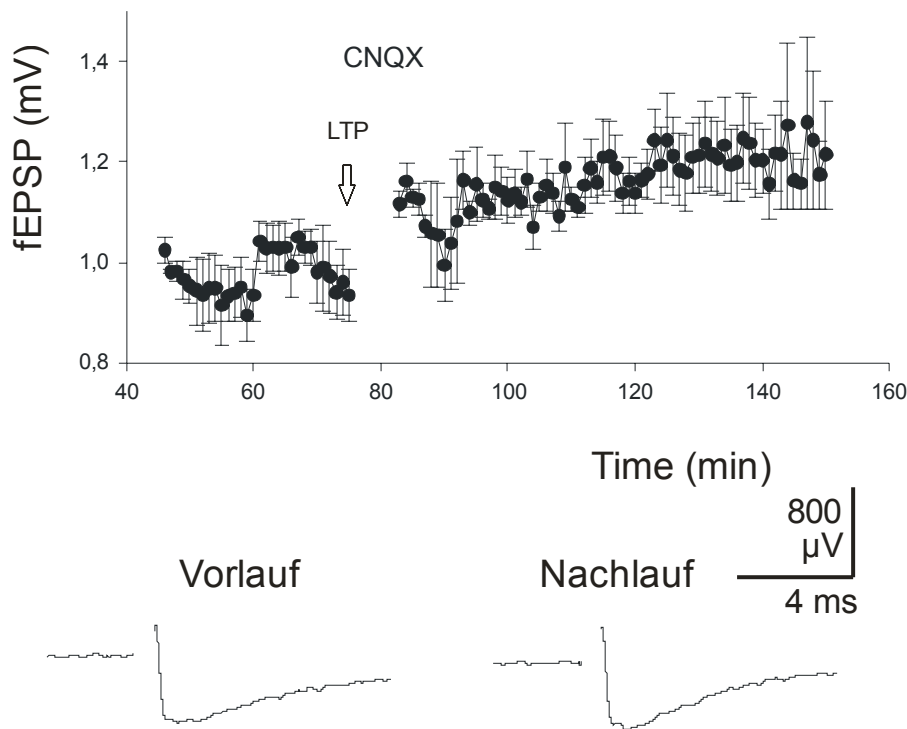


Abb. 1-7:

- Beim siebten Versuch ist, nachdem SD ausgelöst wurde, die Lösung mit CNQX (100 μ M; siehe Tab.1, Nr.6), versetzt worden. 60 Minuten später wurde dann wieder 3 x LTP ausgelöst, anschließend verlief der Versuch weiter, ohne dass dem Gewebe weiter Medikamente zugeführt wurden. Die Amplitude erhöhte sich, ausgelöst durch die evozierten Potenziale, auf 128% \pm 15% (n= 3; Mann- Whitney- Rank- Sum- Test: P = 0,001; Abb. 1-7). Ratte, Amygdala- Gewebeschnitt.

3.3. Miteinbeziehung der GABA_A- Rezeptoren

GABA- Rezeptoren binden spezifisch den Neurotransmitter γ -Aminobuttersäure (GABA). Es handelt sich um Transmembranproteine in Nervenzellen, welche wiederum in ionotrope (GABA_A und GABA_C-Rezeptoren) und metabotrope (GABA_B- Rezeptoren) GABA- Rezeptoren unterteilt werden können. Um den Einfluss der GABA_A- Rezeptoren auf die Erhöhung von LTP auf SD zu überprüfen, wurde der Yamamoto II-Flüssigkeit 60 min lang Bicuculline zugeführt. Die Versuche ergaben, dass Bicuculline keine signifikante Wirkung auf die Steigerung von LTP hat (MRST, P = 0,190).

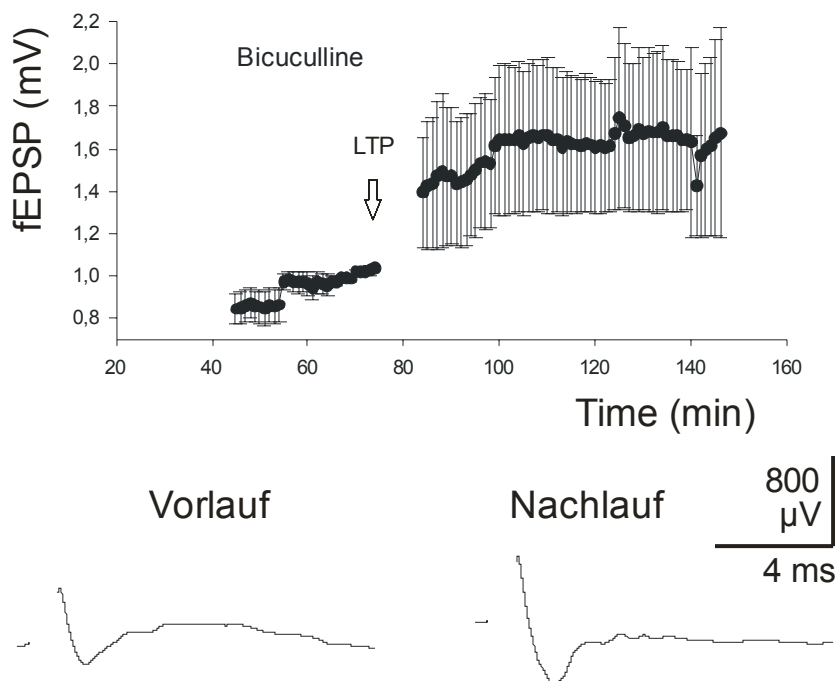


Abb. 1-8:

- Beim achten Versuch ist, nachdem SD ausgelöst wurde, die Lösung mit Bicuculline (10 μ M; siehe Tab.1, Nr.5) versetzt worden. 60 Minuten später wurde dann wieder 3 x LTP ausgelöst, anschließend verlief der Versuch weiter, ohne das dem Gewebe weiter Medikamente zugeführt wurden. Die Amplitude erhöhte sich, ausgelöst durch die evozierten Potenziale, auf 188% \pm 34% (n= 5; Mann- Whitney- Rank- Sum-Test: P = 0,190; Abb. 1-8). Ratte, Amygdala- Gewebeschnitt.

3.4. Miteinbeziehung der Dopamin- Rezeptoren

Dopamin- Rezeptoren sind in den Membranen der Nervenzellen enthalten und lassen sich in fünf Gruppen unterteilen. Um die Wirkung des DopaminD2- Rezeptors zu prüfen, wurde den Versuchen nach Auslösung von SD, für 60 min, Quinipirole zur Yamamoto II-Flüssigkeit zugeführt. Quinipirole ist ein DopaminD2-Rezeptorantagonist. Die Anwendung von Quinipirole hemmte erheblich die LTP-Induktion in der LA (145% \pm 5%, P = <0,001).

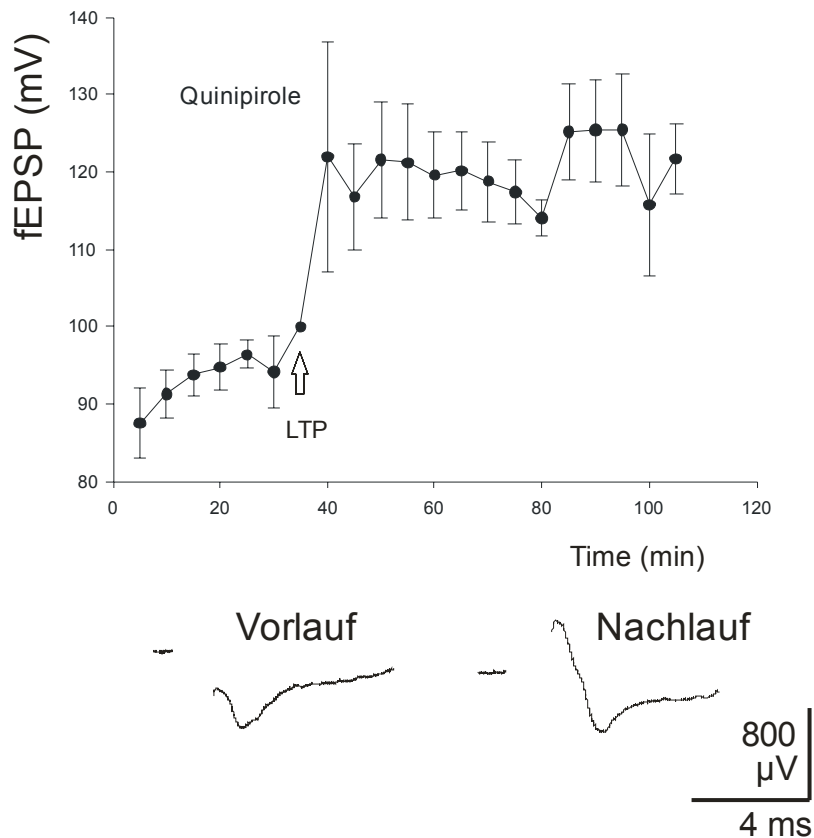


Abb. 1-9:

- Beim neunten Versuch ist, nachdem SD ausgelöst wurde, die Lösung mit Quinpirole (10 μ M; siehe Tab.1, Nr.7), versetzt worden. 60 Minuten später wurde dann wieder 3 x LTP ausgelöst, anschließend verlief der Versuch weiter, ohne das dem Gewebe weiter Medikamente zugeführt wurden. Ratte, Amygdala- Gewebeschnitt. Die Amplitude erhöhte sich, ausgelöst durch die evozierten Potenziale, auf 145% \pm 5% (n= 5; Mann- Whitney- Rank- Sum- Test: P = <0,001; Abb. 1-9). Ratte, Amygdala- Gewebeschnitt.

