

Aus dem Institut für Physiologie der Medizinischen Fakultät der Otto-von
Guericke-Universität Magdeburg

Elektrophysiologische Charakterisierung von Neuronen der
lateralen Amygdala unter besonderer Berücksichtigung von
Aktionspotentialmustern und Oszillationen

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades

Dr. med.

(doctor medicinae)

an der Medizinischen Fakultät der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg

vorgelegt von: Jan Alexander Smid

aus: Hanau

Magdeburg 2005

Dokumentationsblatt

Bibliographische Beschreibung:

Smid, Jan

Elektrophysiologische Charakterisierung von Neuronen der lateralen Amygdala unter besonderer Berücksichtigung von Aktionspotentialmustern und Oszillationen. –2005. –58 Bl.: 13 Abbildungen, 2 Tabellen.

Kurzreferat:

Die Amygdala, eine dem limbischen System zugeordnete Kerngruppe des Gehirns, ist für die Verarbeitung des emotionalen Anteils von Verhalten, Lernen und Gedächtnis essentiell. So ist die Aktivität amygdalärer Neurone in emotional belastenden Situationen deutlich erhöht. In der vorliegenden Arbeit wurden Regulationsmechanismen der Aktivität dieser Neurone mit Hilfe elektrophysiologischer Methoden am Schnittpräparat der Amygdala von Ratten untersucht. Dazu erfolgte eine Einteilung der Projektionsneurone im lateralen Kerngebiet nach Aktionspotentialmustern in regelmäßig aktive (R-Typ) und akkomodierende (A-Typ). Systematische morphologische Unterschiede zwischen den beiden Typen konnten nicht festgestellt werden. A-Typ Neurone zeigten im Anschluss an die Aktionspotentiale eine langsame Nachhyperpolarisation (*“slow afterhyperpolarisation”, sAHP*). Bei R-Typ Neuronen war die langsame Nachhyperpolarisation gering oder nicht ausgebildet. Ferner generierten R-Typ Neurone stabile hochschwellige Oszillationen (*“high threshold oscillations, HTOs*), während bei A-Typ Neuronen keine HTOs darstellbar waren. Aus Untersuchungen in Amygdala und Hippocampus ist bekannt, daß die Dauer der sAHPs durch den PKA-Inhibitor *rp-cAMPs* verlängert bzw. durch den cAMP-Agonisten 8-Bromo-cAMP verkürzt werden kann. Im nächsten Schritt wurde die Wirkung von *rp-cAMPs* auf R-Typ Neurone untersucht. Dabei kam es zu einer Verlängerung des sAHP, das Aktionspotentialmuster wurde akkomodierend und stabile HTOs waren nicht mehr darstellbar. Im Gegensatz dazu führte die Applikation von 8-Bromo-cAMP auf A-Typ Neurone zu einer Verkürzung des sAHP und zum Auftreten von stabilen HTOs. Die Änderung des Verlaufs von sAHP stellt somit einen wirksamen Mechanismus zur Regulation von Aktionspotentialmustern und hochschwelligen Oszillationen dar. Physiologisch könnte die Veränderung von sAHP durch Neurotransmitter für das Erlernen von Furcht bedeutsam sein.

Schlüsselwörter: Amygdala, sAHP, calciumaktivierter Kaliumkanal, SKCA2+, hochschwellige Oszillationen, rp-CAMPs, 8-Bromo-cAMP, posttraumatische Belastungsstörung

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung	8
1.1 Anatomie der Amygdala	8
1.2 Neuronentypen des basolateralen Komplexes der Amygdala	12
1.3 Intrinsische Eigenschaften von Projektionsneuronen in der lateralen Amygdala	13
1.4 Ziele dieser Arbeit	16
2 Methoden	17
2.1 Präparation der Tiere	17
2.2 Elektrophysiologische Eigenschaften	17
2.3 Intrazelluläre Färbungen	19
2.4 Bestimmung der grundlegenden elektrophysiologischen Eigenschaften	19
2.5 Anhaltende Depolarisation	21
2.6 Applikation eines rampenförmigen Strompulses	21
2.7 Datenanalyse	22
3 Ergebnisse	23
3.1 Grundlegende Eigenschaften von R- und A-Typ Neuronen in der lateralen Amygdala	23
3.2 Pharmakologische Manipulation der intrazellulären cAMP-Konzentration und Proteinkinase A-Aktivität: Einfluss auf das Aktionspotentialmuster	26
3.3 Pharmakologische Manipulation von intrazellulärer cAMP-Konzentration und Proteinkinase A-Aktivität: Einfluss auf das AHP	33
3.4 R-Typ und A-Typ Neurone – oszillierende und nicht-oszillierende Eigenschaften	35
3.5 Oszillierende Neurone und nicht-oszillierende Neurone – Effekte von rp-cAMPs und 8-Bromo-cAMP	38
4 Diskussion	40
4.1 Überblick über mögliche technische und biologische Fehlerquellen	40
4.2 Diskussion der Ergebnisse in Hinblick auf die Fragestellungen und andere Arbeiten	40
Literatur	49

Abbildungsverzeichnis

1	Kerngebiete der Amygdala	9
2	Projektionen der amygdalären Kerngebiete	10
3	Pyramidales Projektionsneuron	23
4	Grundlegende elektrophysiologische Eigenschaften	25
5	Aktionspotentialmuster von A-Typ und R-Typ Neuronen	27
6	Übersicht der instantanen Frequenzen vor und nach Applikation von rp-cAMPs und 8-Bromo-cAMP	28
7	Langdauernde Depolarisation von R-Typ Neuronen vor und nach Applikation von rp-cAMPs	30
8	Langdauernde Depolarisation von A-Typ Neuronen vor und nach Applikation von 8-Bromo-cAMP	32
9	Die Veränderung der langsamen Nachhyperpolarisation unter dem Einfluß von rp-cAMPs und 8-Bromo-cAMP	34
10	Hochschwellige Oszillationen eines R-Typ Neurons vor und nach Applikation von rp-cAMPs	36
11	Hochschwellige Oszillationen eines A-Typ Neurons vor und nach Applikation von 8-Bromo-cAMP	37
12	Verlauf des Membranpotentials bei R-Typ und A-Typ Neuronen vor und nach Applikation von rp-cAMPs und 8-Bromo-cAMP	39
13	Übersicht über die Auswirkungen bei Änderung von I_{sAHP}	44

Tabellenverzeichnis

1	Verwendete Abkürzungen	6
2	Verwendete Abkürzungen (Fortsetzung)	7
3	Grundlegende Eigenschaften von Projektionsneuronen	24

Tabelle 1: Verwendete Abkürzungen

Abkürzung	Einheit	Beschreibung
V_m	mV	Membranpotential
V_r	mV	Ruhemembranpotential
I_m	nA	Membranstrom
τ_{AHP}	s	Zeitkonstante der Nachhyperpolarisation
HTO		hochschwellige Oszillation, " <i>high threshold oscillation</i> "
CS		konditionierter Stimulus, " <i>conditioned stimulus</i> "
US		unkonditionierter Stimulus, " <i>unconditioned stimulus</i> "
R_i	$M\Omega$	Ruheeingangswiderstand
$sAHP$		langsame Nachhyperpolarisation, " <i>slow afterhyperpolarisation</i> "
$fAHP$		schnelle Nachhyperpolarisation, " <i>fast afterhyperpolarisation</i> "
I_{sAHP}		Strom der langsamen Nachhyperpolarisation
AHP		Nachhyperpolarisation, " <i>afterhyperpolarisation</i> "
PKA		Proteinkinase A
R_i		Elektrodenwiderstand
LA		lateraler Nukleus der Amygdala
BLA		basolaterale Kerngruppe der Amygdala
AB		akzessorische basale Kerngruppe der Amygdala
$BK_{Ca^{2+}}$		Kalzium aktivierter Kaliumkanal mit hoher Leitfähigkeit
EEG		Elektroenzephalographie
PBS		phosphatgepufferte Blutersatzlösung, " <i>phosphate buffered saline</i> "
R-Typ Neurone		regelmäßig entladende Neurone der LA
A-Typ Neurone		akkomodierende Neurone der LA
V_{max}	mV	maximales Membranpotential
I_{max}	nA	maximaler Membranstrom
$SK_{Ca^{2+}}$		Kalzium aktivierter Kaliumkanal mit niedriger Leitfähigkeit

Tabelle 2: Verwendete Abkürzungen (Fortsetzung)

Abkürzung	Einheit	Beschreibung
AMPA		α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoaxoleproprionic acid
NMDA		N-Methyl-D-Aspartat
ARAS		aufsteigendes retikuläres aktivierendes System
LaDL		dorsolaterale Einheit der lateralen Amygdala
LaVM		ventromediale Einheit der lateralen Amygdala
LaVL		ventrolaterale Einheit der lateralen Amygdala
VGCC		spannungsaktivierter Kalziumkanal, "voltage activated calcium channel"

1 Einleitung

Schreck und Furcht sind normale und äußerst sinnvolle Reaktionen auf bedrohliche Situationen, die uns im täglichen Leben begegnen. Tatsächlich laufen Schreck- und Furchtreaktionen im Menschen und in vielen anderen Wirbeltieren in vergleichbarer Weise ab, und sie können für das Überleben von entscheidender Bedeutung sein. So wird jedes Individuum durch Sozialisierung oder schmerzvolle Erfahrung lernen, bestimmte Verhaltensweisen zu vermeiden, aus Angst davor, verletzt zu werden. Solche Erinnerungen, die mit Furcht assoziiert sind, werden im Gehirn außerordentlich schnell und lang anhaltend gebildet. Für integrative Leistungen des Zentralnervensystems, die mit Emotional - und insbesondere Furchtverhalten assoziiert sind, spielt eine Kerngruppe im medialen Bereich des Temporallappens des menschlichen Gehirns eine entscheidende Rolle, die aufgrund ihrer Form als Amygdala¹ (griechisch: Mandelkern) bezeichnet wird (Übersicht der Anatomie in Pitkänen et al., 1997). Amygdaläre Dysfunktionen sind darüber hinaus in Beziehung zu einer Reihe von pathophysiologischen Prozessen mit klinischer Relevanz gestellt worden, wie zum Beispiel Syndrome abnormer Emotionalität, Angst- und Suchterkrankungen, Schizophrenien und Temporallappen-Epilepsien sowie dem posttraumatischen Belastungsstörung (Übersicht in Aggleton, 1993). Zum Beispiel zeigten klinische Studien, dass Patienten mit einer Degeneration der Amygdala in beiden Hirnhälften — einer seltenen Erkrankung, die als Urbach-Wiethe-Erkrankung bezeichnet wird — nicht durch verminderte Intelligenz, sondern vor allem durch ihr Unvermögen auffallen, den emotionalen Ausdruck (Furcht, Freude, Traurigkeit) in menschlichen Gesichtern zu erkennen (Siebert et al., 2003).

1.1 Anatomie der Amygdala

Die Amygdala besteht aus einer heterogenen Ansammlung von Kerngebieten, die in vielfältiger Weise synaptisch miteinander und mit extra-amygdalären Kerngebieten verbunden sind. Die Aufklärung dieser Verbindungen auf zellulärer Ebene und deren Funktion ist Gegenstand aktueller Forschung (Pitkänen et al., 1997). Dabei weist die zugrunde liegende Organisation in verschiedenen Säugetierspezies zum Teil erhebliche Unterschiede auf, die darüber hinaus von verschiedenen Autoren kontrovers diskutiert wird. Die Kerngebiete der Amygdala der Ratte können nach einer grob-schematischen

¹korrekte Bezeichnung: das *Corpus amygdaloideum*, in der internationalen Literatur ist die in dieser Arbeit verwendete Bezeichnung *Amygdala* üblich.

Klassifikation von Price et al. (1987) und McDonald (1998) in drei Kerngruppen eingeteilt werden:

- die basolaterale Kerngruppe (BLA), bestehend aus dem lateralen Nukleus (LA), dem basalen Nukleus (B) und dem akzessorischen basalen Nukleus (AB);
- die kortikale Kerngruppe, die die kortikalen Nuklei und den lateralen olfaktorischen Nukleus umfasst;
- die zentromediale Kerngruppe mit dem medialen und zentralen Nukleus.

Als zusätzliche, nicht eindeutig zuzuordnende Nuklei existieren neben den oben genannten Kerngruppen interkalierte Zellen und das amygdalohippokampale Areal. Die Nuklei können anhand struktureller und funktioneller Merkmale in Untereinheiten (Divisionen) eingeteilt werden (Pitkänen et al., 1997).

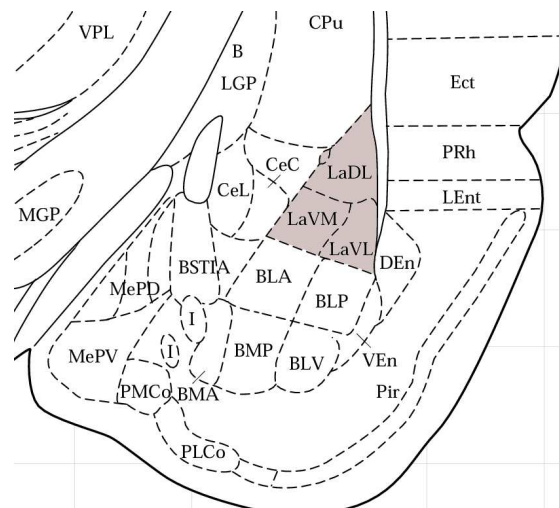


Abbildung 1: Schematische Übersicht über die Kerngebiete der Amygdala der Ratte in einem koronaren Schnitt. Die in der vorliegenden Arbeit untersuchte laterale Gruppe (LA) ist grau unterlegt. Die LA ist in drei Untereinheiten gegliedert: die dorsolaterale Einheit (LaDL), die ventromediale Einheit (LaVM) und die ventrolaterale Einheit (LaVL) (modifiziert nach Paxinos und Watson, 1986).

Innerhalb der Amygdala stellt die laterale Kerngruppe (LA) die Haupteingangsstation für sensorische Informationen aus kortikalen und subkortikalen Regionen dar. Afferente Signale werden von Neuronen der LA integriert und nach Verarbeitung durch ein

vielsynaptisches Netzwerk innerhalb der Amygdala den zentralen Kerngebieten zugeleitet. Die zentrale Kerngruppe stellt die Hauptaustauschstation der Amygdala dar. Von hier aus erreichen neuronale Signale über descendierende Bahnen die Zielareale in Hirnstamm, Hypothalamus und Rückenmark, in denen die emotionalen Reaktionen über das vegetative Nervensystem, das Hormonsystem und das motorische System vermittelt werden (LeDoux, 2000). Beispiele sind die für Furchtreaktionen typische Erhöhung von Atem- und Herzfrequenz aufgrund der Aktivierung des sympathischen Anteils des vegetativen Nervensystems, die Ausschüttung von Glukocorticoiden sowie Schreckstarre oder Flucht.

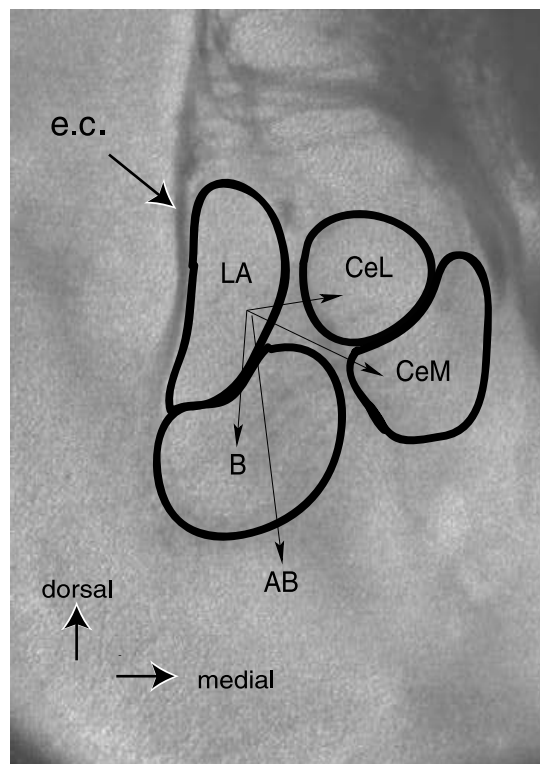


Abbildung 2: Schematische Übersicht über die intraamygdaloiden Projektionen im koronaren Schnitt. Die in dieser Arbeit untersuchte laterale Kerngruppe (LA) projiziert in alle andere Kerngebiete der Amygdala. Für die Ausbildung der Furchtreaktionen sind die Verbindungen zur zentralen Kerngruppe von besonderer Bedeutung. LA: Laterale Kerngruppe, CeL: zentrolaterale Kerngruppe, CeM: zentromediale Kerngruppe, B: basale Kerngruppe, AB: akzessorische basale Kerngruppe (modifiziert nach Sah et al., 2003)

Zur Untersuchung von Furchtreaktionen wird seit Beginn der siebziger Jahre die PAVLOV'sche Angstkonditionierung verwendet. Dabei wird ein neutraler Reiz (konditionierter Stimulus, CS) mit einem aversiven Reiz (unkonditionierter Stimulus, US), meist ein leichter elektrischer Fußschock, zeitlich gepaart dargeboten. Nach einigen Paarungen von CS und US zeigen die Versuchstiere bei Darbietung ausschließlich des konditionierten Stimulus in Erwartung des aversiven Reizes Furchtreaktionen. Bei dem konditionierten Stimulus kann es sich bei diesem experimentellen Paradigma um olfaktorische, auditorische, taktile oder visuelle Reize handeln. Bisher am besten untersucht ist die Angstkonditionierung mit auditorischen konditionierten Stimuli. Hirngebiete, die mit der Verarbeitung auditorischer Stimuli befasst sind (hauptsächlich auditorischer Kortex und Teile des Thalamus), projizieren in der Amygdala auf das laterale Kerngebiet (Doron und Ledoux, 1999; Goosens und Maren, 2001; LeDoux et al., 1990, 1991). Läsionen dieses Kerngebietes führen zu einer Störung der Furchtkonditionierung (Amorapanth et al., 2000; Campeau und Davis, 1995; Goosens und Maren, 2001; LeDoux et al., 1990; Nader et al., 2001). Die laterale Kerngruppe besitzt neben direkten Efferenzen zum zentralen Kerngebiet auch Verbindungen zur basalen und akzessorischen basalen Kerngruppe (Paré et al., 1995; Stefanacci et al., 1992). Die Verknüpfung des konditionierten mit dem unkonditionierten Stimulus soll in der lateralen Kerngruppe geschehen (LeDoux, 2000). Wie die Arbeiten von Paré und Collins im Jahr 2000 gezeigt haben, kommt es in Projektionsneuronen zu einer gesteigerten Aktivität sowohl bei der Präsentation eines konditionierten (Ton) als auch bei Darbietung des unkonditionierten Stimulus. Dabei führt die Konvergenz von konditioniertem und unkonditioniertem Stimulus zu einer permanenten Erhöhung des postsynaptischen Potentials, welches die Information über den konditionierten Stimulus in die laterale Kerngruppe weiterleitet (Rosenkranz und Grace, 2002). Diese Erhöhung der Effizienz geschieht über verschiedene Mechanismen, von denen die *“long-term potentiation”* (LTP), am besten untersucht ist. Bei LTP führt eine überschwellige Depolarisation des postsynaptischen Neurons zum Aufheben der Blockierung der N-Methyl-D-Aspartat (NMDA)-Rezeptoren durch Magnesium (Mg^{2+}) (Nowak et al., 1984). Die freigegebenen NMDA-Rezeptoren lassen Kalziumionen einströmen, die die für die permanente Konsolidierung notwendigen biochemischen Veränderungen über sekundäre Nachrichtensysteme induzieren (Übersicht in Malenka und Nicoll, 1999; Bauer et al., 2002). Die für die Aktivierung der NMDA-Rezeptoren notwendige Depolarisation wird wahrscheinlich über glutamaterge α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoaxolepropionic acid (AMPA)-Rezeptoren vermittelt (Magee und Johnston, 1997). In amygdalären Neuronen können darüber hinaus spannungsaktivierte Ca^{2+} -Kanäle (*voltage gated calcium*

channels, VGCCs) die für die LTP notwendige Erhöhung des intrazellulären Kalziumspiegels vermitteln (Weisskopf et al., 1999; Wyllie et al., 1994). Ein weiterer Weg führt über kalziumpermeable AMPA-Rezeptoren (Mahanty und Sah, 1998).