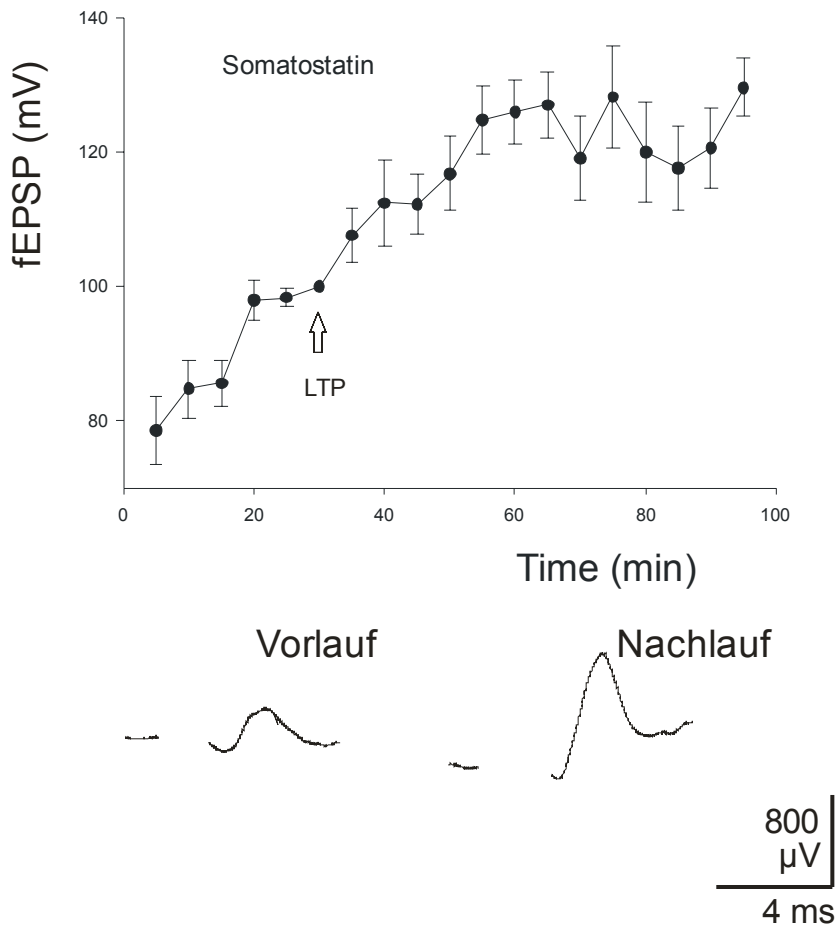


Abb. 1-10:

Beim zehnten Versuch ist, nachdem SD ausgelöst wurde, die Lösung mit Somatostatin ($2 \mu\text{M}$; siehe Tab.1, Nr.8), versetzt worden. 60 Minuten später wurde dann wieder 3 x LTP ausgelöst, anschließend verlief der Versuch weiter, ohne das dem Gewebe weiter Medikamente zugeführt wurden. Die Amplitude erhöhte sich, ausgelöst durch die evozierten Potenziale, auf $128\% \pm 6\%$ ($n= 5$; Mann- Whitney- Rank- Sum- Test: $P = <0,001$; Abb. 1-10). Ratte, Amygdala- Gewebeschnitt.

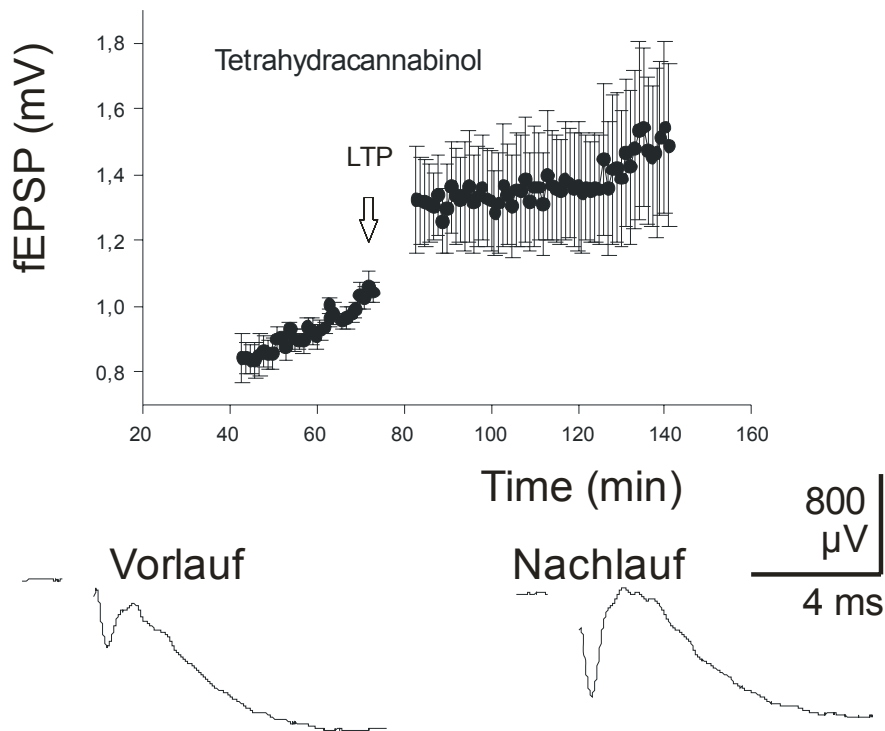


Abb. 1-11:

Beim elften Versuch ist, nachdem SD ausgelöst wurde, die Lösung mit Tetrahydrocannabinol (100 μ M; siehe Tab.1, Nr.9), versetzt worden. 60 Minuten später wurde dann wieder 3 x LTP ausgelöst, anschließend verlief der Versuch weiter, ohne das dem Gewebe weiter Medikamente zugeführt wurden. Die Amplitude erhöhte sich, ausgelöst durch die evozierten Potenziale, auf 134% \pm 32% (n= 5; Mann Whitney- Rank- Sum- Test: P = 1,000; Abb. 1-11). Ratte, Amygdala-Gewebeschnitt.

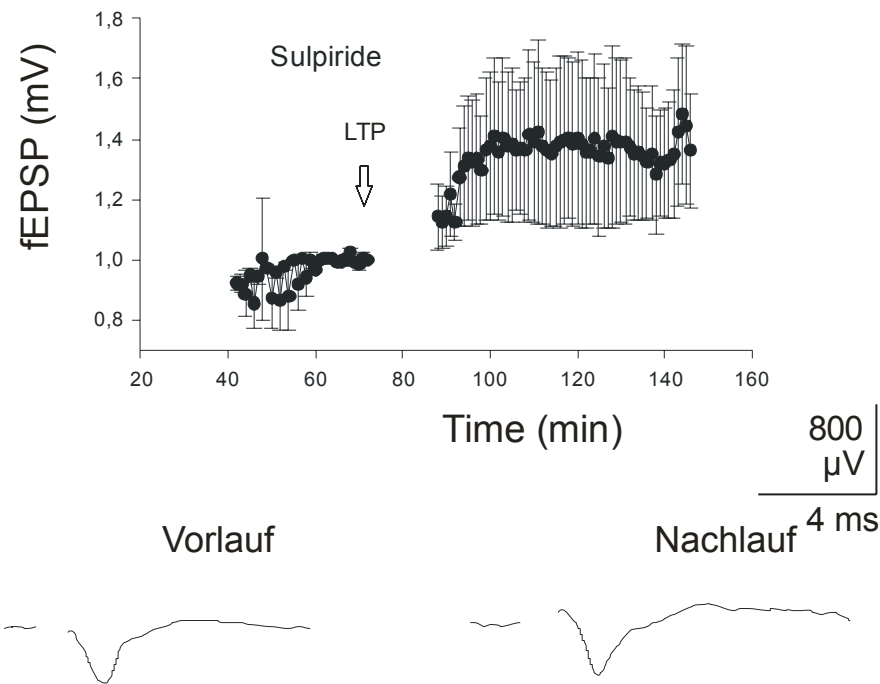


Abb. 1-12:

Beim zwölften Versuch ist, nachdem SD ausgelöst wurde, die Lösung mit Sulpirid ($10 \mu\text{M}$; siehe Tab.1, Nr.10), versetzt worden. 60 Minuten später wurde dann wieder 3 x LTP ausgelöst, anschließend verlief der Versuch weiter, ohne das dem Gewebe weiter Medikamente zugeführt wurden. Die Amplitude erhöhte sich, ausgelöst durch die evozierten Potenziale, auf $139\% \pm 10\%$ ($n= 5$; Mann- Whitney- Rank- Sum-Test: $P = 0,016$; Abb. 1-12). Ratte, Amygdala- Gewebeschnitt.

4. Diskussion

Die vorliegende Studie untersucht den Einfluss der „Spreading Depression“ auf die Aktivität der Amygdala.

4.1. Spreading Depression (SD)

SD scheint eine wichtige Rolle in der Auraentstehung bei Migräneanfällen zu spielen. Bereits 1945 stellten Leão und Morison die Hypothese auf, dass einem externen Stimulus (z. B. Blitzlicht) kortikal eine langsame, negativ suppressive Welle mit neurologischen Symptomen folgen kann (z. B. Skotome, Hemianopsie). Diese SD-ähnlichen Wellen konnten während Auraphasen vor Migräneattacken im menschlichen Neokortex aufgezeichnet werden (Welch et al. 1993; Hadjikhani et al. 2001). Es zeigen sich zunehmend Hinweise darauf, dass diese neurophysiologischen Veränderungen auf zellulärer, molekularer und vaskulärer Ebene den, einer Migräneaura nachfolgenden Kopfschmerzen, induzieren können (Moskowitz et al. 1993; Bolay et al. 2002; Gorji et al. 2004). Die Substanz Sulpirid ist dabei ein effektives Mittel zur Behandlung des Migränekopfschmerzes (Piccini et al., 1990; Siniachkin et al., 1997). Bei der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass Sulpirid charakteristische Eigenschaften der SD unterdrückt. Es ist zu postulieren, dass der supprimierende Effekt des D₂-Dopaminrezeptor-antagonist Sulpirid auf die neokortikale SD für den Therapieerfolg bei Migräne-Kopfschmerzen mitverantwortlich ist. Unterschiedlichste Medikamente zur Migränetherapie wie Topiramate, Valproat, Propranolol, Amitriptylin sowie Methysergide weisen ebenfalls einen inhibitorischen Effekt auf die SD aus (Ayata et al., 2006). Somit ist ein Zusammenhang zwischen der SD und dem, der Migräneaura nachfolgendem Kopfschmerzereignis wahrscheinlich.