Auch die Umgebung oder Situation, in der ein Versuchstier furchtkonditioniert wurde (beispielsweise der Käfig), kann eine Furchtreaktion auslösen. Diese Furcht wird als Kontextfurcht bezeichnet. Läsionsstudien ergaben, dass die Zerstörung der basalen und akzessorischen basalen Kerngruppen den Erwerb von Kontextfurcht verhindert (Goosens und Maren, 2001; Maren und Fanselow, 1995). Diese Kerngruppen erhalten umfangreiche Afferenzen aus dem Hippocampus, speziell aus der Area CA1 und dem Subiculum (Canteras und Swanson, 1992; Maren und Fanselow, 1995), und projizieren efferent auf die zentralen Kerngebiete der Amygdala, welche wiederum mit ihren Projektionen auf Hirnstamm und Hypothalamus die Furchtreaktionen auslösen.

1.2 Neuronentypen des basolateralen Komplexes der Amygdala

Die integrative Funktion des basolateralen amygdalären Komplexes basiert auf den intrinsischen Eigenschaften der verschiedenen Neuronentypen und deren synaptischen Interaktionen. Ursprünglich wurden aufgrund der morphologischen Eigenschaften zwei Haupttypen von Neuronen im basolateralen Komplex der Amygdala der Ratte unterschieden.

Der erste Typ (Klasse 1) wird aufgrund des pyramidenähnlichen Zellkörpers (Durchmesser 10-15 μm) auch als Pyramidenzelle bezeichnet (Faber et al., 2001; Rainnie et al., 1993; Washburn und Moises, 1992). Vom Zellkörper (Soma) entspringen ein dominanter Apikaldendrit sowie drei bis sieben weitere Dendriten. Die Dendriten tragen typische Dornfortsätze, so dass die Neuronen auch als dornig (*“spiny”*) bezeichnet werden. Die Neurone dieses Typs sind Projektionsneurone, deren Axone extraamygdaläre Zielgebiete erreichen.

Der zweite Neuronentyp (Klasse 2) wird aufgrund der Form des Zellkörpers auch als sternförmig bezeichnet (Millhouse und DeOlmos, 1983). Neurone dieses Typs besitzen zwei bis sechs primäre Dendriten ohne auffällige Apikaldendriten und ohne Dornfortsätze. Es handelt sich um GABAerge Interneurone, deren Axone entweder direkt vom Soma oder aus einem Primärdendriten abgehen und sich mehrfach teilen, um dann ein Geflecht aus lokalen Axonkollateralen und -terminalen zu bilden (McDonald und Augustine, 1993). Neben diesen beiden Hauptklassen existiert eine Reihe von anderen Zelltypen, allerdings in geringerer Zahl, welche aufgrund ihrer somatodendritischen

Morphologie in so genannte *extended cells*, *cone cells*, *chandelier cells* und *neurogliform cells* (Faulkner und Brown, 1999; McDonald, 1984; Kamal und Toemboel, 1975) eingeteilt wurden. Einschränkend muss allerdings festgehalten werden, dass die morphologischen Kriterien überlappen und oftmals keine eindeutige Zuordnung individueller Neurone zu einer bestimmten Klasse möglich ist.

1.3 Intrinsische Eigenschaften von Projektionsneuronen in der lateralen Amygdala

Durch eine Verbindung von morphologischen mit physiologischen Eigenschaften wurde eine erweiterte Klassifizierung der Neuronentypen in der Amygdala angestrebt. Hierzu wurden elektrophysiologische Techniken in intakten Tieren *in vivo* und so genannten Hirnschnittpräparate ("*slices*") der Amygdala *in vitro* verwendet. Die Einteilung der Neurone erfolgte zum einen aufgrund von passiven (Membranruhepotential; Ruheeingangswiderstand) und aktiven Eigenschaften der Zellmembran (Gleichrichtung), vor allem aber aufgrund der Form und des Musters der Aktionspotentiale (Faber et al., 2001; Pape et al., 1998; Rainnie et al., 1993). Für die hier vorgestellte Arbeit sind ausschließlich die Projektionsneurone der lateralen Amygdala von Bedeutung, so dass sich die Darstellung funktioneller Neuroneneigenschaften auf diesen Zelltyp beschränken soll.

Die Projektionsneurone machen bis zu 95% der Neurone in der LA in den verschiedenen, bisher untersuchten Säugetierspezies aus (Faber et al., 2001), je nach Literatur auch mehr (McDonald, 1984). Gemeinsames Merkmal ist die geringe Spontanaktivität (Paré et al., 1995). Erst als Reaktion auf depolarisierende Einflüsse, die das so genannte Schwellenpotential erreichen, werden Aktionspotentiale generiert. Die einzelnen Aktionspotentiale sind von relativ langer Dauer (Halbwertsbreite in der LA der Ratte ca. 1-2 ms bei 28-30 °C) und werden durch ein hyperpolarisierendes Membranpotential ("*afterhyperpolarisation*", AHP) beendet (Übersicht in Sah, 1996). In einem AHP sind unterschiedliche Phasen erkennbar. Nach einem einzelnen Aktionspotential treten AHPs mit schnellem ("*fast AHP*", fAHP; Zeitverlauf im Millisekundenbereich) (Lancaster und Adams, 1986; Lancaster und Nicoll, 1987; Storm, 1987; Sah und McLachlan, 1992) und mittlerem Zeitverlauf ("*medium AHP*", mAHP; Zeitverlauf im Zehn-Millisekundenbereich) auf (Kawai und Watanabe, 1986; Sah und McLachlan, 1992; Schwindt et al., 1988a,b). Die Mehrzahl der Projektionsneurone zeigt lediglich zu Beginn des depolarisierenden Reizes eine kurze Folge von Aktionspotentialen, deren Frequenz trotz anhaltender Depolarisation kontinuierlich abnimmt. Dieses Antwort-

verhalten wird als Akkomodation und die Neurone werden entsprechend als akkomodierende Neurone (A-Typ) bezeichnet. In einem Teil der Projektionsneurone wird dagegen bei anhaltendem depolarisierendem Reiz eine anhaltende Folge von Aktionspotentialen beobachtet, deren Frequenz weniger von der Dauer als von der Stärke des depolarisierenden Einflusses abhängig ist. Diese Neurone werden entsprechend als regelmäßig aktiv (R-Typ) bezeichnet. Am Ende der Aktionspotentiale treten wiederum AHPs auf, deren Amplitude und Dauer in den beiden Neuronentypen charakteristische Unterschiede aufweisen (Faber et al., 2001; Schwindt et al., 1988a; Stocker et al., 1999; Rainnie et al., 1993; Womble und Moises, 1993b). Die A-Typ Neurone generieren ein AHP mit hoher Amplitude und sehr langsamem Zeitverlauf (*“slow AHP”*, sAHP; Zeitverlauf im Sekundenbereich), während in den R-Typ Neuronen ein AHP mit schnellerem Zeitverlauf (*“medium AHP”*; mAHP; Zeitverlauf im Zehn-Millisekundenbereich) dominiert und das sAHP im allgemeinen gering oder nicht ausgebildet wird. Grundlage der AHPs sind Auswärtsströme über die Zellmembran der Neurone, die die Aktivierung von Ionenkanälen mit hoher Kalium (K^+) Permeabilität reflektieren. Das sAHP erfolgt aufgrund der Aktivierung bestimmter Typen von K^+ -Kanälen durch intrazelluläre Kalziumionen (Ca^{2+}), die in Folge der Aktionspotentialaktivität und damit verbundener Öffnung von Ca^{2+} -Kanälen in die Zelle einströmen. Die Generierung des Stroms erfolgt über kalziumabhängige Kaliumkanäle mit niedriger Leitfähigkeit ($SK_{Ca^{2+}}$) (Sah und Isaacson, 1995; Sah, 1995). Bisher sind von diesem Kanal drei verschiedene Untertypen bekannt, die sich in ihrer Sensitivität gegenüber dem Hemmstoff Apamin unterscheiden (Übersicht in Sah, 1996). Das intrazellulär akkumulierende Ca^{2+} aktiviert eine zunehmende Population der K^+ -Kanäle mit der Folge eines anschwellenden K^+ -Ausstroms (I_{sAHP}) und entsprechendem hyperpolarisierendem Einfluss. Die Konsequenz dessen ist die abnehmende Aktionspotentialfrequenz, die das Entladungsmuster der A-Typ Neurone charakterisiert. Ursprünglich nahm man an, dass die R-Typ Neurone eine separate Neuronenpopulation darstellen, denen möglicherweise die das sAHP vermittelnden K^+ -Kanäle fehlen (Rainnie et al., 1993; Washburn und Moises, 1992). Allerdings wurde diese Hypothese durch Studien in anderen Hirnarealen und jüngst auch in der Amygdala in Frage gestellt, die ein Kontinuum von akkomodierenden und nicht-akkomodierenden Aktionspotentialmustern in einer größeren Population von Projektionsneuronen beschrieben (Faber et al., 2001). Von besonderem Interesse hierbei ist die Beobachtung, dass die K^+ -Ströme, die das sAHP vermitteln, durch Phosphorylierung und Dephosphorylierung reguliert werden können (Pedarzani und Storm, 1995). Die vermittelnden Proteinkinasen und Phosphatasen werden durch intrazelluläre Botenstoffe kontrolliert. Von besonderer Bedeutung ist

hier die Proteinkinase A, die durch das intrazelluläre cAMP kontrolliert wird (Pedarzani und Storm, 1993). Die intrazelluläre cAMP-Konzentration wiederum wird durch die Aktivität der Adenylatcyclase eingestellt, welche mit einer Reihe von metabotropen Rezeptoren der Zellmembran funktionell verbunden ist (Izquierdo und McGaugh, 2000; Ferry und McGaugh, 2000; McGaugh, 2004). Tatsächlich erbrachten *in vitro* Studien zunächst in Pyramidenzellen der CA1 Region des Hippocampus Hinweise darauf, dass nach Stimulation β -adrenerger oder muskarinischer Rezeptoren und assoziierter Aktivierung des cAMP Systems die Amplitude des I_{sAHP} sinkt (Pedarzani und Storm, 1996). Die funktionelle Konsequenz ist der Übergang von akkomodierenden zu nicht-akkomodierenden Aktionspotentialfolgen in dem entsprechenden Neuron (Faber et al., 2001).

Diese Ergebnisse sind mit der ursprünglich strikten Gruppierung der Projektionsneurone in R- und A-Typen wenig in Einklang zu bringen. Die Problematik wird auch dadurch erkennbar, dass weitere Klassifizierungsmerkmale beschrieben worden sind, die mit den ursprünglichen nur zum Teil oder nicht überlappen. In Projektionsneuronen der LA, die mit Hilfe von Stimulationsexperimenten *in vivo* exakt als solche identifiziert wurden, antwortete eine Gruppe auf depolarisierende Reize mit einer hochfrequenten Salve von Aktionspotentialen ("*bursts*", siehe (Paré und Gaudreau, 1996)). Eine andere Gruppe, die die überwiegende Mehrzahl der Projektionsneurone ausmachte, zeigte bei leichter Membrandepolarisation auf schwelennahe Werte rhythmische Deflektionen des Membranpotentials, die mit einer Frequenz von 4-8 Hz auftraten und im depolarisierenden Anteil Aktionspotentiale auslösten. Diese rhythmischen Membranpotentialänderungen wurden als "Oszillationen" bezeichnet (Paré et al., 1995). Tatsächlich erbrachten nachfolgende *in vitro* Studien in verschiedenen Säugetierspezies den Nachweis, dass eine überwiegende Zahl von Projektionsneuronen (um 90%) der LA diese Oszillationen im Frequenzband 4-8 Hz produzieren (Pape et al., 1998). Dabei wurden zwei Typen von Oszillationen differenziert, die im Schwellenbereich und oberhalb zur Generierung von Aktionspotentialen auftraten und die demzufolge als niederschwellige ("*low threshold oscillation*", LTO) und hochschwellige Oszillation ("*high threshold oscillation*", HTO) bezeichnet wurden. Detaillierte Studien der zugrunde liegenden Mechanismen zeigten, dass beide Typen von Oszillationen durch Ionenströme der Zellmembran vermittelt werden, die einander entgegengerichtet in zeitlich geordneter Weise interagieren (Pape und Driesang, 1998). Jeder Typ Oszillation rekrutiert dabei eine jeweils spezifische Kombination von Ionenkanälen, wodurch das unterschiedliche Schwellenverhalten erklärt wird. Die LTO wird durch einen spannungsabhängigen anhaltenden Natrium (Na^+)-Strom in Wechselwirkung mit einem bestimmten K^+ -Strom (I_m) gene-

riert. Die HTO ist durch die Aktivierung spannungsabhängiger Ca^{2+} -Ströme begründet, wodurch in Folge der intrazellulären Akkumulation von Ca^{2+} -Ionen bestimmte Typen von K^+ -Kanälen aktiviert werden, insbesondere vom $BK_{Ca^{2+}}$ -Typ (Pape und Driesang, 1998). Als funktionell bedeutsame Konsequenz dieser Oszillationen wurden zum einen die zeitliche Synchronisation afferenter synaptischer Signale und zum anderen die Generierung rhythmischer Folgen von Aktionspotentialfolgen im Zeitfenster dieser Oszillationen vorgeschlagen (Lampl und Yarom, 1993, 1997).

Die jüngere Zeit erbrachte ergänzende Erkenntnisse zu den Neuronentypen der Amygdala aus immunzytochemischen und molekularbiologischen Ansätzen, die jedoch noch lückenhaft sind, so dass auf deren Darstellung an dieser Stelle verzichtet werden soll (Übersicht in McDonald, 2003).

1.4 Ziele dieser Arbeit

Aus den aktuellen Klassifizierungsschemata der Projektionsneurone in der LA ergaben sich die Fragestellungen der vorliegenden Arbeit:

1. Sind A-Typ und R-Typ Projektionsneurone als Repräsentanten getrennter Neuronenpopulationen anzusehen, oder repräsentieren sie die Endpunkte eines Kontinuums neuronaler Eigenschaften?
2. In welcher Beziehung stehen die Eigenschaften akkomodierend und nicht akkomodierend auf der einen und die Oszillationen des Membranpotentials auf der anderen Seite?
3. Welche Rolle spielt das intrazelluläre cAMP/Proteinkinase A System für die Kontrolle dieser Eigenschaften?

Als methodischer Ansatz wurden intrazelluläre elektrophysiologische Techniken im *in vitro* Schnittpräparat der LA der Ratte verwendet, in denen die beschriebenen neuronalen Aktivitätsmuster zum einen gut zu untersuchen sind und die zum anderen deren zeitlich stabile Registrierung bei hinreichender Kontrolle der physikochemischen Parameter erlauben (Pape et al., 1998). Insbesondere konnte mit Hilfe pharmakologischer Ansätze die intrazelluläre cAMP Konzentration manipuliert werden.

2 Methoden

2.1 Präparation der Tiere

Die Experimente wurden in Schnittpräparaten der LA von Ratten (Stamm Long Evans) beiderlei Geschlechts (20-29 Tage postnatal) durchgeführt. Die Tiere wurden mit Halothan tief anästhesiert, dekapitiert und einer Kraniotomie unterzogen. Beide Hemisphären wurden schnell entfernt und in PIPES-Puffer (in mM: Glucose 10, Saccharose 195, CaCl_2 0,5, PIPES 20, KCl 2,4, MgSO_4 10, pH=7,25) auf einem Vibratom (Modell 1000, Ted Paella, Redding, CA, USA) als 500 μm dicke Koronarschnitte aufbereitet. Aus diesen Schnitten wurde die Amygdala mit Hilfe von Skalpellenschnitten herausgetrennt und in die Messkammer überführt. Bei der Messkammer handelte es sich um einen so genannten *interface*-Typ. Bei diesem Typ werden die Schnitte auf einem mit Filterpapier (Lens Cleaning Paper, Kodak, Rochester, NY) überzogenen Kunststoffstopfen (Sylgard 184, Precision Instruments, Sarasota, FL) bei einer Temperatur von $36\text{ }^\circ\text{C} \pm 1\text{ }^\circ\text{C}$ aufbewahrt. Die Badlösung (in mM: 126 NaCl, 2,5 KCl, 2 MgSO_4 , 26 NaHCO_3 , NaH_2PO_4 , 2 CaCl_2 , 10 Dextrose) umfließt den Schnitt aufgrund der Kapillarkräfte des Filterpapiers kontinuierlich. Durch eine Begasung mit Carbogen (95% O_2 + 5% CO_2) wurde der pH-Wert auf 7,4 eingestellt. Eine schräge Beleuchtung der koronaren Schnitte machte die Grenzen der LA gut sichtbar. Nach der Überführung der Schnitte in die Messkammer wurden mindestens 90 Minuten keinerlei Manipulationen durchgeführt.

2.2 Elektrophysiologische Eigenschaften

Die Ableitelektroden wurden auf einem Mikroelektroden-Ziehgerät (Flaming/Brown micropipette puller Model P-87, Sutter Instruments, Sarasota, FL, USA) aus dünnwandigen Glaskapillaren hergestellt (TW-100F, World Precision Instruments, Sarasota, FL, USA). Als Elektrolyt wurde 2M Kaliumacetat mit 1% Biocytin (notwendig für die Färbung der Zellen, siehe unten) verwendet. Der Elektrodenwiderstand R_{El} lag zwischen 50 und 80 $\text{M}\Omega$. Die elektrische Verbindung zum Messverstärker wurde durch einen chlorierten Silberdraht hergestellt. Als Referenzelektrode wurde ein chlorierter Silberdraht im Nährstoffbad platziert.

Alle intrazellulären Messungen wurden mit der Stromklemmen (*“current clamp”*)-Methode durchgeführt und durch einen Axoclamp 2A-Messverstärker kontrolliert (Axon Instruments, Foster City, CA, USA). Bei der *“current clamp”*-Methode wird das Membranpotential gemessen und durch kontrollierte intrazelluläre Strominjektion verän-

dert. Dabei ergibt sich der aktuelle Wert des Membranpotentials aufgrund der passiven und aktiven Eigenschaften der Zellmembran. Da Stromapplikation und Messung des Membranpotentials über eine Elektrode erfolgen, musste der durch den Elektrodenwiderstand verursachte Spannungsabfall an der Messelektrode kompensiert werden. Diese Kompensation wurde mit Hilfe eines Brückenverstärkers erreicht. Der Brückenabgleich wurde während des Experiments kontinuierlich überwacht. Die gewonnenen Daten wurden auf einem Videoband gespeichert (NeuroCorder DR-384; Neurodata, New York, NY, USA) und während der Messung mit Hilfe eines *CED 1401* Digital/Analogwandlers und der Software *Spike2 for Windows* (Version 2.18) digitalisiert und aufgezeichnet (Cambridge Electronics Design, Cambridge, GB). Die Frequenz der Digitalisierung betrug 3 kHz für die Spannungsspur und 200 Hz für die Stromspur. Strom- und Spannungsspur wurden auf einem Oszilloskop dargestellt. Um einen Überblick über den Langzeitverlauf der Spannungskurve zu bekommen, wurden die erhobenen Messwerte mit Hilfe eines Analogschreibers (Gould RS 3200, Valley View, OH, USA) aufgezeichnet.

Die Erstellung der Graphiken und die statistischen Berechnungen erfolgten mit *Origin 5.0 für Windows* (Microcal Software, Inc. Northampton, MA, USA 1991-1996).

In die Datenauswertung eingeschlossen wurden ausschließlich Projektionsneurone im lateralen Kern der Amygdala, die

- ein stabiles Ruhemembranpotential negativer als -55 mV,
- einen Ruheeingangswiderstand R_i größer als 35 $M\Omega$ und
- Aktionspotentiale mit einem Spitzenwert positiv von 0 mV (*overshoot*)

aufwiesen. Vor jeder Messung wurde die Ableitelektrode in dem Nährmediumbad platziert und der Messverstärker auf 0 mV abgeglichen.

Eine mögliche Verschiebung des Elektrodenspitzenpotentials nach der Messung wurde kontrolliert, indem nach Ende der intrazellulären Messungen die Elektrodenspitze mit der Badlösung in Verbindung gebracht und das Potential registriert wurde. Bei Veränderungen (üblicherweise unterhalb 4 mV) wurde das gemessene Membranpotential entsprechend korrigiert.