4.2. Long Term Potentiation (LTP)

Die LTP ist ein experimentell reproduzierbares Phänomen mit dem es möglich ist, unterschiedlichste Modifikationen individueller Synapsen zu untersuchen (Collingridge & Singer 1990, Malenka & Bear 2004). Die SD ist in der Lage einen LTP-ähnlichen Effekt im neokortikalen Hirnschnitt der Ratte auszulösen (Footitt and Newberry 1998), sowie die LTP-Induktion in menschlichem Hirngewebe zu verstärken (Berger et al., 2008).

Sowohl die LTP Induktion als auch die SD-Generation kann durch Zugabe von Medikamenten im neokortikalen Gewebe der Ratten inhibiert werden (Müller et al., 2006). Im Gegensatz dazu konnte unter Zugabe von weiblichen Hormonen eine Steigerung der LTP-Induktion, als auch und ein erleichtertes Auslösen der SD im somatosensorischen Kortex der Ratte beobachtet werden (Sachs et al, 2007).

Eine Modulation der LTP-Antworten konnte während der SD Ausbreitung im Hippokampus gezeigt werden (Wernsmann et al. 2006). In den hier durchgeführten Versuchen zeigte die Zugabe des D₂-Dopaminrezeptorantagonisten Sulpirid in das, die neokortikalen Schnittpräparate umspülende Perfusat, eine deutliche und anhaltende Suppression der LTP. Die Suppression der LTP durch Sulpirid lässt sich durch die Tatsache erklären, dass die Induktion der LTP im „synaptischen pathway“ von der basolateralen Amygdala (LA) zum Gyrus dentatus über D₂-Dopaminrezeptoren reguliert wird (Abe et al., 2009).

Die durch Antagonisten ausgelöste Blockade der D₂-Dopaminrezeptoren führt somit zu einer Inhibition der LTP (Abe et al., 2008). Dies konnte durch die von uns erhobenen Daten bestätigt werden. Im Gegensatz dazu ließen sich keine elektrophysiologischen Veränderungen bei Zugabe des D₂-Rezeptoragonisten Quinpirol auf die LTP nachweisen. Der Einfluss der D₂-Dopaminrezeptoren auf die Modulation der LTP scheint jedoch auch von einer GABA-ergen Inhibition abhängig zu sein (Abe et al., 2009). Die Amygdala enthält eine hohe

Anzahl an GABA_A-Rezeptoren, wobei das höchste Niveau dieser Rezeptoren im lateralen Amygdalakern (LA) liegt. In den hier gezeigten Versuchen hingegen, zeigte die Zugabe eines GABA_A-Rezeptorantagonisten keine signifikante Reaktion des LTP nach induzierter SD in der LA. NMDA-Rezeptoren sind ebenfalls bei dieser Informationsverarbeitung beteiligt (Romanski & LeDoux, 1993; Mahanty & Sah, 1999; Bissiere et al., 2003).

4.3. SD induzierte Dysfunktionen der Amygdala

Wie bereits oben (im Kapitel „Amygdala“) beschrieben, steht die Amygdala mit sehr vielen anderen Gewebsstrukturen in Verbindung und ist somit für die Informationsverarbeitung von hoher Bedeutung. Die Störungen, welche während der Fortleitung der SD zum Hippocampus auftreten, wurden bereits früh durch in vivo Experimenten (Fifkova, 1964) und in vitro Experimenten dargelegt (Buchheim et al., 2002; Wernsmann et al., 2006). In wieweit und mit welcher Intensität sich die SD ausbreitet, liegt an der Dichte der Dendriten in den verschiedenen Gewebsregionen (Bures et al., 1974). Des Weiteren hängt die SD-Ausbreitung von der Größe des extrazellulären Raumes und der Menge, des in ihm vorhandenen Myelins, sowie der damit verbundenen Reaktionsfähigkeit ab.

Die migränebedingte Dysfunktion der Amygdala, sowie die damit verbundenen neurologischen Symptome scheinen einen Zusammenhang mit dem Auftreten kortikaler SD aufzuweisen. Dabei wird die synaptische Aktivität der Amygdala in Abhängigkeit der Ausbreitung der kortikalen SD stimuliert, bzw. inhibiert.