Für pharmakologische Manipulationen wurde rp-cAMPs, ein irreversibler Hemmstoff der Adenylatcyclase und 8-Bromo-cAMP, ein membrangängiges cAMP-Analogon verwendet (beide Pharmaka von Sigma-Aldrich, Taufkirchen, BRD). Die Applikation der

Substanzen erfolgte extrazellulär in kleinen Volumina (50-500 pI) unter mikroskopischer Kontrolle in unmittelbarer Umgebung der Ableitelektrode mit Hilfe einer Glaspipette (Spitzendurchmesser 10-20 μm) durch Anlegen eines konstanten Überdruckpulses (Picospritze II, General Valve, Fairfield, NJ, USA).

2.3 Intrazelluläre Färbungen

Um Lage und Struktur des untersuchten Neurons darzustellen, wurde das während der Messung durch die Ableitelektrode in das Neuron diffundierende Biocytin als Markierung benutzt. Dazu wurde im Anschluss an die elektrophysiologischen Untersuchungen der Schnitt fixiert (24h, 4% Formalin, 30% Saccharoselösung, pH 7,4) und am Gefriermikrotom 80 μm dicke Schnitte angefertigt. Vor der weiteren Aufarbeitung wurden die Schnitte in PBS (phosphatgepufferte Blutersatzlösung, in mM: 120 NaCl, 11,5 NaH_2PO_4 , 3,12 K_2HPO_4 , pH = 7,4) dreifach gespült. Danach folgte eine 30 minütige Behandlung mit H_2O_2 (166,6 μl H_2O_2 in 10 ml PBS). Nach einer erneuten dreifachen Reinigung mit PBS konnte der Schnitt mit Avidin-Biotin-Meerrettich Peroxidase (ABC-Kit 1:100, Vektor Labs) inkubiert werden. Im Anschluss daran wurde eine erneute Reinigung mit PBS durchgeführt. Jetzt erfolgte die Diaminobenzidin (DAB)-Reaktion. (1,25 mg DAB+125 μl 1% CoCl_2 + 100 μl Ammoniumnickelsulfate (1%) + 0,009% H_2O_2). Wiederrum wurde eine Reinigung mit PBS durchgeführt. Danach wurden die Schnitte auf einen Objektträger aufgebracht und für eine Dauer von 24h bei Raumtemperatur getrocknet. Diese Schnitte wurden unter einem Lichtmikroskop (Olympus, Typ BX41) bei 100facher und 800facher Vergrößerung beurteilt und fotografiert.

2.4 Bestimmung der grundlegenden elektrophysiologischen Eigenschaften

Zur Charakterisierung der grundlegenden elektrophysiologischen Eigenschaften eines Neurons wurden in der vorliegenden Arbeit bestimmt:

1. Ruhemembranpotential V_r

Das Ruhemembranpotential ist die Potentialdifferenz zwischen Zytoplasma und Umgebung der Zelle, welches gemessen werden kann, wenn die Zelle keiner elektrischen, chemischen oder mechanischen Reizung von außen ausgesetzt ist.

2. Ruheingangswiderstand R_i

Der Ruheingangswiderstand bezeichnet den ohmschen Widerstand der Zellmembran bei Werten des Membranruhepotentials. Für die Bestimmung von R_i wurde ein rechteckförmiger hyperpolarisierender Konstantstrom mit einer Amplitude von -0,1 nA und 100 ms Dauer beim Ruhepotential appliziert. Aus der Differenz zwischen Ruhemembranpotential und der gemäß dem OHM'schen Gesetz resultierenden Membranhyperpolarisation wurde der Ruheingangswiderstand errechnet:

$$R_i = \frac{\Delta U}{\Delta I} \quad (1)$$

3. Passive Membraneigenschaften ($I/V500$)

Zur Bestimmung der passiven Membraneigenschaften wurden hyperpolarisierende Konstantstimpulse mit einer Amplitude von -0,1 nA bis -0,5 nA (Dauer: 500 ms) beim Ruhemembranpotential appliziert. Die Werte von injiziertem Strom und Potentialänderung wurden in der so genannten Strom/Spannungsbeziehung (I/V -Beziehung) aufgetragen, die aufgrund der 500 ms Dauer der Strominjektion als $I/V500$ bezeichnet wurde

4. Aktive Membraneigenschaften, insbesondere Aktionspotentialfrequenz ($f/i500$)

Vom Ruhepotential aus wurden Aktionspotentiale durch Injektion von 500 ms dauernden, depolarisierenden Konstantstimpulsen mit steigender Amplitude ausgelöst. Die aktuelle Aktionspotentialfrequenz wurde in Beziehung zur Amplitude des Konstantstroms gesetzt ($f/i500$). Für die Beschreibung der Frequenzänderung zwischen den einzelnen Aktionspotentialen wurde die instantane Frequenz verwendet. Dabei werden die zeitlichen Abstände n zwischen den einzelnen, jeweils vorausgehenden, Aktionspotentialen gemessen und mit Hilfe der Formel

$$1/n = \text{Frequenz} \quad (2)$$

berechnet.

5. Zeitkonstante der Nachhyperpolarisation τ_{AHP}

Der Zeitverlauf des AHP bei Beendigung einer depolarisationsinduzierten Folge von Aktionspotentialen (aus der $f/i500$, s.o.) wurde mit Hilfe der Zeitkonstante bestimmt. Hierzu wurde das AHP mit der Exponentialfunktion

$$y = A_0 + A_1^{(-t/\tau_1)} + A_2^{(-t/\tau_2)} \quad (3)$$

mit Hilfe einer entsprechenden Software (*Origin 5.0*, Microcal Software, Northampton, USA) beschrieben. A_n entspricht der Amplitude, τ_n repräsentiert die Zeitkonstante, A_0 ist die Verschiebung auf der Ordinate. Die Amplitude des depolarisierenden Konstantstroms wurde jeweils so gewählt, dass bei nicht akkomodierenden Neuronen acht bis zehn Aktionspotentiale und bei akkomodierenden Neuronen zwei bis vier Aktionspotentiale ausgelöst wurden. Die Amplituden des Strompulses lagen zwischen 0,8 und 1,4 nA. Der Abstand zwischen den Pulsen war lang genug, um eine Repolarisation auf das Ruhemembranpotential V_r zu gewährleisten.

2.5 Anhaltende Depolarisation

Um die Aktionspotentialfolgen über einen längeren Zeitraum verfolgen zu können, wurden rechteckförmige Konstantströme von 30 s Dauer bei schrittweise steigender Amplitude verwendet. Die Stromamplituden lagen zwischen 1,0 nA und 2,8 nA. Der Abstand der Strompulse wurde so gewählt, dass vor der nächsten Depolarisation das Ruhemembranpotential erreicht wurde. Während der Depolarisation wurden zur Kontrolle der Brückenbalance in fünfsekundigem Abstand hyperpolarisierende Konstantströme mit einer Dauer von 300 ms und einer Stromstärke von -0,3 nA appliziert. Die zeitlichen Abstände zwischen den ausgelösten Aktionspotentialen wurden bestimmt und nach relativer Häufigkeit in einem Histogramm dargestellt (*Intervall Histogramm*). Als prozentualer Maximalwert wurde der zeitliche Abstand zwischen den ausgelösten Aktionspotentialen bezeichnet, der in der prozentualen Verteilung am häufigsten vorkam.

2.6 Applikation eines rampenförmigen Strompulses

Zur Darstellung des spannungsabhängigen Übergangs verschiedener Aktivitätsmuster sowie zur Bestimmung des Membranwiderstandes in Abhängigkeit von der Änderung des Membranpotentials wurden rampenförmige depolarisierende Strompulse vom Ruhemembranpotential aus injiziert. Der Anstieg der rampenförmigen Strompulse betrug 90 pA/s. Die Dauer des Strompulses wurde so gewählt, dass am Ende des Strompulses das Membranpotential bei ca. -20 mV lag oder keine weitere Depolarisation des Neurons auslösbar war. Während der rampenförmigen Depolarisation wurden zur Kontrolle der Brückenbalance in fünfsekundigem Abstand hyperpolarisierende Konstantströme mit einer Dauer von 300 ms und einer Stromstärke von -0,3 nA

appliziert. Für die Auswertung wurde die Amplitude des Membranstroms normiert (relativer Membranstrom) und in jeweils zehnpromzentigen Abständen das Membranpotential bestimmt. Generierte das Neuron zu diesem Zeitpunkt ein Aktionspotential oder eine Oszillation, so wurde ein Wert ausgewählt, der dem Membranpotential zwischen zwei Aktionspotentialen bzw. Oszillationen entsprach. Das Membranpotential wurde danach auf das während der rampenförmigen Depolarisation maximal erreichte Membranpotential normiert (relatives Membranpotential) und gegen den relativen Membranstrom aufgetragen.

2.7 Datenanalyse

Alle Werte sind als Mittelwert der Stichprobe mit Standardabweichung angegeben. Der *t-test* wurde für die Berechnung von Unterschieden zwischen Neuronengruppen verwendet. Bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ wurde das Ergebnis als signifikant bezeichnet. Die statistischen Berechnungen wurden mit *Origin 5.0 für Windows* (Microcal Software, Northampton, USA) durchgeführt.

3 Ergebnisse

3.1 Grundlegende Eigenschaften von R- und A-Typ Neuronen in der lateralen Amygdala

Grundlage dieser Arbeit bilden stabile, intrazelluläre Registrierungen von 84 Neuronen aus dem lateralen Kerngebiet der Amygdala der Ratte. Die intrazelluläre Färbung nach Biocytin-Injektion zeigte pyramidenähnliche Somata und dornhaltige Dendriten ($n = 13$; Abbildung 3).

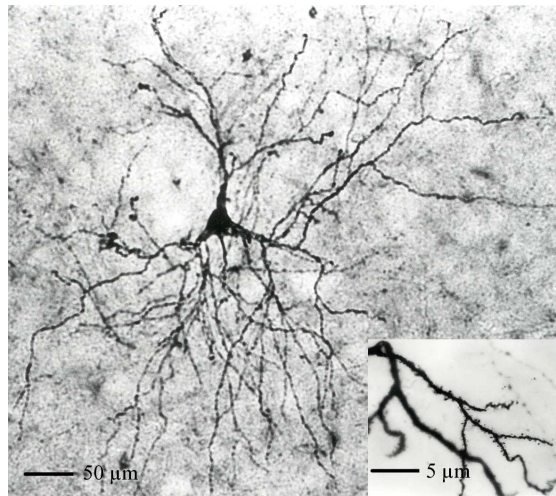


Abbildung 3: Typisches pyramidales Projektionsneuron im lateralen Kerngebiet der Amygdala. In der Vergrößerung sind die Dornfortsätze erkennbar.

Diese Charakteristika und die nachfolgend beschriebenen elektrophysiologischen Eigenschaften entsprechen weitgehend den zuvor für Projektionsneurone in der LA beschriebenen (Rainnie et al., 1993), so dass die Neurone nachfolgend als solche bezeichnet werden. Auffällige Unterschiede in der untersuchten Neuronenpopulation zeigten sich in der Generierung von Aktionspotentialen in Beantwortung depolarisierender Konstantströme (Dauer 500 ms), die im Bereich des Ruhepotentials injiziert wurden. In der Mehrzahl der Neurone ($n = 61$) wurde ein akkomodierendes Entladungsverhalten (*A-Typ*) gefunden.

Ein Beispiel ist in Abbildung 4 A dargestellt. Nach Beginn des Stromreizes generierte das Neuron eine Folge von 4 Aktionspotentialen, deren Frequenz bei anhaltendem

Zelltyp	$V_m[mV]$	$R_i[M\Omega]$	n
A-Typ	$-71,6 \pm 4,9$ mV	$50,1 \pm 8,4$	61
R-Typ	$-72,3 \pm 3,4$ mV	$58,7 \pm 7,1$	23

Tabelle 3: Übersicht über das Ruhemembranpotential und den Eingangswiderstand von Projektionsneuronen in der LA. Die Unterschiede zwischen diesen beiden Parametern sind nicht signifikant.

Reiz rasch abnahm, bis nach etwa 100 ms die Aktionspotentialaktivität erlosch. Zum Ende des depolarisierenden Strompulses trat ein AHP mit langsamem Zeitverlauf im Sekundenbereich auf (Pfeil in Abbildung 4 A). Die Auswertung der Aktionspotentialmuster zeigte, dass die Zahl der Aktionspotentiale trotz Erhöhung der Stärke des depolarisierenden Konstantstrompulses (Bereich +0,3 bis 1,3 nA) im Mittel nur bei 2-4 lag (Abbildung 4 F). Dabei traten diese Aktionspotentiale stets zu Beginn der Reize auf. In den verbliebenen Neuronen ($n = 23$) der untersuchten Gruppe wurde ein deutlich anderes Aktionspotentialmuster beobachtet. Sie generierten Aktionspotentiale während der gesamten Dauer des depolarisierenden Strompulses, wobei sich die Aktionspotentialfrequenz zum Ende des depolarisierenden Konstantstroms leicht verringerte. Ein Beispiel für dieses regelmäßig aktive Entladungsverhalten (*R-Typ*) ist in Abbildung 4 D gezeigt. Auffällig war darüber hinaus ein AHP am Ende des Strompulses, das in den R-Typ Neuronen weniger deutlich ausgebildet war (Pfeil in Abbildung 4 D). Die mittlere Frequenz der Aktionspotentiale nahm mit Erhöhung der depolarisierenden Reizstärke im untersuchten Bereich (+0,3 bis 1,3 nA) nahezu linear zu (Abbildung 4 F). Die passiven Membraneigenschaften der Neurone waren in beiden Gruppen nicht signifikant unterschiedlich (Tabelle 3). Neurone vom A-Typ ($n = 61$) hatten ein mittleres Ruhemembranpotential V_r von $-71,6 \pm 4,9$ mV bei einem Eingangswiderstand R_i von $50,1 \pm 8,4$ M Ω . Das mittlere Ruhemembranpotential V_r der R-Zellen lag bei $-72,3 \pm 3,4$ mV, der Eingangswiderstand R_i betrug $58,7 \pm 7,1$ M Ω ($n = 23$). Darüber hinaus waren die Antworten nach Injektion hyperpolarisierender Konstanströme (500 ms Dauer) in beiden Neuronengruppen nicht signifikant unterschiedlich (Abbildung 4 C). Zusammengefasst unterstützen diese Ergebnisse die Resultate vorangegangener Studien, die akkomodierende und regelmäßig aktive Aktionspotentialmuster in Projektionsneuronen der lateralen Kerngruppe der Amygdala beschreiben (Rainnie et al., 1993; Faber et al., 2001).

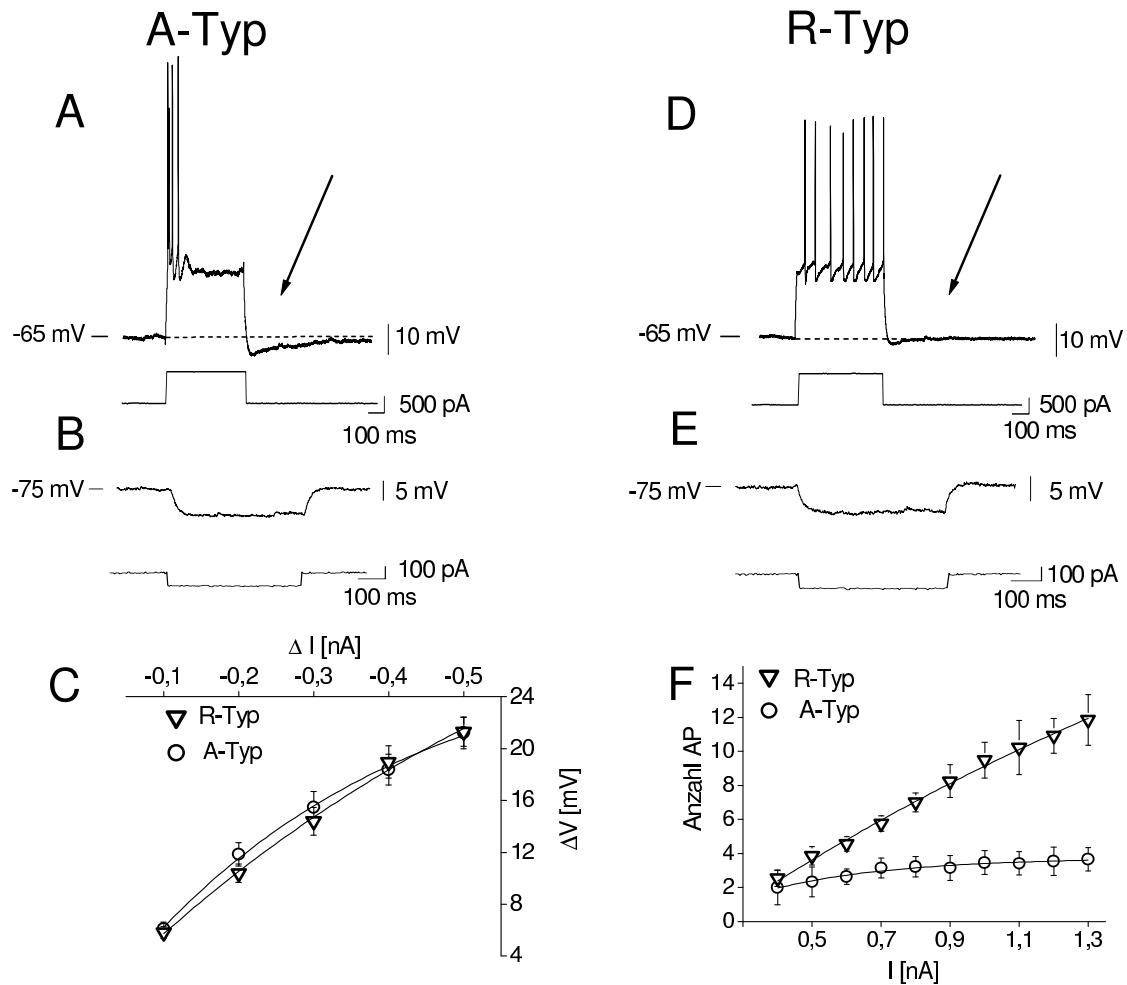


Abbildung 4: Grundlegende elektrophysiologische Eigenschaften von LA Projektionsneuronen des A-Typs (**A, B**) und des R-Typs (**D, E**). **A, D:** Injektion eines depolarisierenden Konstantstrompulses (500 ms Dauer) vom Ruhepotential löst eine Folge von Aktionspotentialen aus, deren Frequenz im A-Typ rasch abnimmt (akkomodierend, **A**) und im R-Typ während der Dauer des Strompulses nahezu unverändert bleibt (regelmäßig aktives Entladungsmuster, **D**). Die Pfeile markieren das sAHP, das bei A-Typ Neuronen mit deutlich längerem Zeitverlauf auftritt als beim R-Typ. Die oberen Spuren stellen das Membranpotential dar (Zahlen geben das Membranruhepotential vor Strominjektion an), die unteren Spuren zeigen den Membranstrom. **B, E:** Applikation eines hyperpolarisierenden Konstantstroms löst eine passive Membranantwort aus, die bei beiden Typen (A-Typ in **B**, R-Typ in **E**) ähnlich verläuft. Obere Spuren: Membranpotential; untere Spuren Membranstrom. **C:** Passive Membraneigenschaften, dargestellt als Strom/Spannungsbeziehung (I/V 500) von R-Typ (offene Dreiecke; $n = 20$) und A-Typ Neuronen (geschlossene Kreise, $n = 32$). Dargestellt ist die ohmsche Membranantwort ΔV bei Injektion hyperpolarisierender Konstantstrompulse unterschiedlicher Stärke I

vom Ruhepotential. F: Aktive Membraneigenschaften. Dargestellt ist die mittlere Anzahl von Aktionspotentialen, die bei Injektion depolarisierender Konstantstrompulse (500 ms Dauer) mit steigender Amplitude (ΔI) vom Membranruhepotential ausgelöst wurden. Zu beachten ist die nahezu lineare Zunahme der Aktionspotentiale mit der Reizstromstärke im R-Typ (offene Kreise; $n = 11$) und die nahezu konstante Anzahl der Aktionspotentiale im A-Typ (offene Dreiecke, $n = 7$).