Eine Stimulation der Amygdala kann zu Pupillenerweiterungen, Unruhe, Verwirrtheit sowie zu Priapismus führen (Kaada 1972). Im Gegensatz dazu kann die Inhibition der Amygdala, die meist durch operative Eingriffe verursacht wird, zu einer Hypersexualität, einem Aufmerksamkeitsdefizit sowie zu einer Esssucht führen (King and Brothers 1992). Einige dieser

Symptome sind typisch für die postdromale Phase nach einer Migräneattacke. Im Tierexperiment konnte gezeigt werden, dass eine Amygdala-Dysfunktion, die durch eine kortikale SD getriggert wurde, zu einem gesteigerten Fress- und Trinkverhalten bei Ratten führt (Shibata 1982). Ein durch unilaterale bzw. bilaterale kortikale SD ausgelöstes aggressives und stereotypes Fress- und Trinkverhalten wird durch psychomotorische Veränderungen (z.B. Brunftgeräusche) begleitet (Huston and Bures 1970). Kortikale SD sind in der Lage Peniserektionen sowie eine vermehrte Schläfrigkeit im Tierexperiment zu verursachen (Huston 1971). Als Folge einer kortikalen SD-induzierten funktionalen Dekortikation im Frontallappen der Ratte konnte eine Steigerung der neuronalen Aktivität im lateralen Hippokampus, gezeigt werden (Bures et al. 1961). Der ventromediale Hypothalamus übt durch die Amygdala seinen inhibitorischen Einfluss auf den lateralen Hypothalamus aus (Oomura et al. 1970, Van Atta and Sutin 1971).

Der modulatorische Effekt der kortikalen SD auf die Funktion der Amygdala und des Hypothalamus kann durch Veränderungen im Flüssigkeitshaushalt beeinflusst werden. Sowohl der Wassertransport als auch die Wasserverteilung im Gewebe, insbesondere die Flüssigkeitsretention, scheinen während Migräneattacken eine wichtige Rolle zu spielen. Dies findet seine Bestätigung darin, dass das Antidiuretische Hormon (ADH) bei Migränepatienten und Tieren, die mit einer CSD behandelt worden sind, erhöht ist (Gorji 2001).

4.4. Schlussfolgerung

Synapsen, die in der Lage sind kortikale Information zur lateralen Amygdala weiter zu leiten, sind fähig LTPs auszulösen. Diese Tatsache macht das Amygdala-Hippokampus-Kortex Schnittpräparat zu einem interessanten zellulären Modell der Angstverarbeitung und des Gedächtnisses und eignet sich somit für weitere Untersuchungen erfahrungsabhängiger Plastizitäten (Sigurdsson et al. 2007).

Psychiatrische Co-Morbiditäten wie Ängstlichkeit und Depressionen sind ebenfalls typische Migränemerkmale, deren Ursachen durch dieses Modell weiter erforscht werden können (Peres et al. 2007).

5. Literaturverzeichnis

Abe K, Niikura Y, Fujimoto T, Akaishi T, Misawa M. (2008) Involvement of dopamine D2 receptors in the induction of long-term potentiation in the basolateral amygdala-dentate gyrus pathway of anesthetized rats. **55** (8): 1419-24.

Abe K, Fujimoto T, Niikura Y, Akaishi T, Misawa M. (2009) Modulatory role of dopamine D2 receptors and fundamental role of L-type Ca²⁺ channels in the induction of long-term potentiation in the basolateral amygdala-dentate gyrus pathway of anesthetized rats. **606** (1-3): 90-3

Abe K, Fujimoto T, Akaishi T, Misawa M. (2009) Stimulation of basolateral amygdaloid serotonin 5-HT (2C) receptors promotes the Induction of long-term potentiation in the dentate gyrus of anesthetized rats. **13**; **451** (1): 65-8

Albe-Fessard, D., Sanderson, P., Condes-Lara, M., Delandsheer, E., Giuffrida, R. & Cesaro, P. (1984) Leao's spreading depression in the study of the relationship of central

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.

Ayata C, Jin H, Kudo C, Dalkara T, Moskowitz MA. (2006) Suppression of cortical spreading depression in migraine prophylaxis, *Ann Neurol*. 2006 Apr; **59** (4): 652-61

Berger, M., Speckmann, E.J. Pape, H.C. & Gorji, A. (2008) Spreading depression enhances human neocortical excitability in vitro. *Cephalalgia*, **28**, 558-562.

Bissiere, S., Humeau, Y. & Luthi, A. (2003) Dopamine gates LTP induction in lateral amygdala by suppressing feedforward inhibition. *Nat. Neurosci.*, **6**, 587-592.

Buchheim, K., Weissinger, F., Siegmund, H., Holtkamp, M., Schuchmann, S. & Meierkord, H. (2002) Intrinsic optical imaging reveals regionally different manifestation of

spreading depression in hippocampal and entorhinal structures in vitro. *Exp. Neurol.*, **175**, 76-86.