3.2 Pharmakologische Manipulation der intrazellulären cAMP-Konzentration und Proteinkinase A-Aktivität: Einfluss auf das Aktionspotentialmuster

Nach der Einteilung der Neurone in R-Typ und A-Typ wurde der Einfluss der intrazellulären cAMP-Konzentration auf Aktionspotentialmuster und Nachhyperpolarisation bei den jeweiligen Typen untersucht. Hierzu wurde ein pharmakologischer Ansatz auf der Grundlage von Ergebnissen vorangegangener Studien verwendet, die eine Reduktion des sAHP und daraus folgend eine Änderung von akkomodierenden zu nicht-akkomodierenden Aktionspotentialfolgen bei Erhöhung der intrazellulären cAMP-Konzentration und resultierender Aktivierung der Proteinkinase A zeigten (Lancaster und Adams, 1986; Pedarzani und Storm, 1993; Pennefather et al., 1985; Storm, 1987). In der vorliegenden Studie wurde auf A-Typ Neurone ein membranpermeables cAMP Analogon, 8-Bromo-cAMP (1 mM), appliziert, um eine Erhöhung der intrazellulären cAMP-Konzentration zu erreichen. In R-Typ Neuronen wurde rp-cAMPs (100 μ M) benutzt, um die Aktivität des Proteinkinase A-Systems zu hemmen. Im ersten Schritt wurden Aktionspotentialmuster betrachtet, die durch Injektion gerade überschwelliger depolarisierender Konstantströme von 500 ms Dauer vom Ruhepotential ausgelöst wurden. R-Typ Neurone beantworteten die Reize mit den typischen, regelmäßigen Sequenzen von Aktionspotentialen mit weitaus geringerer Frequenzakkomodation als A-Typ Neurone (Abbildung 5 A). Die lokale Applikation von rp-cAMPs (100 μ M) bewirkte eine Zunahme der zeitlichen Abstände zwischen den einzelnen Aktionspotentialen bei andauerndem Konstantstrom, bis ein Muster ähnlich dem der akkomodierenden Neurone erreicht war (Abbildung 5 C). Umgekehrt bewirkte die lokale Applikation von 8-Bromo-cAMP (1 mM) in A-Typ Neuronen (Abbildung 5 B) einen Übergang von akkomodierenden Aktionspotentialfolgen zu weniger bis nicht-akkomodierenden Mustern (Abbildung 5 D). Diese Effekte wurden mit Hilfe einer Frequenzanalyse näher untersucht, bei der die instantane Frequenz der Aktionspotentiale bei depolarisierenden, 500 ms andauernden Konstantstromreizen steigender Amplitude erfasst wurden ($f/i500$). Dabei wird in Abbildung 6 A deutlich, dass R-Typ Neurone als Reaktion auf

einen depolarisierenden Konstantstrom mit initial hohen Frequenzen von Aktionspotentialen antworteten, die mit anhaltender Depolarisation abnahmen und sich auf einen stabilen Wert um 20 Hz näherten. Die initialen Frequenzen betragen in Abhängigkeit von der Stärke des depolarisierenden Strompulses bis zu 120 Hz (Abbildung 6 B).

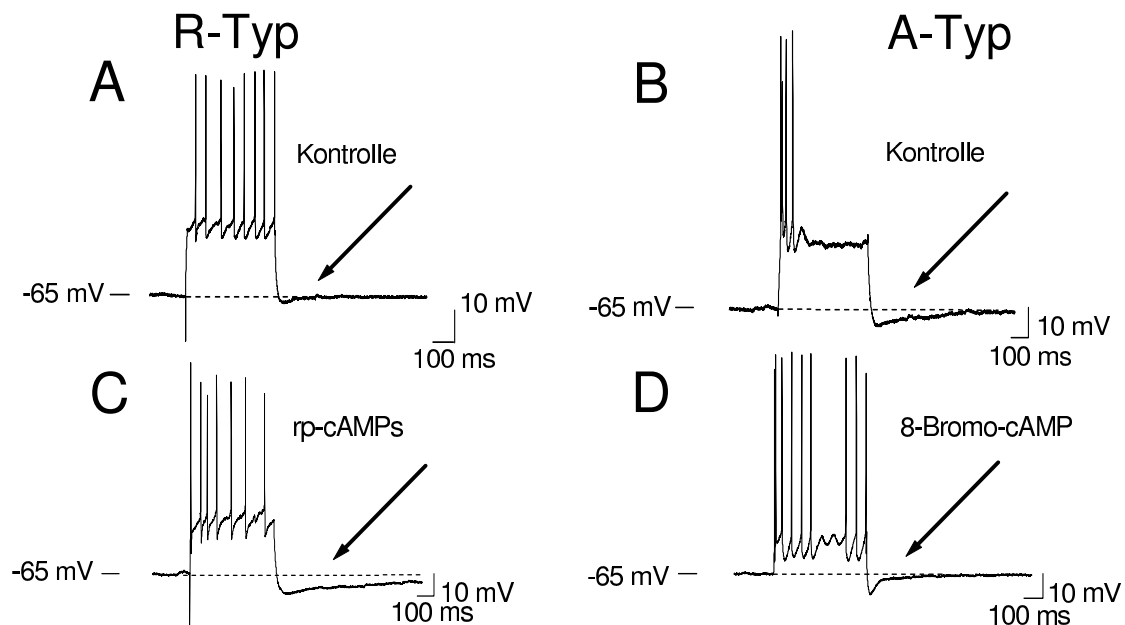


Abbildung 5: Aktionspotentialfolge und zeitlicher Verlauf von sAHPs von R-Typ Neuronen vor (A) und nach (C) der Behandlung mit rp-cAMPs sowie A-Typ Neuronen vor (B) und nach (D) der Applikation von 8-Bromo-cAMP. A: Bei R-Typ Neuronen treten Aktionspotentiale in regelmäßigem zeitlichen Abstand auf und werden nach Abschalten des depolarisierenden Konstantstroms (500 ms Dauer) durch ein sAHP von kurzem zeitlichen Verlauf gefolgt (Pfeil). C: Nach Applikation von rp-cAMPs führt derselbe depolarisierende Konstantstrom beim A-Typ Neuron zu einer unregelmäßigeren zeitlichen Abfolge der Aktionspotentiale. Der Zeitverlauf des AHP wird nach der Applikation von rp-cAMPs deutlich länger (Pfeil in C). Die Zahlen zeigen das Membranpotential vor Injektion des Membranstroms an. Die bei einem depolarisierenden Konstantstrom vorher schnell akkomodierende Aktionspotentialfolge bei A-Typ Neuronen (B) wird nach der Applikation von 8-Bromo-cAMP regelmäßiger (D), es kommt zu einem verkürzten zeitlichen Verlauf des sAHP nach Applikation (Pfeil in D).

Nach der Applikation von rp-cAMPs blieben die initialen Frequenzen unverändert. Bei anhaltender Depolarisation zeigte sich eine verstärkte Frequenzakkomodation, die zum Abklingen der Aktionspotentialaktivität nach drei bis sechs Aktionspotentialen führte. Bei A-Typ Neuronen lagen die maximalen Frequenzen zu Beginn der Depola-

risation lediglich bei 70 Hz und die Aktivität klang trotz Fortdauer der Depolarisation nach drei bis vier Aktionspotentialen rasch ab. Nach Applikation von 8-Bromo-cAMP stiegen die maximalen Frequenzen zu Beginn der Depolarisation auf bis zu 110 Hz an, um, abhängig von der Stromstärke, im Verlauf der Depolarisation auf einen stabilen Wert von 50 Hz abzunehmen. Dabei erhöhte sich die Anzahl der Aktionspotentiale. Umgekehrt führte die Applikation von 8-Bromo-cAMP auf A-Typ Neurone zu einer deutlichen Erhöhung der instantanen Frequenzen und Verminderung der Frequenzakomodation während des depolarisierenden Konstantstroms. Zusammengefasst führt die Applikation von rp-cAMPs auf R-Typ Neurone zu einem dem A-Typ ähnlichen Aktionspotentialmuster. Umgekehrt führt eine Erhöhung der intrazellulären cAMP-Konzentration mit 8-Bromo-cAMP in A-Typ Neuronen zu einem regelmäßig aktiven Aktionspotentialmuster, ähnlich den R-Typ Neuronen.

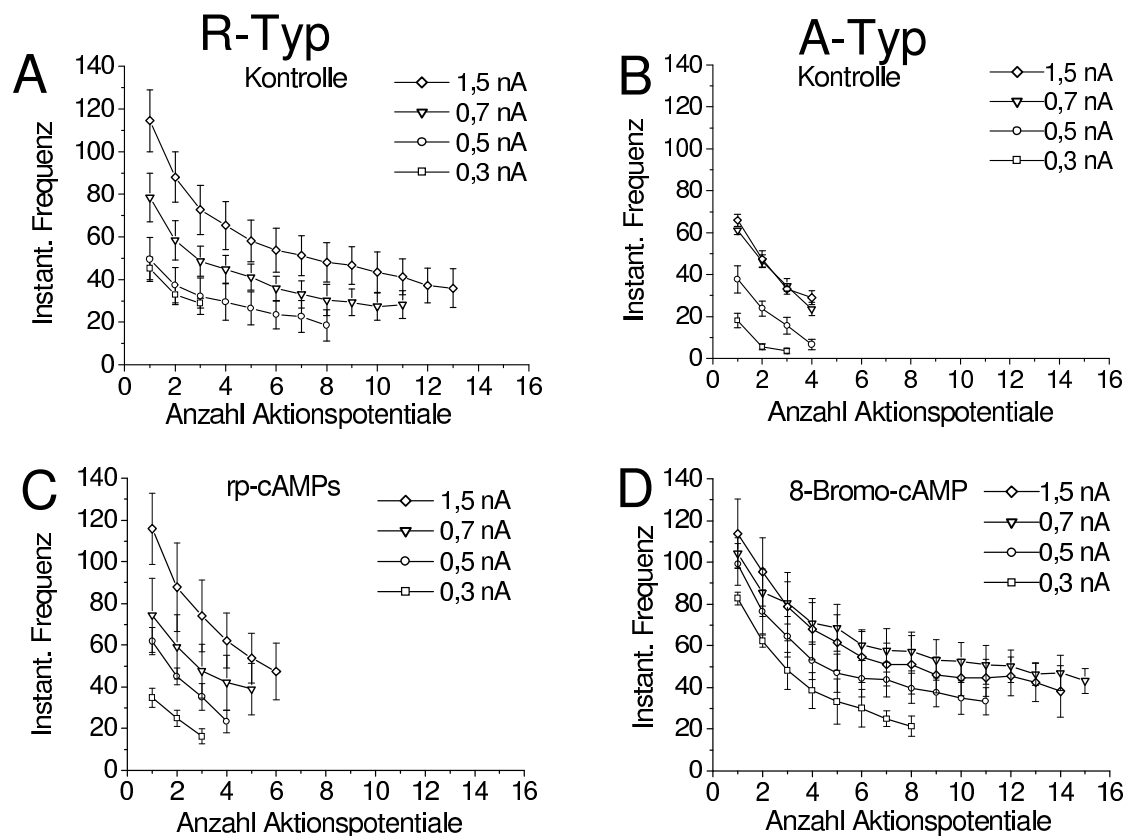


Abbildung 6: Instantane Aktionspotentialfrequenz von R-Typ Neuronen und A-Typ Neuronen bei depolarisierenden Konstantströmen von 500 ms Dauer und steigender

Amplitude (0,3 nA, 0,5 nA, 0,7 nA und 1,5 nA). Die zeitlichen Abstände der jeweiligen Aktionspotentiale wurden bestimmt und in die instantane Frequenz umgerechnet. R-Typ Neurone unter Kontrollbedingungen (**A**) und nach Applikation von rp-cAMPs (**C**). Daten zeigen Mittelwerte mit Standardabweichung von Messungen aus fünf Neuronen. A-Typ Neurone unter Kontrollbedingungen (**B**) und nach Applikation von 8-Bromo-cAMP (**D**). Daten zeigen Mittelwerte mit Standardabweichung von Messungen aus 5 Neuronen. Zu beachten sind die ähnlichen Verläufe in A und D sowie in B und C

Im nächsten Schritt wurden die Neurone anhaltend depolarisiert, indem depolarisierende Konstantströme langer Dauer (30 s) bei Werten des Ruhemembranpotentials injiziert wurden. Die Stärke der Konstantströme wurde so gewählt, dass initial Aktionspotentiale mit einer Frequenz um 20 Hz ausgelöst wurden. Ein Beispiel für ein R-Typ Neuron ist in Abbildung 7 gezeigt. Das Neuron generierte nach initialer Frequenzakkommodation eine regelmäßige Folge von Aktionspotentialen mit einer Frequenz bei etwa 20 Hz ohne nennenswerte Frequenzakkommodation (Abbildung 7 A, B).

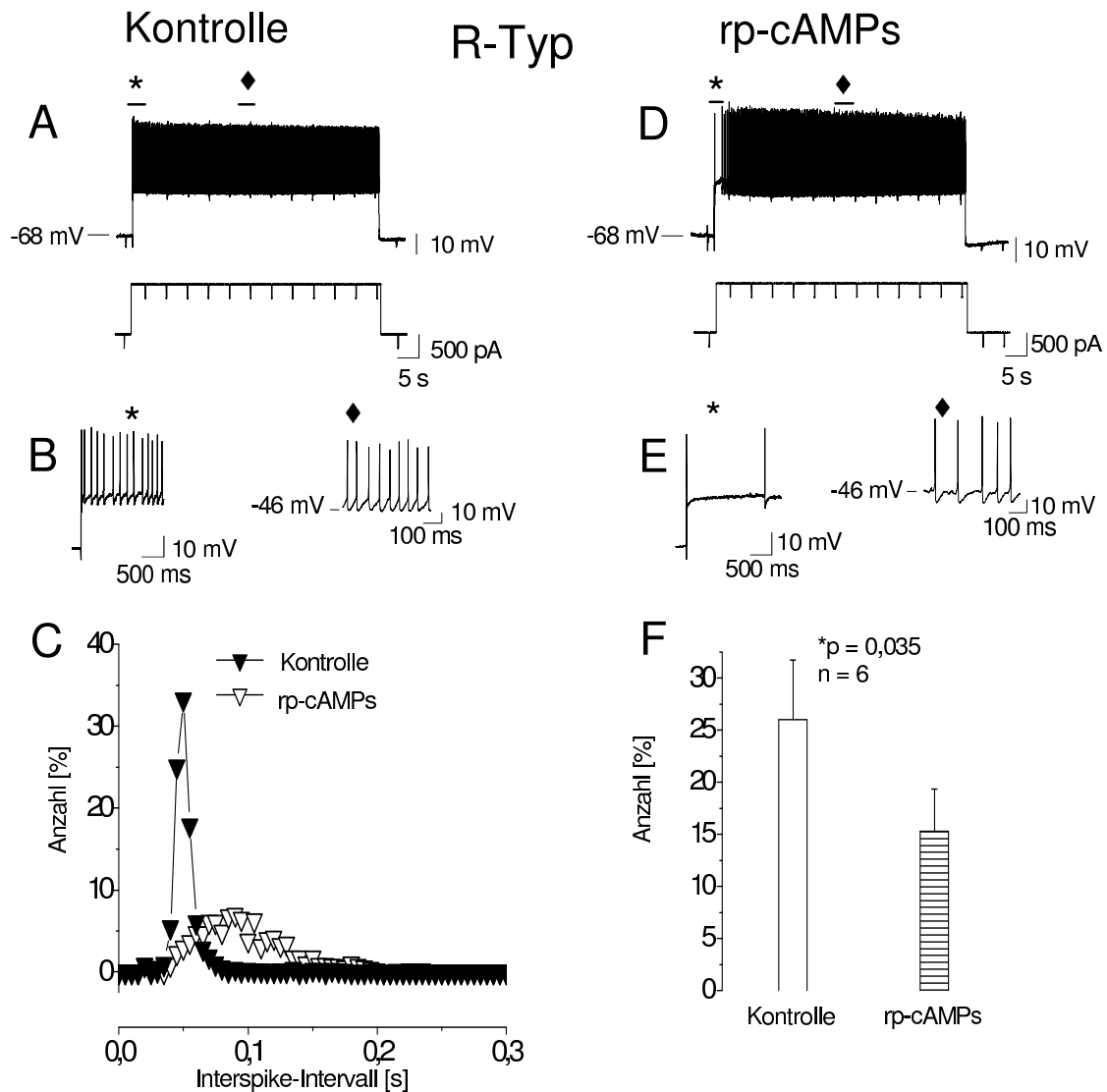


Abbildung 7: Aktionspotentialfolge von R-Typ Neuronen als Antwort auf einen 30 Sekunden dauernden depolarisierenden Konstantstrom. **A:** Der depolarisierende Konstantstrom löst eine Folge von Aktionspotentialen aus. Die obere Spur zeigt das Membranpotential (Zahlen bezeichnen das Membranruhepotential), die untere Spur den Membranstrom mit im Abstand von fünf Sekunden injizierten hyperpolarisierenden Testpulsen (Dauer 300 ms, Amplitude 0,3 nA) zur Kontrolle der Brückenbalance. **B:** Die höhere zeitliche Auflösung der in Abbildung A mit Stern beziehungsweise Raute markierten Abschnitte verdeutlicht das regelmäßige Aktionspotentialmuster von R-Typ Neuronen. **C:** Die Applikation von rp-cAMPs im selben Neuron löst eine durch ein unregelmäßiges Muster gekennzeichnete Aktionspotentialfolge aus. **D:** Dargestellt ist eine höhere zeitliche Auflösung der in Abbildung C mit Stern beziehungsweise Rau-

te markierten Abschnitte. Das Aktionspotentialmuster ist nach Applikation von rp-cAMPs durch unregelmäßige zeitliche Abstände charakterisiert. E: Relative Verteilung der Interspike-Intervallzeiten des in Abbildung A und C dargestellten R-Typ Neurons. Die enge Verteilung der Interspike-Intervallzeiten mit einem prozentualen Maximalwert von 34,3% bei 53 ms (geschlossene Dreiecke) zeigt das regelmäßige Aktionspotentialmuster. Nach Applikation von rp-cAMPs im selben Neuron kommt es zu einer breiteren Streuung der zeitlichen Abstände zwischen den Aktionspotentialen mit einem prozentualen Maximalwert von 7,9% bei 83 ms (offene Dreiecke), entsprechend der unregelmäßigen Abfolge der Aktionspotentiale. F: Änderung der relativen Verteilung der durchschnittlichen relativen Interspike-Intervallzeiten von $26,12\% \pm 4,99\%$ (Balkengrafik ohne Muster) auf $15,32\% \pm 6,33\%$ ($p < 0,05$, Balkengrafik mit Muster) unter Wirkung von rp-cAMPs. Daten aus Messungen in sechs Neuronen.

Die Analyse der Aktionspotentialintervalle zeigte demzufolge eine enggipfelige Verteilung mit einer mittleren Intervalldauer von 53 ms (Abbildung 7 C, geschlossene Dreiecke). Nach Applikation von rp-cAMPs wurden die Aktionspotentialfolgen unregelmäßiger (Abbildung 7 D, E). Entsprechend war die Intervallverteilung im Vergleich zu Kontrollbedingungen deutlich verbreitert und zu höheren Werten mit einem Mittelwert von 83 ms verschoben (Abbildung 7 C, offene Dreiecke). In der Population der untersuchten R-Typ Neurone ($n = 6$) lagen unter Kontrollbedingungen $26,12\% \pm 4,99\%$ der Aktionspotentialintervalle im Bereich des Mittelwertes, während nach Applikation von rp-cAMPs lediglich $15,32\% \pm 6,33\%$ der Intervalle dem Mittelwert entsprachen (Abbildung 7 F, $p < 0,05$). Dieses Ergebnis unterstreicht den Übergang von regelmäßigen zu unregelmäßigen Aktionspotentialfolgen unter der Wirkung von rp-cAMPs. Die Abbildung 8 illustriert ein entsprechendes Beispiel für eine anhaltende Depolarisation in einem A-Typ Neuron. Das Neuron generierte zu Anfang der Depolarisation eine Folge von Aktionspotentialen (Abbildung 8 A, B) mit einer Intervalldauer von ca. 35 ms (Abbildung 8 C). Bei anhaltender Depolarisation zeigte sich zunächst die typisch ausgeprägte Frequenzakkommodation, gefolgt von zunehmend unregelmäßigen Intervallen der Aktionspotentiale (Abbildung 8 A, B). Das Intervallhistogramm zeigte entsprechend die hohe Anfangsaktivität in kurzen Intervallen und die nachfolgend unregelmäßige Aktivität in zahlreichen Intervallen hoher Dauer (Abbildung 8 C, offene Kreise). Die lokale Applikation von 8-Bromo-cAMP bewirkte einen Übergang des akkomodierend-unregelmäßigen Aktionspotentialmusters in ein regelmäßigeres Muster über die gesamte Dauer des depolarisierenden Strompulses (Abbildung 8 D, E). Entsprechend zeigte die Intervallverteilung ein enggipfeliges Maximum bei 41 ms mit einer Reduktion der Streuung (Abbildung 8 C, geschlossene Kreise).

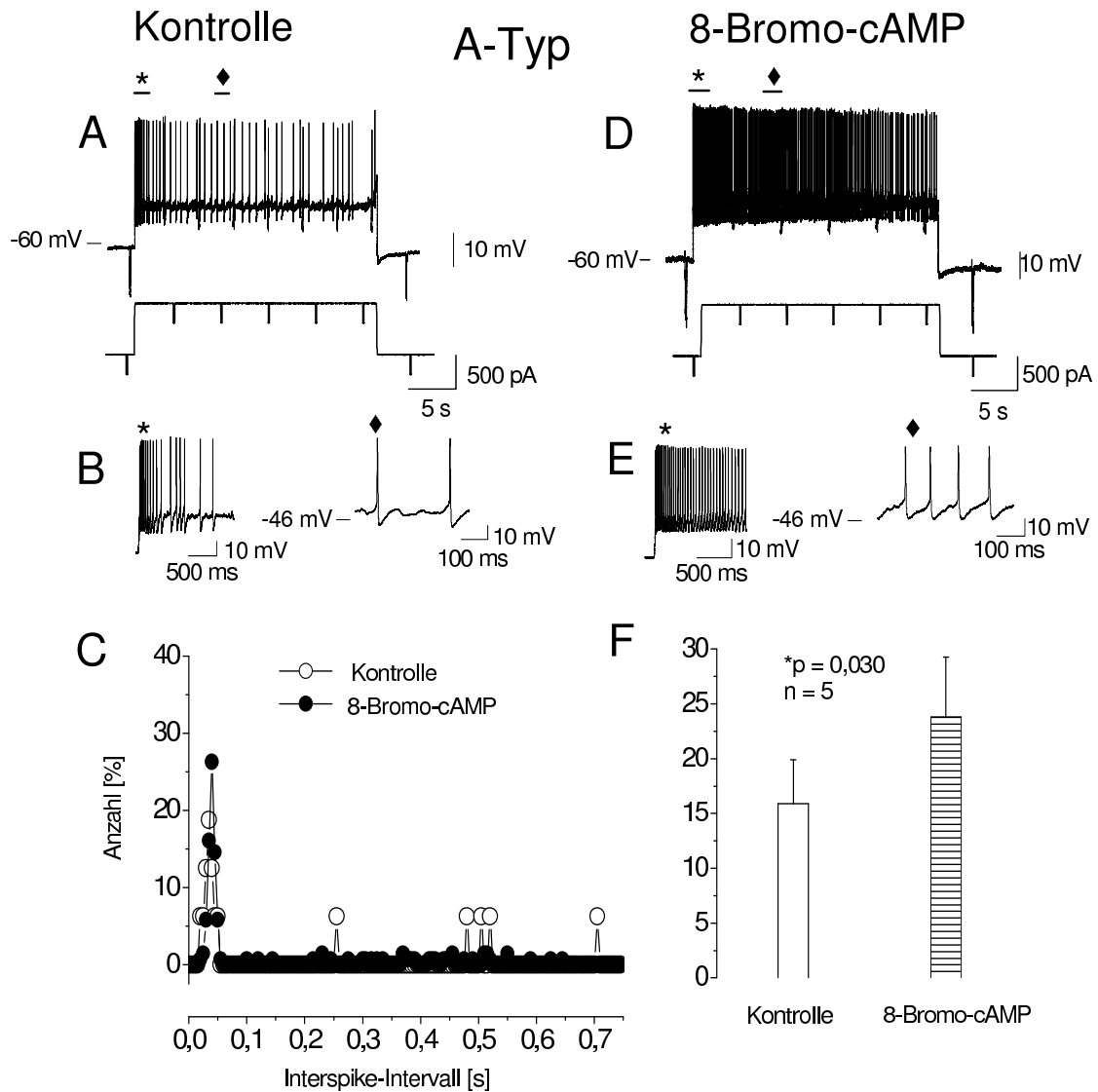


Abbildung 8: Aktionspotentialfolgen eines A-Typ Neurons in Antwort auf einen 30 Sekunden dauernden depolarisierenden Konstantstrom. **A:** Initial löst ein depolarisierender Konstantstrom eine hochfrequente Aktionspotentialfolge aus, gefolgt von einem unregelmäßigen Aktionspotentialmuster. Die obere Spur stellt das Membranpotential dar, die Zahlen bezeichnen das Membranruhepotential. Die untere Spur zeigt den Membranstrom mit im Abstand von fünf Sekunden injizierten hyperpolarisierenden Kontrollpulsen (Dauer 300 ms, Amplitude 0,3 nA) zur Kontrolle der Brückenbalance. **B:** In höherer zeitlicher Auflösung (markiert mit Stern bzw. Raute in Abbildung A) wird die Reduktion der zu Beginn des Konstantstroms hohen Aktionspotentialfrequenz verdeutlicht, entsprechend einem akkomodierenden Entladungsverhalten. Im

weiteren Verlauf entladen sich Aktionspotentiale in unregelmäßigem zeitlichen Abstand. **C:** Nach Applikation von 8-Bromo-cAMP im selben Neuron löst ein depolarisierender Konstantstrom eine regelmäßige Folge von Aktionspotentialen aus. **D:** Die höhere zeitliche Auflösung der in Abbildung C mit Stern beziehungsweise Raute markierten Abschnitte verdeutlicht das regelmäßige Aktionspotentialmuster nach Applikation von 8-Bromo-cAMP. **E:** Relative Verteilung der Interspike-Intervallzeiten des in Abbildung A und C dargestellten Neurons. Unter Kontrollbedingungen zeigen die relativen Interspike-Intervallzeiten einen prozentualen Maximalwert von 18,3% bei 37 ms mit einer Streuung bis ca. 700 ms (offene Kreise), entsprechend einem unregelmäßigen Aktionspotentialmuster. Nach Applikation von 8-Bromo-cAMP steigt der prozentuale Maximalwert auf 26,3% bei 41 ms bei einer Reduktion der Streuung der Interspike Intervall Zeiten (geschlossene Kreise), entsprechend einem regelmäßigeren Aktionspotentialmuster. **F:** Änderung der prozentualen Maximalwerte der relativen Interspike-Intervallzeiten von $15,92\% \pm 3,88\%$ (Balkengrafik ohne Muster) auf $23,45\% \pm 5,52\%$ nach Applikation von 8-Bromo-cAMP (Balkengrafik mit Muster, $p < 0,05$). Daten aus Messungen von fünf Neuronen.

In der Population der untersuchten A-Typ Neurone ($n = 5$) lagen unter Kontrollbedingungen lediglich $15,92\% \pm 3,88\%$ der Aktionspotentialintervalle im Bereich des Mittelwertes, während nach Applikation von 8-Bromo-cAMP $23,45\% \pm 5,52\%$ der Intervalle dem Mittelwert entsprachen (Abbildung 8 F, $p < 0,05$). Dieses Ergebnis zeigt den Übergang von unregelmäßigen zu regelmäßigen Aktionspotentialfolgen unter der Wirkung von 8-Bromo-cAMP.

3.3 Pharmakologische Manipulation von intrazellulärer cAMP-Konzentration und Proteinkinase A-Aktivität: Einfluss auf das AHP

Die Änderungen der Aktionspotentialmuster von R- und A-Typ Neuronen unter der Wirkung von rp-cAMPs und 8-Bromo-cAMP waren mit charakteristischen Änderungen der AHP-Form verbunden (Abbildung 9). In Abbildung 9 A ist das AHP in einem R-Typ Neuron in höherer zeitlicher Auflösung dargestellt. Unter Kontrollbedingungen wurde das AHP durch eine schnelle Komponente bestimmt, während nach Applikation von rp-cAMPs ($100 \mu\text{M}$) eine langsame Komponente hinzukam. In A-Typ-Neuronen traten schnelle und langsame Zeitkonstanten des AHP unter Kontrollbedingungen auf, und die Applikation von 8-Bromo-cAMP (1 mM) bewirkte eine Reduktion der langsamen Komponente (Abbildung 9 B).

Zur Analyse dieser Effekte wurden die Zeitverläufe des AHP durch eine doppelte Exponentialfunktion (siehe Formel 3) angenähert. Das AHP wurde durch zwei Zeitkon-

stanten beschrieben. In R-Typ Neuronen ($n = 5$) trugen schnelle ($\tau_1 = 0,17 \pm 0,75$) und langsame Zeitkonstante ($\tau_2 = 1,70 \pm 0,76$) mit der jeweiligen Amplitude entsprechend zu $59,49\% \pm 1,3\%$ und $40,41\% \pm 0,69\%$ zum AHP bei (Abbildung 9 C).

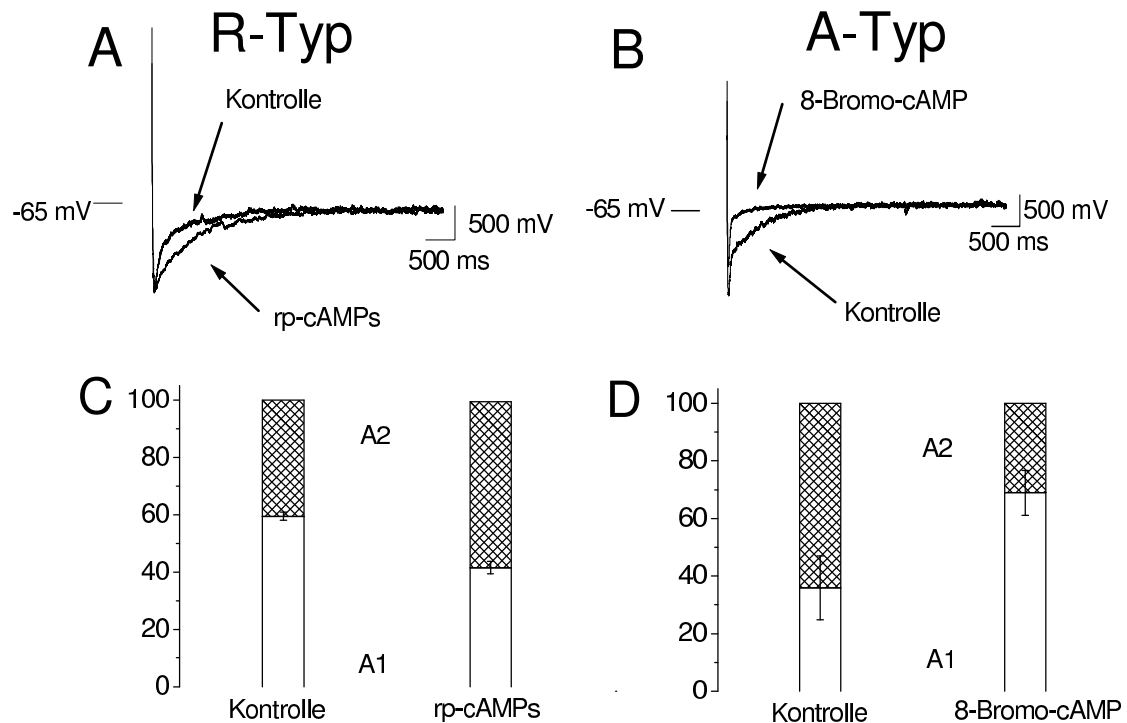


Abbildung 9: Einfluss von 8-Bromo-cAMP und rp-cAMPs auf das AHP. **A:** Der Zeitverlauf des AHP eines R-Typ Neurons zeigt eine schnelle und eine langsame Komponente. Unter dem Einfluss von rp-cAMPs wird die langsame Komponente verstärkt. **B:** Bei dem dargestellten A-Typ Neuron dominiert die langsame Komponente der Nachhyperpolarisation. Die Applikation von 8-Bromo-cAMP verstärkt die schnelle Komponente. **C:** Die Zeitverläufe der Nachhyperpolarisation wurden mit einer doppelt-exponentiellen Funktion beschrieben, der relative Anteil der ersten (A1) und zweiten Komponente (A2) wurden unter den verschiedenen Bedingungen ermittelt. Dabei beträgt bei R-Typ Neuronen der Anteil der langsamen Komponente A2 $40,41 \pm 0,69\%$. Die Applikation von rp-cAMPs führt zu einer Erhöhung von A2 auf $57,84\% \pm 1,65\%$ ($n = 5$, $p < 0,05$). **D:** Bei A-Typ Neuronen dominiert unter Kontrollbedingungen die langsame zeitliche Komponente des AHP (A2) mit $64,10\% \pm 11,10\%$. Die Applikation von 8-Bromo-cAMP ($n = 5$, $p < 0,05$) führt zu einer Verringerung von A2 auf $31,14\% \pm 7,81\%$.

Nach Applikation von rp-cAMPs erhöhte sich der Anteil der langsamen Komponente auf $57,84\% \pm 1,65\%$. τ_1 verringerte sich auf $0,15s \pm 0,73s$, τ_2 erhöhte sich auf $2,97s \pm$

1,22s . In A-Typ-Neuronen ($n = 5$) dagegen dominierte die langsame Komponente das AHP zu $64,10\% \pm 11,10\%$ im Vergleich zu $35,90\% \pm 11,01\%$ der schnellen Komponente unter Kontrollbedingungen (Abbildung 9 D). Unter der Wirkung von 8-Bromo-cAMP war der Anteil der langsamen Komponente auf $31,14\% \pm 7,81\%$ reduziert. Die schnelle Zeitkonstante τ_1 lag unter Kontrollbedingungen bei $0,18s \pm 0,60s$ und verringerte sich nach Applikation von 8-Bromo-cAMPs auf $0,14s \pm 0,75s$. Die langsame Zeitkonstante τ_2 lag bei $5,11s \pm 0,22s$ und veränderte sich auf $1,60s \pm 0,75s$.

3.4 R-Typ und A-Typ Neurone – oszillierende und nicht-oszillierende Eigenschaften

Oszillierendes Verhalten des Membranpotentials ist in Projektionsneuronen der lateralen Kerngruppe der Amygdala in verschiedenen Säugetierspezies *in vivo* und *in vitro* beschrieben worden (Paré et al., 1995; Pape und Driesang, 1998; Pape et al., 1998). Die Oszillationen treten in Bereichen nahe und positiv der Schwelle zur Generierung von Na^+/K^+ -vermittelten Aktionspotentialen auf und wurden entsprechend als “*low threshold oscillation*” (LTO) und “*high threshold oscillation*” (HTO) bezeichnet (Pape et al., 1998). Für die Generierung von Aktionspotentialmustern sind vorwiegend die HTOs von Bedeutung, so dass diese in der vorliegenden Arbeit näher untersucht wurden. Die HTOs wurden durch die Injektion von depolarisierenden, rampenförmigen Stromreizen (90 pA/Sekunde) ausgelöst, die bei Werten des Ruhemembranpotentials appliziert wurden. Die Amplitude der Stromrampe wurde so gewählt, dass maximale Depolarisationen bis -25 mV erreicht wurden.

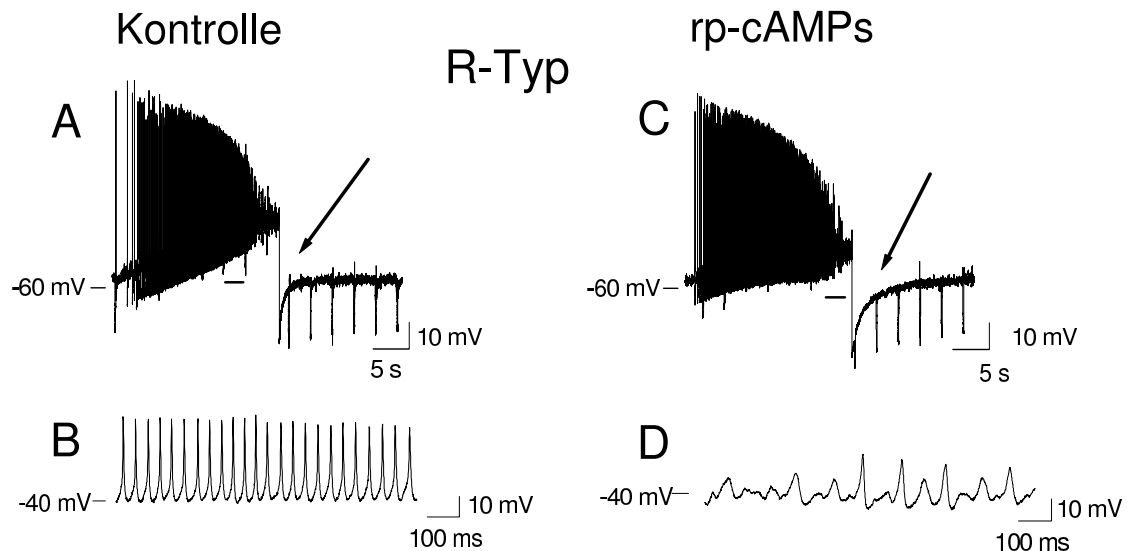


Abbildung 10: Hochschwellige Oszillationen eines R-Typ Neurons während einer rampenförmigen Depolarisation. **A:** Bei der Depolarisation eines R-Typ Neurons mit einem rampenförmig ansteigenden Strompuls (Anstieg 90 pA/s) treten im Bereich von -55 mV die ersten Aktionspotentiale auf. Die Zahlen bezeichnen das vorherrschende Membranpotential. Während des ansteigenden rampenförmigen Membranstroms wurden in einem Abstand von 5 Sekunden hyperpolarisierende Konstantströme zur Überwachung der Brückenbalance appliziert (-0,3 nA, 300 ms). Nach dem Abschalten des Membranstroms tritt eine Nachhyperpolarisation auf (Pfeil in A). Der markierte Abschnitt in A ist in höherer zeitlicher Auflösung in B gezeigt. **B:** Bei weiterer Depolarisation werden bei einem Membranpotential von ca. -40 mV stabile Oszillationen in einem zeitlichen Abstand von ca. 60 ms und mit einer Amplitude von ca. 40 mV sichtbar. Die Zahl bezeichnet das momentane Membranpotential. **C, D:** Nach der Applikation von rp-cAMPs entlädt das Neuron bei ca. -55 mV erste Aktionspotentiale. Im Verlauf der rampenförmigen Depolarisation verringert sich die Amplitude der Aktionspotentiale mit zunehmender Depolarisation, stabile Oszillationen treten nicht auf. Die nach Abschalten des Membranstroms auftretende Nachhyperpolarisation hat einen längeren zeitlichen Verlauf (Pfeil in C). Der markierte Abschnitt in C ist in zeitlich höherer Auflösung in D gezeigt.

Bei den untersuchten R-Typ Neuronen ($n = 5$) löste die Strominjektion im Membranpotentialbereich um -42 mV bis -38 mV stabile Oszillationen aus, die in Form rhythmischer Deflektionen des Membranpotentials mit Amplituden um 25 bis 40 mV auftraten, ähnlich den zuvor beschriebenen HTOs (Pape et al., 1998). In einem Membranpotentialbereich positiv von ca. -35 mV wurden die Oszillationen in ihrer Amplitude geringer und zunehmend instabil. Ein Beispiel ist in Abbildung 10 A dargestellt. Nach Abschalten des depolarisierenden Stroms trat ein AHP mit kurzem zeitlichen Verlauf auf (Pfeil in Abbildung 10 A).

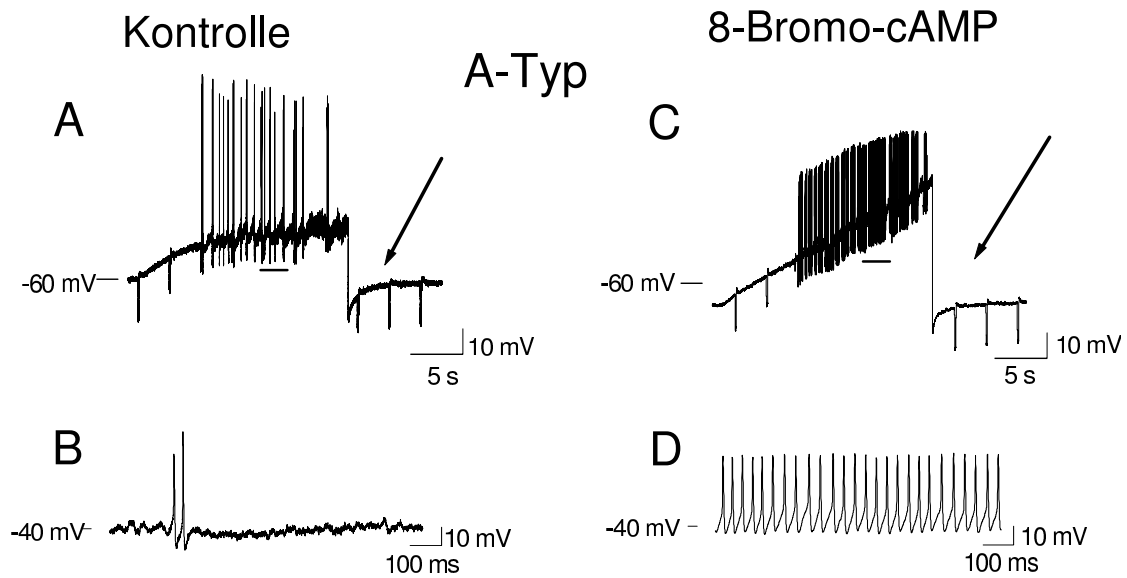


Abbildung 11: Hochschwellige Oszillationen eines A-Typ Neurons während einer rampenförmigen Strominjektion. **A:** Bei rampenförmiger Depolarisation (Anstieg 90 pA/s) werden Aktionspotentiale bei -51 mV ausgelöst. Bei zunehmender Strominjektion ist die Änderung des Membranpotentials gering. Nach Abschalten des Membranstroms tritt eine Nachhyperpolarisation auf (Pfeil in A). Zahlen bezeichnen das vorherrschende Membranpotential. Der markierte Abschnitt in Abbildung A ist in zeitlich höherer Auflösung in Abbildung B dargestellt. Während der Applikation des Membranstroms wurden hyperpolarisierende Konstantströme (-0,3 nA, 300 ms) zur Überwachung der Brückenbalance appliziert. **B:** Stabile Oszillationen treten trotz anhaltender Strominjektion nicht auf. Die Zahl bezeichnet das Membranpotential. **C, D** Nach der Applikation von 8-Bromo-cAMP folgt die Änderung des Membranpotentials proportional zum injizierten Strom. Ab einem Membranpotential von ca. -50 mV entladen sich Aktionspotentiale mit regelmäßigem zeitlichen Abstand. Die nach Abschalten des Membranstroms auftretende Hyperpolarisation hat einen kürzeren zeitlichen Verlauf (Pfeil in C). Bei ca. -40 mV sind hochschwellige Oszillationen mit einem zeitlichen Abstand von ca. 60 ms und einer Amplitude von ca. 35 mV erkennbar. Die Markierung in C ist in höherer zeitlicher Auflösung in D dargestellt.

In A-Typ Neuronen traten keine Oszillationen im vergleichbaren Membranpotentialbereich auf ($n = 5$, siehe Abbildung 11 B). Auffällig war weiterhin der flache Verlauf der Membranpotentialänderung bei Injektion der rampenförmigen depolarisierenden Stromreize und das AHP mit langsamem Zeitverlauf (Pfeil in Abbildung 11 A). Entsprechend wurden die Neuronentypen im folgenden als oszillierende und nicht-oszillierende Neurone bezeichnet. Dabei bestand eine strikte Korrelation von Aktionspotentialmuster, zeitlichem Verlauf des AHP und oszillatorischen Eigenschaften. Aus-

schließlich R-Typ Neurone zeigten HTOs, während in A-Typ Neuronen keine hochschwellige Oszillationen ausgelöst werden konnten. Oszillierende Neurone mit Frequenzakkommodation oder nicht-oszillierende Neurone ohne Frequenzakkommodation wurden nicht gefunden.

Diese strikte Korrelation neuronaler Eigenschaften wurde durch die Beobachtung unterstützt, dass nicht-oszillierende Neurone nach Ende der depolarisierenden Strominjektion ein AHP mit langsamem Zeitverlauf generierten, während die langsame Komponente des AHP in den oszillierenden Neuronen gering ausgeprägt war (Pfeile in Abbildung 10 A und Abbildung 11 A). Im nächsten experimentellen Schritt wurde demzufolge die Wirkung von 8-Bromo-cAMP und rp-cAMPs auf nicht-oszillierende und oszillierende Neurone getestet.

3.5 Oszillierende Neurone und nicht-oszillierende Neurone – Effekte von rp-cAMPs und 8-Bromo-cAMP

Die Applikation von rp-cAMPs (100 μ M) auf R-Typ Neurone verhinderte stabile hochschwellige Oszillationen. (Abbildung 10 C). Ferner kam es zu einem verlängerten zeitlichen Verlauf des AHP (Pfeil in Abbildung 10 C). Zur Beschreibung des Verlaufs des Membranpotentials in Bezug auf die Amplitude des injizierten Membranstroms wurde die Änderung des Membranpotentials auf Höhe des injizierten Membranstroms gesetzt (relativer Membranstrom, siehe Abbildung 12 A). Dabei ergab sich in R-Typ Neuronen unter Kontrollbedingungen ein nahezu ohmscher, d. h. linearer Bezug zwischen Membranpotentialänderung und Membranstrom. Nach der Applikation von rp-cAMPs war die Beziehung in Richtung Auswärtsgleichrichtung verändert (Abbildung 12 A).

Die Applikation von 8-Bromo-cAMP (1 mM) bei A-Typ Neuronen förderte die Ausbildung von Oszillationen (Abbildung 11 D) und verringerte die auswärtsgleichrichtenden Eigenschaften. Damit einher ging ein verlängerter zeitlicher Verlauf des AHP (Pfeil in Abbildung 11 C). Der unter Kontrollbedingungen deutlich auswärtsgleichrichtende relative Membranstrom verringert sich nach Applikation von 8-Bromo-cAMP (Abbildung 12 B).

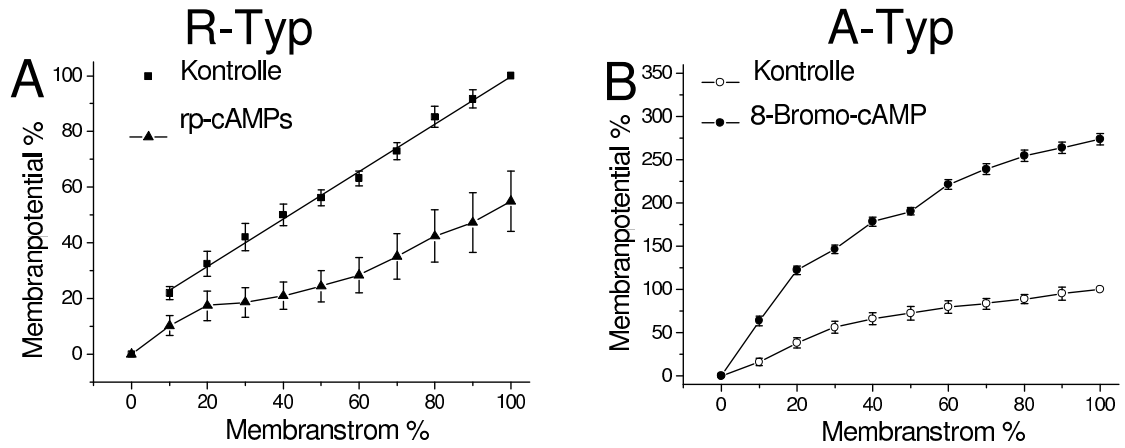


Abbildung 12: Relative Membranpotentialänderungen bei Injektion depolarisierender Rampen von R-Typ Neuronen (**A**, $n = 5$) und A-Typ Neuronen (**B**, $n = 5$). Zu Beachten ist die geringe Auswärtsgleichrichtung bei R-Typ Neuronen (**A**) und die deutliche Auswärtsgleichrichtung in A-Typ Neuronen (**B**). Unter Wirkung von rp-cAMPs ist die Auswärtsgleichrichtung verstärkt (**A**), unter der Wirkung von 8-Bromo-cAMP ist sie verringert (**B**).

4 Diskussion

4.1 Überblick über mögliche technische und biologische Fehlerquellen

Mehrere biologische und technische Fehlerquellen müssen bei der Interpretation der Ergebnisse berücksichtigt werden.

Die verwendeten Elektrolytlösungen entsprechen nur annähernd der *in vivo* vorhandenen Ionenverteilung zwischen intra- und extrazellulärem Kompartiment. Somit könnte es sich bei den hochschwelligen Oszillationen um Phänomene handeln, die *in vitro* aufgrund der verwendeten Elektrolytlösungen entstehen. Andererseits wurden hochschwellige Oszillationen auch in der lateralen Amygdala *in vivo* mit Hilfe intrazellulärer Techniken registriert (Paré und Gaudreau, 1996).

Eine weitere Einschränkung liegt in der Verwendung von Hirnschnitten, in denen das synaptische Netzwerk nur zum Teil erhalten bleibt. Die Extrapolation der am Hirnschnitt gewonnenen Erkenntnisse auf das intakte Hirn ist ohne weitergehende Untersuchungen *in vivo* nicht möglich. Dieses wurde durch eigene analysierte Studien angedeutet, in denen amygdaläre Schnittpräparate in unterschiedlichen Phasen des Schlaf/Wachrhythmus der Versuchstiere angefertigt wurden.

Während die Anzahl von A-Typ Neuronen an der Gesamtpopulation der untersuchten Neuronen bei der Verwendung von Schnitten aus der inaktiven Phase der Versuchstiere bei ca. 89% lag, betrug diese Zahl bei Verwendung von Schnitten aus der aktiven Phase der Versuchstiere ca. 13%, der Anteil der R-Typ Neurone an der Gesamtpopulation betrug damit 87%. Tatsächlich scheint der Zeitpunkt der Anfertigung des Hirnschnittes entscheidenden Einfluss auf Aktionspotentialmuster und oszillatorische Fähigkeiten zu besitzen. Auch die verwendete Methode beeinflusst die Untersuchungen, so konnten Faber et al. (2001) bei einer Studie mit der *whole-cell patch clamp* Methode keine hochschwelligen Oszillationen in der Amygdala darstellen. Als Ursache dafür wurde ein Austausch des zellinneren Kompartiments und des Elektrolyts der in der *patch clamp*-Technik verwendeten Elektrode beschrieben (Sakmann und Neher, 1984).

4.2 Diskussion der Ergebnisse in Hinblick auf die Fragestellungen und andere Arbeiten

Das übergeordnete Ziel dieser Arbeit galt dem Zusammenhang zwischen akkomodierenden und regelmäßigen Aktionspotentialmustern und deren Beziehung zum Auftre-

ten von hochschwelligem Oszillationen des Membranpotentials. Als Bindeglied zwischen Aktionspotentialmustern einerseits und Oszillationen des Membranpotentials andererseits wurde die zeitliche Dauer der Nachhyperpolarisation vermutet. Dabei wurde eine langdauernde Nachhyperpolarisation mit einem akkomodierenden Aktionspotentialmuster und der Unterdrückung von hochschwelligem Oszillationen in Zusammenhang gebracht, während eine kurz andauernde Nachhyperpolarisation ein regelmäßig aktives Aktionspotentialmuster und das Auftreten von hochschwelligem Oszillationen ermöglicht. Im folgenden werden die aus den Resultaten dieser Arbeit ableitbaren Antworten vorgestellt und im Vergleich relevanter Ergebnisse anderer Arbeiten diskutiert.

A-Typ und R-Typ Projektionsneurone sind Repräsentanten getrennter Neuronenpopulationen und repräsentieren Endpunkte eines Kontinuums neuronaler Eigenschaften.

Bei der untersuchten Zellpopulation waren mit Hilfe der Biocytinfärbung keine eindeutigen morphologischen Unterschiede feststellbar. Die Mehrzahl sowohl der R-Typ als auch der A-Typ Neurone besaß Somata von pyramidaler Form und Dendriten mit Dornfortsätzen. Dies passt zu den Ergebnissen von Faber et al. (2001). In dieser Arbeit konnten anhand von Dendritenrekonstruktionen keine konsistenten morphologischen Unterschiede in Projektionsneuronen gefunden werden. In älteren Arbeiten (Rainnie et al., 1993; Womble und Moises, 1993a) allerdings werden die Projektionsneurone noch als morphologisch unterschiedlich klassifiziert. Faber et al. (2001) machen dafür die ungeordnete Lage der Neurone innerhalb der Amygdala verantwortlich. Die Morphologie von Neuronen, die nicht plan zur Schnittebene liegen ist somit schwer zu beurteilen. Ferner zeigte ein Teil der untersuchten Neurone Aktionspotentialmuster, die nicht eindeutig den R-Typ oder A-Typ Neuronen zuzuordnen waren ($n = 5$, Daten nicht gezeigt). Aktionspotentialmuster und Dauer von τ_{AHP} lagen bei diesen Neuronen zwischen R-Typ und A-Typ Neuronen. Auch hier war ein eher anhaltend aktives Aktionspotentialmuster mit einer kurzen Dauer von τ_{AHP} kombiniert, während Neurone, die vom Aktionspotentialmuster eher den A-Typ Neuronen ähnlich waren eine lange Dauer von τ_{AHP} aufwiesen. Morphologisch war zwischen diesen Neuronen und eindeutig dem R-Typ und A-Typ Neuronen zuzuordnenden Zellen kein Unterschied feststellbar. In der Population der untersuchten R-Typ Neurone bewirkte die Applikation von r-cAMPs einen Übergang der regelmäßigen Aktionspotentialmuster in ein unregelmäßiges, den A-Typ Neuronen ähnliches Aktionspotentialmuster. Umgekehrt wurde unter

Wirkung von 8-Bromo-cAMP in A-Typ Neuronen ein regelmäßiges Aktionspotentialmuster, ähnlich dem der R-Typ Neurone, beobachtet. Demzufolge scheint die Folgerung zulässig, dass die untersuchten Neuronentypen keine getrennten Neuronenpopulationen repräsentieren, sondern Endpunkte eines Kontinuums neuronaler Eigenschaften darstellen. Neuere Arbeiten von Faber und Sah (2002) bestätigen diese Folgerung, in dem gezeigt werden konnte, dass individuelle Projektionsneurone der lateralen Amygdala unterschiedliche Aktionspotentialmuster generieren können. Dabei ist der Übergang von akkomodierenden zu regelmäßigen Aktionspotentialmustern mit der Form des sAHP korreliert, das wiederum durch das intrazelluläre cAMP System moduliert wird (Faber und Sah, 2002; Ergebnisse dieser Arbeit, siehe unten). Ergebnisse aus anderen Kerngruppen des Gehirns unterstützen diese Hypothese: es ist bekannt, dass im Hippocampus (Madison et al., 1987) das Aktionspotentialmuster (d. h. akkomodierend versus regelmäßig aktiv) durch die zeitliche Dauer der Nachhyperpolarisation bestimmt wird. Dabei liegt dem unterschiedlichen Verlauf des AHP ein veränderter I_{sAHP} zugrunde (Übersicht in Sah, 1996).

Aktionspotentialmuster, langsame Nachhyperpolarisation und hochschwellige Oszillationen des Membranpotentials sind miteinander korreliert und werden durch das cAMP System kontrolliert.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigen den folgenden Zusammenhang von elektrogenen Eigenschaften in individuellen Projektionsneuronen der LA:

1. regelmäßige Aktionspotentialmuster, fehlendes oder gering ausgeprägtes sAHP, gering ausgeprägte Auswärtsgleichrichtung in depolarisierender Richtung, Existenz von hochschwelligen Oszillationen.
2. starke Frequenzakkomodation der Aktionspotentiale, stark ausgeprägtes sAHP, Auswärtsgleichrichtung in depolarisierender Richtung, Fehlen von hochschwelligen Oszillationen. Mischformen, das heißt die Verknüpfung von langer Dauer des τ_{AHP} mit regelmäßig aktivem Aktionspotentialmuster oder kurze Dauer des τ_{AHP} und akkomodierendes Aktionspotentialmuster, wurden dabei nicht beobachtet.

Aus vorangegangenen Arbeiten ist bekannt, dass die hochschwelligen Oszillationen durch die Wechselwirkung hochschwellig aktivierter spannungsabhängiger Ca^{2+} -Kanäle

mit Ca^{2+} ($\text{BK}_{\text{Ca}^{2+}}$) und/oder spannungsabhängig aktivierten K^+ Kanälen generiert werden (Pape und Driesang, 1998). Das sAHP wird durch die Aktivierung des Ca^{2+} -abhängigen K^+ -Kanals vom $\text{SK}_{\text{Ca}^{2+}}$ -Typ generiert (Pedarzani et al., 1998; Sah, 1995) und ist durch eine Insensitivität gegenüber dem Hemmstoff Apamin gekennzeichnet.

Hieraus ergibt sich das folgende Szenario der elektrogenen Mechanismen im depolarisierten Membranbereich der LA Projektionsneurone (Abbildung 13):

1. Bei fehlender Aktivierbarkeit der $\text{SK}_{\text{Ca}^{2+}}$ -Kanäle (z.B. aufgrund einer hohen intrazellulären cAMP Konzentration; siehe unten) führt die anhaltende Depolarisation der Membran zu regelmäßigen Aktionspotentialmustern, die aufgrund der geringen auswärtsgerichtenden Eigenschaften der Zellmembran die Schwelle für die hochschwelligen Oszillationen erreichen kann.
2. Die Aktivierbarkeit der $\text{SK}_{\text{Ca}^{2+}}$ Kanäle (z.B. aufgrund einer niedrigen intrazellulären cAMP Konzentration) hat zwei wichtige Konsequenzen: zum einen führt der Einwärtsstrom von Ca^{2+} mit wachsender Anzahl von Aktionspotentialen zu einer vermehrten Aktivierung der $\text{SK}_{\text{Ca}^{2+}}$ -Kanäle, und der entsprechend anwachsende K^+ -Strom limitiert die Aktionspotentiale (messbar in Form der Frequenzakkommodation); zum anderen bewirkt der wachsende K^+ -Strom die zunehmende Auswärtsgleichrichtung und verhindert damit das Erreichen der Schwelle zur Auslösung der HTOs. Demzufolge kommt den $\text{SK}_{\text{Ca}^{2+}}$ -Kanälen eine wichtige Rolle auch in der Kontrolle der hochschwelligen Oszillationen zu. Diese Hypothese wird durch die Beobachtung unterstützt, dass 8-Bromo-cAMP und rp-cAMPs (die entsprechend das sAHP unterdrücken und fördern) die Generierung von HTOs entsprechend fördern oder unterdrücken.

Bisher sind in Wirbeltieren drei verschiedene $\text{SK}_{\text{Ca}^{2+}}$ -Kanäle bekannt, die als SK1, SK2 und SK3 bezeichnet werden. SK-Kanäle sind in ihrer molekularen Struktur durch sechs Transmembrandomänen und eine kovalente Bindung an das kaliumbindende Protein Calmodulin gekennzeichnet. Bindet Kalzium an das Calmodulin, führt eine Änderung der Konformation zu einer Öffnung der Kanäle und damit zu einem Ausstrom von Kaliumionen entsprechend dem Konzentrationsgradienten (Keen et al., 1999; Schumacher et al., 2001). Vor allem aufgrund der geringen Apaminsensitivität wurde SK1 als molekulares Substrat von I_{sAHP} beschrieben (Vegara et al., 1998).

Allerdings ist dieser Zusammenhang in jüngeren Untersuchungen stark angezweifelt worden (Faber und Sah, 2002). So konnten Stocker und Pedarzani (2000) keine SK1-Kanäle in der lateralen Kerngruppe der Amygdala nachweisen. In SK1 defizienten

Mäusen konnte keine Änderung des I_{sAHP} gefunden werden (Bond et al., 2004). Außerdem zeigen klonierte SK1-Kanäle abhängig vom Expressionssystem eine Apaminsensitivität (Shah und Haylett, 2000a,b). Möglicherweise ist für I_{sAHP} ein bisher unbekannter Kanaltyp verantwortlich. Abschließend soll festgehalten werden, dass die hier diskutierte Kontrollfunktion der $SK_{Ca^{2+}}$ -Kanäle auf I_{sAHP} nicht mit derjenigen der $BK_{Ca^{2+}}$ -Kanäle verwechselt werden sollte, die in direkter Weise an der Generierung der HTOs beteiligt sind (Pape und Driesang, 1998).

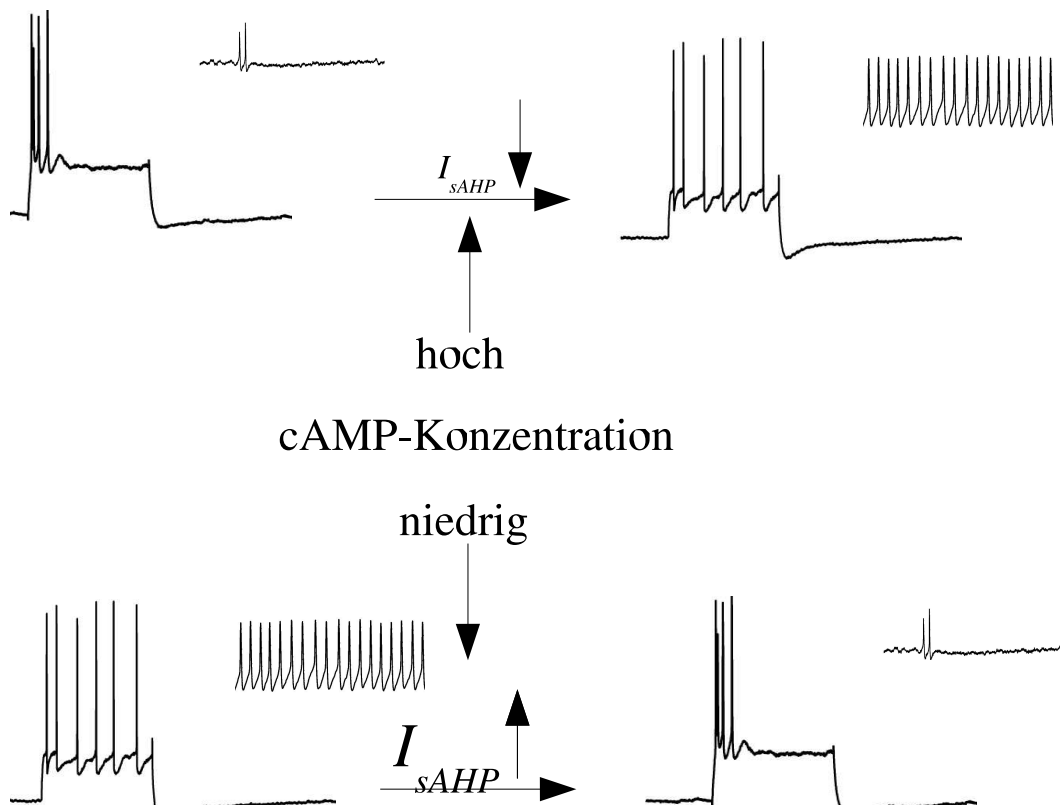


Abbildung 13: Übersicht über das Aktionspotentialmuster und oszillatorische Aktivitäten bei Änderung des I_{sAHP} . Eine Erhöhung der intrazellulären cAMP-Konzentration über die Applikation von 8-Bromo-cAMP führt zu einer Inaktivierung von I_{sAHP} . Dies verändert das Aktionspotentialmuster von akkomodierend in regelmäßig aktiv und führt zum Auftreten von hochschwelliger Oszillationen. Gegenätzlich führt die Erniedrigung der intrazellulären cAMP-Konzentration durch rp-cAMPs zu einem Anstieg von I_{sAHP} , dies hat ein akkomodierendes Aktionspotentialmuster und das Erlöschen hochschwelliger Oszillationen zur Folge.

Das intrazelluläre cAMP/Proteinkinase A System spielt eine wichtige Rolle für die Kontrolle dieser Eigenschaften.

Die Veränderung der intrazellulären cAMP-Konzentration stellt einen effektiven Weg dar, um Aktionspotentialmuster und oszillatorische Aktivität von LA Projektionsneuronen zu beeinflussen. Aus den hier beschriebenen Versuchen ergibt sich folgendes Szenario:

1. Erhöhung der intrazellulären cAMP-Konzentration mittels 8-Bromo-cAMP: Abnahme von τ_{AHP} über Deaktivierung von I_{sAHP} , regelmäßiges Aktionspotentialmuster, hochschwellige Oszillationen vorhanden.
2. Blockierung der Proteinkinase A mit Hilfe von rp-cAMPs: Erhöhung von τ_{AHP} über Aktivierung von I_{sAHP} , akkomodierendes Aktionspotentialmuster, Fehlen von hochschwelligen Oszillationen.

Die Erhöhung der intrazellulären cAMP-Konzentration wird über verschiedene Neurotransmitter, die zugehörigen Rezeptoren und nachgeschaltete Signalkaskaden ("second messenger"-Systeme) gesteuert. Bei noradrenergen Rezeptoren beispielsweise kommt durch Bindung des Transmitter an β -Noradrenalin-Rezeptoren über ein G-Protein gekoppelten Rezeptor zu einer Stimulation der Adenylatcyclase. Die Adenylatcyclase erhöht die intrazelluläre cAMP-Konzentration und führt damit durch eine Aktivierung der Proteinkinase A zu einer Inaktivierung des Kanals, der den I_{sAHP} generiert (Übersicht in Nicoll et al., 1990). Die zelluläre Konsequenz dieser Inaktivierung ist das Auftreten von regelmäßigen Aktionspotentialmustern und die Generierung von Oszillationen. Auch muskarinische und β -adrenerge Rezeptoren führen über zum Teil noch unbekannte Signalkaskaden zu einer Erhöhung der intrazellulären cAMP-Konzentration (Faber und Sah, 2002), mit entsprechenden funktionellen Konsequenzen für Aktionspotentialmuster und oszillatorische Aktivität. Systemneurobiologisch fällt auf, dass diese Transmittersysteme Teile des aufsteigenden retikulären aktivierenden Systems (ARAS) sind. Als ARAS werden im Mittelhirn lokalisierte Anteile der *Formatio reticularis* zusammengefasst, die vor allem über intralaminäre Kerne des Thalamus den Kortex aktivieren können. Besonders akustische Reize und Schmerzreize führen zur Aktivierung des ARAS und damit einhergehend zum Anstieg von Noradrenalin, Serotonin und Azetylcholin. Dies bewirkt einen Anstieg der intrazellulären cAMP-Konzentration (Pedarzani und Storm, 1996; Krause und Pedarzani, 2000; Faber und Sah, 2002), mit den oben beschriebenen Konsequenzen. Synaptische Eingänge, die in der Frequenz der

hochschwelligen Oszillationen einwirken, führen damit zu einer rhythmischen Aktionspotentialaktivität der Projektionsneurone. Die zellulären Eigenschaften der amygdalären Projektionsneurone bedeuten also eine bevorzugte Aktionspotentialaktivität in einem Frequenzbereich von 2-9 Hz, diese Selektivität führt zur Entstehung von im selben Frequenzband aktiven Neuronengruppen (*“assemblies”*), die wiederum den Aktivitätszustand des Hirns bestimmen können (Steriade und McCarley, 1990; Pape und Driesang, 1998; Pape et al., 1998). Verschiedene Aktivitätszustände des Gehirns sind bei elektroenzephalografischen Messungen mit dem Auftreten von Oszillationen von jeweils charakteristischer Frequenz verknüpft. Die für das temporolimbische System typischen Oszillationen in einem Frequenzband von 4-14 Hz werden als Φ -Oszillationen bezeichnet. Auffällig ist dabei die Überschneidung der Frequenzbereiche von Φ -Oszillationen und intrinsischen Oszillationen der Projektionsneuronen. Tatsächlich sind Φ -Oszillationen bei Konsolidierung und Zugriff auf das Furchtgedächtnis von Bedeutung: Simultane extrazelluläre Messungen der elektrischen Aktivität in Hippocampus (Area CA1) und lateralen Kerngruppe der Amygdala bei angstkonditionierter Mäusen *in vivo* ergaben eine signifikante Synchronisation der rhythmischen Aktivität im Φ -Frequenzband dieser beiden Kerngebiete während der *“freezing”*-Reaktion bei Präsentation des CS (Seidenbecher et al., 2003).

Klinische Aussichten

Eine besondere Bedeutung der Amygdala liegt in ihrer Beteiligung bei der Entwicklung einer posttraumatischen Belastungsstörung (*“posttraumatic stress disorder”*, PTSD). Dabei handelt es sich um eine Störung der emotionalen Verarbeitung, die im Zusammenhang mit extremen psychischen Belastungen (z. B. Kriegserlebnisse) auftritt. Die Kardinalsymptome bei PTSD umfassen Wiederholungssphänomene (*“flashbacks”*, diese können spontan oder durch externe Stimuli ausgelöst werden), eine Übererregbarkeit, beispielsweise eine inadäquate Schreckreaktion, und Vermeidungsverhalten, wie das Umgehen von Situationen, die an das zugrundeliegende Trauma erinnern (Ehlert et al., 1999). Der Grad der psychischen Traumatisierung hängt auch von der psychischen Disposition des Individuums ab und von seiner Fähigkeit, das Erlebte über die Zeit hinweg integrieren zu können. Im Rahmen von Stressreaktionen werden monoaminerge Transmitter freigesetzt. Zusätzlich kommt es zu einer Aktivierung der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse (Ehlert et al., 2001). Dies führt unter anderem zu einer Verminderung der Schmerz Wahrnehmung, zu einer gesteigerten Erregbarkeit (*“hyperarousal”*) und einer erhöhten Schreckhaftigkeit. Bei der posttraumatischen Belas-

tungsreaktion wird diese eigentlich physiologische Stressverarbeitung dysfunktional. Dabei konnte man verschiedenen vorherrschenden Störungen des Verhaltens entsprechende Verschiebungen im Transmittergleichgewicht zuordnen. So ist die für das PTSD typische *hyperarousal* mit einer adrenergen Dysfunktion verbunden (O'Donnell et al., 2004). Die für das PTSD typische Betäubungs- und Erstarrungsgefühle werden mit pathologisch erhöhten Opioidkonzentrationen in Verbindung gebracht (van der Kolk et al., 1989).

Verschiedene Arbeitsgruppen haben eine Beteiligung der Amygdala an dieser Erkrankung untersucht. Insbesondere funktionelle magnetresonanztomografische ("*functional magnetic resonance imaging*", fMRI) und positronemissionstomographische (PET) Untersuchungen ergaben neue Hinweise auf die Pathogenese der posttraumatischen Belastungsstörung. Bei beiden Methoden wird der Blutfluß in bestimmten Hirnregionen gemessen (bei der PET mittels entsprechenden Markern, bei fMRI über Signaländerungen bei der Oxygenierung des Blutes) und damit Rückschlüsse auf die Aktivität dieser Region gezogen. Ferner kommen verschiedene experimentelle Paradigmen zur Anwendung. So findet beispielsweise über Bilder oder Filme eine Exposition in eine an das Trauma erinnernde Situation statt, um Symptome zu provozieren. Eine andere Möglichkeit ist die Präsentation von stilisierten Gesichtern mit traurigem, neutralem oder fröhlichem Gesichtsausdruck. Physiologischerweise zeigt sich eine erhöhte amygdaläre Aktivität beim Anblick von einem traurigen, nicht aber bei einem neutralen oder einem fröhlichen Gesichtsausdruck (Morris et al., 1996; Breiter et al., 1996; Whalen et al., 2001). Bei PTSD-Patienten fand sich eine erhöhte Aktivität der Amygdala bei Exposition in eine an das zugrundeliegende Trauma erinnernde Situation (Liberzon et al., 1999; Shin et al., 1997). Eine weitere Untersuchung (Rauch et al., 2000) zeigte bei Patienten, die an einer posttraumatischen Belastungsstörung leiden, eine pathologisch erhöhte amygdaläre Aktivität bei der Identifikation von stilisierten Gesichtern, die einen "traurigen" Gesichtsausdruck hatten. Unter Berücksichtigung von anderen Untersuchungen (Bremner et al., 2003; Shin et al., 2001, 2004, 2005) könnte der posttraumatischen Belastungsstörung eine erhöhte amygdaläre Aktivität mit gleichzeitiger Suppression des anterioren Gyrus cingulatus und Teile des Hippocampus zugrunde liegen (Übersicht in Rauch und Shin, 1997 und Rauch et al., 2003). Die in der vorliegenden Arbeit vorgestellten Mechanismen zur Regulation des Aktionspotentialmusters und von hochschwelligeren Oszillationen könnten über pharmakologische Manipulation von I_{sAHP} und damit der amygdalären Aktivität in Zukunft neue Therapieoptionen für posttraumatische Belastungsstörung ergeben.

Zusammenfassung

Für die emotionale Komponente von Verhalten, Lernen und Gedächtnis, insbesondere im Zusammenhang mit Furcht und Angst, ist die Amygdala, eine Kerngruppe im Temporallappen, von essentieller Bedeutung. Auch neurologisch-psychiatrische Erkrankungen wie beispielsweise die posttraumatische Anpassungsstörung, Schizophrenien und Temporallappenepilepsien werden mit dieser Kerngruppe in Verbindung gebracht. In dieser Arbeit wurden Projektionsneurone der lateralen Kerngruppe elektrophysiologisch mit Hilfe der Stromklemme-Methode untersucht und mit einer Biocytinfärbung morphologisch charakterisiert. Dabei war aus Voruntersuchungen bekannt, dass Projektionsneurone in der Amygdala sowohl eine nach Depolarisation rasch erlöschende Aktionspotentialaktivität zeigen (*akkomodierend, A-Typ*), aber auch über die Länge der Depolarisation regelmäßig aktiv Aktionspotentiale (*regelmäßig aktive, R-Typ*) entladen können. Ferner war bekannt, dass die Projektionsneurone rhythmische Membranpotentialschwankungen oberhalb der Aktionspotentialschwelle (*“high threshold oscillation”, HTO*) generieren, die für die Rekrutierung von Neuronenverbänden (*“assemblies”*) verantwortlich sind und wahrscheinlich zu der Entstehung und Weiterleitung von im EEG messbaren Aktivitäten im Frequenzbereich 4-14 Hz (Φ -Oszillationen) beitragen. Ziele der vorliegenden Arbeit waren die Untersuchung der Regulation des Aktionspotentialmusters und der HTOs durch die Dauer der langsamen Nachhyperpolarisation (*“slow afterhyperpolarisation”, sAHP*). Diese wird durch einen Kalzium-aktivierten Kaliumausstrom generiert. Ein *sAHP* mit langem zeitlichen Verlauf war bei A-Typ Neuronen zu finden. R-Typ Neurone hingegen zeigten ein *sAHP* mit kurzem zeitlichen Verlauf. Ferner besaßen A-Typ Neurone nicht die Fähigkeit, stabile HTOs zu bilden, R-Typ Neurone hingegen generierten stabile HTO. Morphologisch war kein Unterschied zwischen A-Typ und R-Typ Neuronen erkennbar. Aus Voruntersuchungen ist bekannt, dass der zeitliche Verlauf von *sAHP* durch eine Erhöhung der intrazellulären cAMP-Konzentration verkürzt bzw. durch eine Hemmung der Proteinkinase A (PKA) verlängert wird. Davon ausgehend wurde durch die Applikation des cAMP-Analogons 8-Bromo-cAMP auf A-Typ Neurone der zeitliche Verlauf des *sAHPs* verkürzt. Dies führte zu einem regelmäßig aktiven Aktionspotentialmuster und dem Auftreten von HTOs. Umgekehrt führte die Applikation des PKA-Hemmstoffs rp-cAMPs auf R-Typ Neurone zu einem akkomodierenden Aktionspotentialmuster und der Unterbindung von HTOs. Die Veränderung der intrazellulären cAMP-Konzentration könnte somit einen Mechanismus darstellen, der über das aufsteigende retikuläre System mittels monoaminergen Transmittern und Azetylcholin Vigilanz und Furchtkonditionierung verbindet.

Literatur

- Aggleton JP. The contribution of the amygdala to normal and abnormal emotional states. *Trends Neurosci*, 16:328–33, 1993
- Amorapanth P, LeDoux JE, und Nader K. Different lateral amygdala outputs mediate reactions and actions elicited by a fear-arousing stimulus. *Nat Neurosci*, 3:74–9, 2000
- Bauer EP, Schafe GE, und LeDoux JE. NMDA receptors and L-type voltage-gated calcium channels contribute to long-term potentiation and different components of fear memory formation in the lateral amygdala. *J Neurosci*, 22:5239–49, 2002
- Bond CT, Herson PS, Strassmaier T, Hammond R, Stackman R, Maylie J, und Adelman JP. Small conductance Ca²⁺-activated K⁺ channel knock-out mice reveal the identity of calcium-dependent afterhyperpolarization currents. *J Neurosci*, 24:5301–6, 2004
- Breiter HC, Etcoff NL, Whalen PJ, Kennedy WA, Rauch SL, Buckner RL, Strauss MM, Hyman SE, und Rosen BR. Response and habituation of the human amygdala during visual processing of facial expression. *Neuron*, 17:875–87, 1996
- Bremner JD, Vythilingam M, Vermetten E, Southwick SM, McGlashan T, Nazeer A, Khan S, Vaccarino LV, Soufer R, Garg PK, Ng CK, Staib LH, Duncan JS, und Charney DS. MRI and PET study of deficits in hippocampal structure and function in women with childhood sexual abuse and posttraumatic stress disorder. *Am J Psychiatry*, 160:924–32, 2003
- Campeau S und Davis M. Involvement of the central nucleus and basolateral complex of the amygdala in fear conditioning measured with fear-potentiated startle in rats trained concurrently with auditory and visual conditioned stimuli. *J Neurosci*, 15:2301–11, 1995
- Canteras NS und Swanson LW. Projections of the ventral subiculum to the amygdala, septum, and hypothalamus: a PHAL anterograde tract-tracing study in the rat. *J Comp Neurol*, 324:180–94, 1992
- Doron NN und Ledoux JE. Organization of projections to the lateral amygdala from auditory and visual areas of the thalamus in the rat. *J Comp Neurol*, 412:383–409, 1999
- Ehlert U, Gaab J, und Heinrichs M. Psychoneuroendocrinological contributions to the etiology of depression, posttraumatic stress disorder, and stress-related bodily dis-

- orders: the role of the hypothalamus-pituitary-adrenal axis. *Biol Psychol*, 57:141–52, 2001
- Ehlert U, Wagner D, Heinrichs M, und Heim C. Psychobiological aspects of posttraumatic stress disorder. *Nervenarzt*, 70:773–9, 1999
- Faber ES, Callister RJ, und Sah P. Morphological and electrophysiological properties of principal neurons in the rat lateral amygdala in vitro. *J Neurophysiol*, 85:714–23, 2001
- Faber ES und Sah P. Physiological role of calcium-activated potassium currents in the rat lateral amygdala. *J Neurosci*, 22:1618–28, 2002
- Faulkner B und Brown TH. Morphology and physiology of neurons in the rat perirhinal-lateral amygdala area. *J Comp Neurol*, 411:613–642, 1999
- Ferry B und McGaugh JL. Role of amygdala norepinephrine in mediating stress hormone regulation of memory storage. *Acta Pharmacol Sin*, 21:481–93, 2000
- Goosens KA und Maren S. Contextual and auditory fear conditioning are mediated by the lateral, basal, and central amygdaloid nuclei in rats. *Learn Mem*, 8:148–55, 2001
- Izquierdo I und McGaugh JL. Behavioural pharmacology and its contribution to the molecular basis of memory consolidation. *Behav Pharmacol*, 11:517–34, 2000
- Kamal AM und Toemboel T. Golgi studies on the amygdaloid nuclei of the cat. *J Hirnforsch*, 16:175–201, 1975
- Kawai T und Watanabe M. Blockade of Ca-activated K conductance by apamin in rat sympathetic neurones. *Br J Pharmacol*, 87:225–32, 1986
- Keen JE, Khawaled R, Farrens DL, Neelands T, Rivard A, Bond CT, Janowsky A, Fakler B, Adelman JP, und Maylie J. Domains responsible for constitutive and Ca(2+)-dependent interactions between calmodulin and small conductance Ca(2+)-activated potassium channels. *J Neurosci*, 19:8830–8, 1999
- Krause M und Pedarzani P. A protein phosphatase is involved in the cholinergic suppression of the Ca(2+)-activated K(+) current sI(AHP) in hippocampal pyramidal neurons. *Neuropharmacology*, 39:1274–83, 2000
- Lamp I und Yarom Y. Subthreshold oscillations of the membrane potential: a functional synchronizing and timing device. *J Neurophysiol*, 70:2181–6, 1993. Paper vorhanden

- Lamp I und Yarom Y. Subthreshold oscillations and resonant behavior: two manifestations of the same mechanism. *Neuroscience*, 78:325–41, 1997
- Lancaster B und Adams PR. Calcium-dependent current generating the afterhyperpolarization of hippocampal neurons. *J Neurophysiol*, 55:1268–82, 1986
- Lancaster B und Nicoll RA. Properties of two calcium-activated hyperpolarizations in rat hippocampal neurones. *J Physiol*, 389:187–203, 1987
- LeDoux JE. Emotion circuits in the brain. *Annu Rev Neurosci*, 23:155–84, 2000
- LeDoux JE, Farb C, und Ruggiero DA. Topographic organization of neurons in the acoustic thalamus that project to the amygdala. *J Neurosci*, 10:1043–54, 1990
- LeDoux JE, Farb CR, und Romanski LM. Overlapping projections to the amygdala and striatum from auditory processing areas of the thalamus and cortex. *Neurosci Lett*, 134:139–44, 1991
- Liberzon I, Taylor SF, Amdur R, Jung TD, Chamberlain KR, Minoshima S, Koeppe RA, und Fig LM. Brain activation in PTSD in response to trauma-related stimuli. *Biol Psychiatry*, 45:817–26, 1999
- Madison DV, Lancaster B, und Nicoll RA. Voltage clamp analysis of cholinergic action in the hippocampus. *J Neurosci*, 7:733–41, 1987
- Magee JC und Johnston D. A synaptically controlled, associative signal for Hebbian plasticity in hippocampal neurons. *Science*, 275:209–13, 1997
- Mahanty NK und Sah P. Calcium-permeable AMPA receptors mediate long-term potentiation in interneurons in the amygdala. *Nature*, 394:683–7, 1998
- Malenka RC und Nicoll RA. Long-term potentiation—a decade of progress? *Science*, 285:1870–4, 1999
- Maren S und Fanselow MS. Synaptic plasticity in the basolateral amygdala induced by hippocampal formation stimulation in vivo. *J Neurosci*, 15:7548–64, 1995
- McDonald AJ. Neuronal organisation of the lateral and basolateral amygdaloid nuclei of the rat. *J Comp Neurol*, 222:589–606, 1984
- McDonald AJ. Cortical pathways to the mammalian amygdala. *Prog Neurobiol*, 55:257–332, 1998

- McDonald AJ. Is there an amygdala and how far does it extend? An anatomical perspective. *Ann N Y Acad Sci*, 985:1–21, 2003
- McDonald AJ und Augustine JR. Localization of GABA-like immunoreactivity in the monkey amygdala. *Neuroscience*, 52:281–94, 1993
- McGaugh JL. The amygdala modulates the consolidation of memories of emotionally arousing experiences. *Annu Rev Neurosci*, 27:1–28, 2004
- Millhouse OE und DeOlmos J. Neuronal configurations in lateral and basolateral amygdala. *Neuroscience*, 10:1269–300, 1983
- Morris JS, Frith CD, Perrett DI, Rowland D, Young AW, Calder AJ, und Dolan RJ. A differential neural response in the human amygdala to fearful and happy facial expressions. *Nature*, 383:812–5, 1996
- Nader K, Majidishad P, Amorapanth P, und LeDoux JE. Damage to the lateral and central, but not other, amygdaloid nuclei prevents the acquisition of auditory fear conditioning. *Learn Mem*, 8:156–63, 2001
- Nicoll RA, Malenka RC, und Kauer JA. Functional comparison of neurotransmitter receptor subtypes in mammalian central nervous system. *Physiol Rev*, 70:513–65, 1990
- Nowak L, Bregestovski P, Ascher P, Herbet A, und Prochiantz A. Magnesium gates glutamate-activated channels in mouse central neurones. *Nature*, 307:462–5, 1984
- O'Donnell T, Hegadoren KM, und Coupland NC. Noradrenergic mechanisms in the pathophysiology of post-traumatic stress disorder. *Neuropsychobiology*, 50:273–83, 2004
- Pape HC und Driesang RB. Ionic mechanisms of intrinsic oscillations in neurons of the basolateral amygdaloid complex. *J Neurophysiol*, 79:217–26, 1998
- Pape HC, Pare D, und Driesang RB. Two types of intrinsic oscillations in neurons of the lateral and basolateral nuclei of the amygdala. *J Neurophysiol*, 79:205–16, 1998
- Paré D und Collins DR. Neuronal correlates of fear in the lateral amygdala: multiple extracellular recordings in conscious cats. *J Neurosci*, 20:2701–10, 2000
- Paré D und Gaudreau H. Projection cells and interneurons of the lateral and basolateral amygdala: distinct firing patterns and differential relation to theta and delta rhythms in conscious cats. *J Neurosci*, 16:3334–50, 1996

- Paré D, Pape HC, und Dong J. Bursting and oscillating neurons of the cat basolateral amygdaloid complex in vivo: electrophysiological properties and morphological features. *J Neurophysiol*, 74:1179–91, 1995
- Paxinos G und Watson C. *The Rat Brain*. Academic press, New York, 2. Auflage, 1986
- Pedarzani P, Krause M, Haug T, Storm JF, und Stuhmer W. Modulation of the Ca²⁺-activated K⁺ current sIAHP by a phosphatase-kinase balance under basal conditions in rat CA1 pyramidal neurons. *J Neurophysiol*, 79:3252–6, 1998
- Pedarzani P und Storm JF. PKA mediates the effects of monoamine transmitters on the K⁺ current underlying the slow spike frequency adaptation in hippocampal neurons. *Neuron*, 11:1023–35, 1993
- Pedarzani P und Storm JF. Dopamine modulates the slow Ca(2+)-activated K⁺ current IAHP via cyclic AMP-dependent protein kinase in hippocampal neurons. *J Neurophysiol*, 74:2749–53, 1995
- Pedarzani P und Storm JF. Interaction between alpha- and beta-adrenergic receptor agonists modulating the slow Ca(2+)-activated K⁺ current IAHP in hippocampal neurons. *Eur J Neurosci*, 8:2098–110, 1996
- Pennefather P, Lancaster B, Adams PR, und Nicoll RA. Two distinct Ca-dependent K currents in bullfrog sympathetic ganglion cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 82:3040–4, 1985
- Pitkänen A, Savander V, und LeDoux J. Organization of intra-amygdaloid circuitries in the rat: an emerging framework for understanding functions of the amygdala. *Trends Neurosci*, 20:517–23, 1997
- Price JL, Russchen FT, und Amaral DG. The limbic region: The amygdaloid complex. *New York: Elsevier Science*, 1987
- Rainnie DG, Asprodini EK, und Shinnick-Gallagher P. Intracellular recordings from morphologically identified neurons of the basolateral amygdala. *J Neurophysiol*, 69:1350–62, 1993
- Rauch SL und Shin LM. Functional neuroimaging studies in posttraumatic stress disorder. *Ann N Y Acad Sci*, 821:83–98, 1997
- Rauch SL, Shin LM, und Wright CI. Neuroimaging studies of amygdala function in anxiety disorders. *Ann N Y Acad Sci*, 985:389–410, 2003

- Rauch SL, Whalen PJ, Shin LM, McInerney SC, Macklin ML, Lasko NB, Orr SP, und Pitman RK. Exaggerated amygdala response to masked facial stimuli in posttraumatic stress disorder: a functional MRI study. *Biol Psychiatry*, 47:769–76, 2000
- Rosenkranz JA und Grace AA. Dopamine-mediated modulation of odour-evoked amygdala potentials during pavlovian conditioning. *Nature*, 417:282–7, 2002
- Sah P. Properties of channels mediating the apamin-insensitive afterhyperpolarization in vagal motoneurons. *J Neurophysiol*, 74:1772–6, 1995
- Sah P. Ca²⁺-activated K⁺ currents in neurones: types, physiological roles and modulation. *Trends Neurosci*, 19:150–4, 1996
- Sah P, Faber ES, Lopez De Armentia M, und Power J. The amygdaloid complex: anatomy and physiology. *Physiol Rev*, 83:803–34, 2003
- Sah P und Isaacson JS. Channels underlying the slow afterhyperpolarization in hippocampal pyramidal neurons: neurotransmitters modulate the open probability. *Neuron*, 15:435–41, 1995
- Sah P und McLachlan EM. Potassium currents contributing to action potential repolarization and the afterhyperpolarization in rat vagal motoneurons. *J Neurophysiol*, 68:1834–41, 1992
- Sakmann B und Neher E. Patch clamp techniques for studying ionic channels in excitable membranes. *Annu Rev Physiol*, 46:455–72, 1984
- Schumacher MA, Rivard AF, Bachinger HP, und Adelman JP. Structure of the gating domain of a Ca²⁺-activated K⁺ channel complexed with Ca²⁺/calmodulin. *Nature*, 410:1120–4, 2001
- Schwindt PC, Spain WJ, Foehring RC, Chubb MC, und Crill WE. Slow conductances in neurons from cat sensorimotor cortex in vitro and their role in slow excitability changes. *J Neurophysiol*, 59:450–67, 1988a
- Schwindt PC, Spain WJ, Foehring RC, Stafstrom CE, Chubb MC, und Crill WE. Multiple potassium conductances and their functions in neurons from cat sensorimotor cortex in vitro. *J Neurophysiol*, 59:424–49, 1988b
- Seidenbecher T, Laxmi TR, Stork O, und Pape HC. Amygdalar and hippocampal theta rhythm synchronization during fear memory retrieval. *Science*, 301:846–50, 2003

- Shah M und Haylett DG. Ca(2+) channels involved in the generation of the slow afterhyperpolarization in cultured rat hippocampal pyramidal neurons. *J Neurophysiol*, 83:2554–61, 2000a
- Shah M und Haylett DG. The pharmacology of hSK1 Ca2+-activated K+ channels expressed in mammalian cell lines. *Br J Pharmacol*, 129:627–30, 2000b
- Shin LM, McNally RJ, Kosslyn SM, Thompson WL, Rauch SL, Alpert NM, Metzger LJ, Lasko NB, Orr SP, und Pitman RK. A positron emission tomographic study of symptom provocation in PTSD. *Ann N Y Acad Sci*, 821:521–3, 1997
- Shin LM, Shin PS, Heckers S, Krangel TS, Macklin ML, Orr SP, Lasko N, Segal E, Makris N, Richert K, Levering J, Schacter DL, Alpert NM, Fischman AJ, Pitman RK, und Rauch SL. Hippocampal function in posttraumatic stress disorder. *Hippocampus*, 14:292–300, 2004
- Shin LM, Whalen PJ, Pitman RK, Bush G, Macklin ML, Lasko NB, Orr SP, McNerney SC, und Rauch SL. An fMRI study of anterior cingulate function in posttraumatic stress disorder. *Biol Psychiatry*, 50:932–42, 2001
- Shin LM, Wright CI, Cannistraro PA, Wedig MM, McMullin K, Martis B, Macklin ML, Lasko NB, Cavanagh SR, Krangel TS, Orr SP, Pitman RK, Whalen PJ, und Rauch SL. A functional magnetic resonance imaging study of amygdala and medial prefrontal cortex responses to overtly presented fearful faces in posttraumatic stress disorder. *Arch Gen Psychiatry*, 62:273–81, 2005
- Siebert M, Markowitsch HJ, und Bartel P. Amygdala, affect and cognition: evidence from 10 patients with Urbach-Wiethe disease. *Brain*, 126:2627–37, 2003
- Stefanacci L, Farb CR, Pitkanen A, Go G, LeDoux JE, und Amaral DG. Projections from the lateral nucleus to the basal nucleus of the amygdala: a light and electron microscopic PHA-L study in the rat. *J Comp Neurol*, 323:586–601, 1992
- Steriade M und McCarley R. *Brainstem control of wakefulness and sleep*. New York: Plenum Press, 1990
- Stocker M, Krause M, und Pedarzani P. An apamin-sensitive Ca2+-activated K+ current in hippocampal pyramidal neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 96:4662–7, 1999
- Stocker M und Pedarzani P. Differential distribution of three Ca(2+)-activated K(+) channel subunits, SK1, SK2, and SK3, in the adult rat central nervous system. *Mol Cell Neurosci*, 15:476–93, 2000

- Storm JF. Intracellular injection of a Ca²⁺ chelator inhibits spike repolarization in hippocampal neurons. *Brain Res*, 435:387–92, 1987
- van der Kolk BA, Greenberg MS, Orr SP, und Pitman RK. Endogenous opioids, stress induced analgesia, and posttraumatic stress disorder. *Psychopharmacol Bull*, 25:417–21, 1989
- Vegara C, Latorre R, Marrion N, und Adelman J. Calcium activated potassium channels. *Curr Opin Neurobiol.*, 8:321–329, 1998
- Washburn MS und Moises HC. Electrophysiological and morphological properties of rat basolateral amygdaloid neurons in vitro. *J Neurosci*, 12:4066–79, 1992
- Weisskopf MG, Bauer EP, und LeDoux JE. L-type voltage-gated calcium channels mediate NMDA-independent associative long-term potentiation at thalamic input synapses to the amygdala. *J Neurosci*, 19:10512–9, 1999
- Whalen PJ, Shin LM, McInerney SC, Fischer H, Wright CI, und Rauch SL. A functional MRI study of human amygdala responses to facial expressions of fear versus anger. *Emotion*, 1:70–83, 2001
- Womble MD und Moises HC. Hyperpolarization-activated currents in neurons of the rat basolateral amygdala. *J Neurophysiol*, 70:2056–65, 1993a
- Womble MD und Moises HC. Muscarinic modulation of conductances underlying the afterhyperpolarization in neurons of the rat basolateral amygdala. *Brain Res*, 621:87–96, 1993b
- Wyllie DJ, Manabe T, und Nicoll RA. A rise in postsynaptic Ca²⁺ potentiates miniature excitatory postsynaptic currents and AMPA responses in hippocampal neurons. *Neuron*, 12:127–38, 1994

Danksagungen

Ich danke meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. rer. nat. H.-C. Pape, für die Möglichkeit der Durchführung dieser Promotionsarbeit und für die exzellente Unterstützung. Herrn Dr. rer. nat. R. Driesang danke ich für all die Zeit, die er in die fachlichen Diskussionen investiert hat. Den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Instituts für Physiologie danke ich für ihre Geduld.

Meiner Familie und meiner Partnerin danke ich für die Unterstützung.

Erklärung

Ich erkläre, dass ich die der Medizinischen Fakultät der Otto-von-Guericke-Universität zur Promotion eingereichte Dissertation mit dem Titel:

“Elektrophysiologische Charakterisierung von Neuronen der lateralen Amygdala unter besonderer Berücksichtigung von Aktionspotentialmustern und Oszillationen”

im

Institut für Physiologie
Leipziger Straße 44
39120 Magdeburg

mit Unterstützung durch Herrn

Prof. Dr. rer. nat. Hans-Christian Pape

ohne sonstige Hilfe durchgeführt und bei der Abfassung der Dissertation keine anderen als die dort aufgeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Bei der Abfassung der Dissertation sind Rechte Dritter nicht verletzt worden.

Ich habe diese Dissertation bisher an keiner in- oder ausländischen Hochschule zur Promotion eingereicht. Ich übertrage der Medizinischen Fakultät das Recht, weitere Kopien meiner Dissertation herzustellen und zu vertreiben.

Magdeburg, den 3. Januar 2006

Unterschrift

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Jan Alexander Smid
Geburtstag: 24.10.1976
Geburtsort: Hanau
Nationalität: Deutsch
Familienstatus: ledig
Eltern: Hero Smid, Diplom-Pädagoge und Betriebswirt
Johanna Deist, Lehrerin
Geschwister: eine Schwester, elf Jahre

Schulischer Werdegang

1983 – 1987 Besuch der Grundschule "Körnerschule" in Frankfurt/Main
1988 – 1996 Besuch des Gymnasiums "Liebigsschule" in Frankfurt/Main
1996 Erwerb der Allgemeinen Hochschulreife, Durchschnitt 2,2

Beruflicher Werdegang

1996 – 1997 Ersatzdienst im Diakoniekrankenhaus Simmern
1997 – 2004 Studium der Humanmedizin an der Otto-von-Guericke-Universität, Magdeburg, 12 Fachsemester, ein Forschungssemester
Sept. 1999 Ärztliche Vorprüfung, Note: befriedigend (2,66)
Okt. 1999 – Apr. 2000 Forschungssemester am Institut für Physiologie der Otto-von-Guericke-Universität in Magdeburg (Direktor: Prof. Dr. rer. nat. H.-C. Pape), Thema: "Elektrophysiologische Charakterisierung von Neuronen der lateralen Amygdala unter besonderer Berücksichtigung von Aktionspotentialmustern und Oszillationen"
März 2001 Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung, Note: gut (2,0)
Apr. 2003 Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung, Note: gut (1,66)
Apr. 2004 Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung, Note: sehr gut
Gesamtnote der Ärztlichen Prüfung: sehr gut (1,49)
seit Okt. 2004 Assistenzarzt in der Klinik für Kardiologie, Angiologie und Pneumologie (Direktor: Prof. Dr. med. H. Klein) der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg

Famulaturen & Praktisches Jahr

<i>Aug./Sept. 2000</i>	Famulatur in der Allgemeinchirurgie im "Diakoniekrankenhaus", Simmern
<i>Jul./Aug. 2001</i>	Famulatur in der Allgemeinchirurgie im Krankenhaus "Fundacion San Gabriel" in La Paz, Bolivien
<i>Mär./Apr. 2002</i>	Famulatur in der Klinik für Traumatologie an der Otto-von-Guericke-Universität, Magdeburg
<i>Sept. 2002</i>	Famulatur in der Klinik für Kardiologie, Angiologie und Pulmologie an der Otto-von-Guericke-Universität, Magdeburg
<i>Okt. 2003 – Jul. 2003</i>	Chirurgisches Praktisches Jahr am Kansas University Medical Center in Kansas, USA
<i>Aug. 2003 – Nov. 2003</i>	Internistisches Praktisches Jahr in der Klinik für Kardiologie, Angiologie und Pulmologie an der Otto-von-Guericke-Universität, Magdeburg
<i>Nov. 2003 – März 2004</i>	Wahlfach des Praktischen Jahres in der Klinik für Urologie und Kinderurologie im "Städtischen Klinikum", Magdeburg

Universitäre & andere Aktivitäten

<i>1998 – 2003</i>	Mitglied im Fachschaftsrat der Medizinischen Fakultät der Otto-von-Guericke-Universität, Magdeburg
<i>1998 – 1999</i>	Mitglied in der Kommission für Studium und Lehre der Otto-von-Guericke-Universität, Magdeburg
<i>1999 – 2003</i>	Mitglied im Studentenclub "Kiste" der Otto-von-Guericke-Universität, Magdeburg
<i>seit 2000</i>	Mitglied in der Gesellschaft der Freunde und Förderer der Otto-von-Guericke-Universität, Magdeburg
<i>2001 – 2002</i>	Mitglied in der Kommission zur Förderung des wissenschaftlichen Nachwuchses der Otto-von-Guericke-Universität, Magdeburg
<i>2001–2002</i>	erster Vorsitzender des Fachschaftsrates der Medizinischen Fakultät der Otto-von-Guericke-Universität, Magdeburg
<i>2002–2003</i>	studentischer Vertreter im Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät der Otto-von-Guericke-Universität, Magdeburg
<i>Stipendien:</i>	viermonatiges Förderungsstipendium des "Deutschen Akademischen Austausch Dienst" (DAAD) für den Aufenthalt am Kansas University Medical Center in Kansas, USA

Veröffentlichungen

Artikel:

Pape HC, Narayanan RT, Smid J, Stork O and Seidenbecher T. Theta activity in neurons and networks of the amygdala related to long-term fear memory. *Hippocampus*, 15(7):874-80, 2005.

Abstracts:

Smid J, Driesang RB and Pape HC. Modulatory influence of cAMP on accomodating and oscillatory behavior of projection neurons in the lateral nucleus of the amygdala, *Pflügers Arch*, 441 (6) [Suppl] R109-R279, 2001.

Jan Smid

Magdeburg, den 3. Januar 2006