Bures et al. 1961 Bures, J., Buresova, O. & Fifkova, E. (1961) The effect of cortical and hippocampal spreading depression on activity of bulbopontine reticular units in the rat. *Arch. Ital. Biol.*, **99**, 23-32.

Bures, J., Buresova, O. & Krivanek, J. (1974) *The Mechanisms and Applications of Leao's Spreading Depression of Electroencephalographic Activity*. Academic Press, New York.

Buzzi, M.G. & Moskowitz, M.A. (2005) The pathophysiology of migraine. *J. Headache Pain*, **6**, 105-111.

Collingridge CL, Singer W. (1990) Excitatory amino acid receptors and synaptic plasticity. *Trends Pharmacol Sci.* **11** (7): 290-6

Fifkova, E. (1964) Spreading EEG depression in the neo-, paleo-, and archicortical structures of the brain of the rat. *Physiol. Bohemoslov.*, **13**, 1-15.

Fifkova, E. & Syka, J. (1964) Relationships between cortical and striatal spreading depression in rat. *Exp. Neurol.*, **9**, 355-366.

Footitt DR, Newberry NR. (1998) Cortical spreading depression induces an LTP-like effect in rat neocortex in vitro. *Brain Res.* **781**(1-2): 339-42.

Goadsby, P.J. (2007) Recent advances in understanding migraine mechanisms, molecules and therapeutics. *Trends Mol. Med.*, **13**, 39-44.

Gorji, A. (2001) Spreading depression: a review of the clinical relevance. *Brain Res. Brain Res. Rev.*, **38**, 33-60.

Gorji A, Scheller D, Straub H, Tegtmeier F, Köhling R, Höhling JM, Tuxhorn I, Ebner A, Wolf P, Werner Panneck H, Ooppel F, Speckmann EJ. Spreading depression in human neocortical slices. *Brain Res.* (2001) **9** 74-83.

Hadjikhani, N., Sanchez. Del Rio, M., Wu, O., Schwartz, D., Bakker, D., Fischl, B., Kwong, K.K., Cutrer, F.M., Rosen, B.R., Tootell, R.B., Sorensen, A.G. & Moskowitz, M.A. (2001) Mechanisms of migraine aura revealed by functional MRI in human visual Kortex. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **98**, 4687-4692.

Huston and Bures 1970 Huston, J.P. & Bures, J. (1970) Drinking and eating elicited by cortical spreading depression. *Science*, **169**, 702-704.

Huston 1971 Husten, J. (1971) Yawning and penile erection induced in rats by cortical spreading depression. *Nature*, **232**, 274-275.

Jasmin, L., Burkey, A.R., Card, J.P. & Basbaum, A.I. (1997) Transneuronal labeling of a nociceptive pathway, the spino (trigemino-) parabrachioamygdaloid, in the rat. *J. Neurosci.*, **17**, 3751-3765.

Kaada B.R. (1972) Stimulation and regional ablation of the amygdaloid complex with reference to funktional representations. In Eleftheriou, B.E. (ed.), *The Neurobiology of the Amygdale*. Plenum, New York, pp. 205-281.

King, A.S. & Brothers, L.A. (1992) The amygdale and social behaviour. In Aggleton, J.P. (ed.), *The Amygdala: Neurobiological Aspects of the Emotion, Memory, and Mental Dysfunction*. Wiley-Liss, New York, pp. 353-378.

Krivanek, J. & Fifkova, E. (1965) The value of ultramicro-analysis of lactic acid in tracing the penetration of Leao`s cortical spreading depression to subcortical areas. *J. Neurol. Sci.*, **2**, 385-392.

Leão and Morison (1945) Propagation of spreading cortical deression. *J. Neurophysiol.* **8**:33-46.

Mahanty, N.K. & Sah, P. (1999) Excitatory synaptic inputs to pyramidal neurons of the lateral amygdala. *Eur. J. Neurosci.*, **11**, 1217-1222.

Malenka, R.C. & Bear, M.F. (2004) LTP and LTD: an embarrassment of riches. *Neuron*, **44**, 5-21.

Manning, B.H. & Mayer, D.J. (1995) The central nucleus of the amygdala contributes to the production of morphine antinociception in the rat tail-flick test. *J. Neurosci.*, **15**, 8199-8213.

Mehler, W.R. (1980) Subcortical afferent connections of the amygdala in the monkey. *J Comp. Neurol.*, **190**, 733-762.

Moskowitz et al. 1993; Bolay et al. 2002; Gorji et al. 2004 Buzzi, M.G. & Moskowitz, M.A. (2005) The pathophysiology of migraine. *J. Headache Pain*, **6**, 105-111.

Müller M, Pape HC, Speckmann EJ, Gorji A. 2006 Effect of eugenol on spreading depression and epileptiform discharges in rat neocortical and hippocampal tissues. **140** (2): 743-51.

Obrenovitch, T.P. (1999) High extracellular glutamate and neuronal death in neurological disorders. Cause, contribution or consequence? *Ann. NY Acad. Sci.*, **890**, 273-286.

Oomura et al. 1970, Van Atta and Sutin 1971 Oomura, Y., Ono, T. & Ooyama, H. (1970) Inhibitory action of the amygdala on the lateral hypothalamic area in rats. *Nature*, **228**, 1108-1110.

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.

Peres et al. 2007 Peres, M.F., Mercante, J.P., Guendler, V.Z., Corchs, F., Bernik, M.A., Zukerman, E. & Silberstein, S.D. (2007) Cephalgiaphobia: a possible specific phobia of illness. *J. Headache Pain*, **8**, 56-59.

Piccini P, Nuti A, Paoletti AM, Napolitano A, Melis GB, Bonuccelli U. Cephalalgia. 1990 Feb; Possible involvement of dopaminergic mechanisms in the antimigraine action of Flunarizine. **10**(1):3-8.

Romanski, L.M., & LeDoux, J.E. (1993) Information cascade from primary auditory Kortex to the amygdala: corticocortical and corticoamygdaloid projections of temporal Kortex in the rat. *Cereb. Kortex*, **3**, 515-532.

Sachs, M., Pape, H.C., Speckmann, E.J. & Gorji, A. (2007) The effect of estrogen and progesterone on spreading depression in rat neocortical tissues. *Neurobiol. Dis.*, **25**, 27-34.

Shi, C. & Davis, M. (1999) Pain pathways involved in fear conditioning measured with fear-potentiated startle: lesion studies. *J. Neurosci.*, **19**, 420-430.

Shibata 1982 Shibata, M. (1982) Role of amygdala in feeding and drinking induced by single cortical spreading depression in the rat. *Physiol. Behav.*, **29**, 649-656.

Sigurdsson et al. 2007 Sigurdsson, T., Doyere, V., Cain, C.K. & LeDoux, J.E. (2007) Long-term potentiation in the amygdala: a cellular mechanism of fear learning and memory. *Neuropharmacology*, **52**, 215-227.

Siniachkin MS, Vein AM, Voznesenskaia TG, Gerber VD. Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova. Sulpride in the prophylactic treatment of migraine 1997; **97**(11):28-32. Russian.

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.

Somjen, G.G. (2001) Mechanisms of spreading depression and hypoxic spreading depression-like depolarisation. *Physiol. Rev.*, **81**, 1065-1096.

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.

Turner, B.H., Mishki, M. & Knapp, M. (1980) Organization of the amygdalopetal projections from modality-specific cortical association areas in the monkey. *J. Comp. Neurol.*, **191**, 515-543.

Watanabe, Y., Ikegaya, Y., Saito, H. & Abe, K. (1995) Roles of GABAA, NMDA and muscarinic receptors in induction of long-term potentiation in the medial and lateral amygdala in vitro. *Neurosci. Res.*, **21**, 317-322.

Welch et al. 1993; Hadjikhani et al. 2001 Hadjikhani, N., Sanchez Del Rio, M., Wu, O., Schwartz, D., Bakker, D., Fischl, B., Kwong, K.K., Cutrer, F.M., Rosen, B.R., Tootell, R.B., Sorensen, A.G. & Moskowitz, M.A. (2001) Mechanisms of migraine aura revealed by functional MRI in human visual cortex. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **98**, 4687-4692.

Werka, T. (1997) The effects of the medial and cortical amygdala lesions on post-stress analgesia in rats. *Behav. Brain Res.*, **86**, 59-65.

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**, 1103-1110.

Lebenslauf

Persönliche Daten:

Name: Gerrit Bals
Geburtsdatum: 11.01.1977
Geburtsort: Münster
Nationalität: Deutsch

Schulischer Werdegang:

1983 - 1987 Werner-Rolevinck Grundschule in Laer
1987 – 1993 Ewaldihauptschule (Mittlere Reife) in Laer
1999 - 2002 Abendgymnasium der Stadt Münster

Beruflicher Werdegang:

08/1993 - 01/1997 Ausbildung zum Zahntechniker
Lehmköster-Sperber-Weers GmbH in Münster
02/1997 - 05/1998 Dental-Labor Farwick (Tätigkeitsbereich in der
gesamten Zahntechnik)
05/1998 - 10/1998 Randstad Zeit-arbeit
11/1998 - 08/1999 Grundwehrdienst
10/1999 - 12/2000 Peter Thüs Zahntechnik (Tätigkeitsbereich in der
gesamten Zahntechnik)
01/2001 - 04/2003 Dental-Labor Fieke (Tätigkeitsbereich
Edelmetall mit Schwerpunkt Geschiebe- und
Teleskoptechnik, sowie
Kunststoffverblendtechnik)

04/2003 - 11/2008	Studium der Zahnmedizin an der „Westfälischen Wilhelms- Universität Münster“
11/2008 - 03/2009	Weiterführung der im Studium begonnenen Doktorarbeit
seit 04/2009	Implantatzentrum Visbek Dr. med. dent. MSc. MSc. Weßling & Partner
