

Summary - Zusammenfassung

Dr. med. Anne Albrecht:

“Mechanisms of contextual fear memory generalization“

Die klassische Furchtkonditionierung ermöglicht die Untersuchung emotionaler Gedächtnisbildung. Besonders die Ausbildung eines sogenannten kontextuellen Furchtgedächtnisses, also die erlernte Assoziation zwischen einem furcht-induzierenden Stimulus wie einem Fußschock mit der Umgebung, in der dieser Fußschock erteilt wurde, wird durch die Interaktion zweier bedeutender Regionen des limbischen Systems, Amygdala und Hippokampus, geprägt.

Drei Modelle wurden von mir verwendet, um molekulare Faktoren zu bestimmen, die solch eine emotionale Gedächtnisbildung unterstützen und modulieren. Besonderes Augenmerk habe ich dabei auf die Funktion von inhibitorischen Interneuronen gelegt. Interneurone nutzen den Neurotransmitter GABA sowie zahlreichen Neuropeptide als Ko-Transmitter und gestalten lokale neuronale Netzwerke, die eine Informationsverarbeitung im Areal aber auch die Kommunikation zwischen verschiedenen Hirnregionen entscheidend bestimmen.

Im ersten Modell habe ich die Rolle bestimmter Interneuron- Subpopulationen bei der Konsolidierung des Furchtgedächtnis entweder auf einen Ton oder den Kontext verglichen. Per laser-gestützter Mikrodissektion wurden dazu Subregionen von Amygdala und Hippocampus in der Maus sechs Stunden nach Furchtkonditionierung isoliert und die Expressionsänderung ausgewählter Neuropeptide im Vergleich zu einer Kontrollgruppe durch quantitative real-time PCR verglichen.

Dabei zeigte sich eine Induktion von Neuropeptid Y (NPY) mRNA im Gyrus dentatus des Hippokampus nach ton- aber nicht kontext-assoziierter Furchtkonditionierung. Eine spezifische Aktivierung NPY-positiver Interneurone im Hilus des Gyrus dentatus nach Ton-assoziierter Furchtkonditionierung wurde durch den immunhistochemischen Nachweis von phosphoryliertem CREB, einem Transkriptionsfaktor, bestätigt. Mit Hilfe eines lokal injizierten konditionalen viralen Vektorsystems wurde eine solche CREB-Aktivierung durch Expression einer dominant-negativen CREB-Isoform in NPY-positiven Interneuronen des Hilus unterbunden. Dies führte zu einer Erhöhung der kontextuellen, aber nicht ton-assozierten Furchtantwort nach auditorischer

Furchtkonditionierung. Eine solche Generalisierung wurde ebenfalls beobachtet, wenn die Transmitterfunktion von NPY selbst im Gyrus dentatus pharmakologisch blockiert wurde. Hierbei erhöhte die lokale Injektion eines NPY Y1 Rezeptor-Antagonisten die kontextuelle Furchtantwort, jedoch nur in einem auditorischen Furchtkonditionierungsparadigma und nicht wenn der Kontext selbst mit dem Fußschock assoziiert war. Dieser Effekt war außerdem nur bei Injektionen vor dem Furchtkonditionierungs-Training, nicht aber vor dem Abruf des Furchtgedächtnisses zu beobachten. Diese Ergebnisse weisen auf eine Bestimmung der kontextuellen Salienz in Balance zu einem eigentlich relevanten Ton hin, die durch NPY-abhängige Signalübertragung im Gyrus dentatus während der Akquisition und/ oder Konsolidierung des Furchtgedächtnisses moduliert wird.

Eine Ansteuerung dieser Interneuronen-Subpopulation wäre dabei mittels muscarinergischer oder glutamaterger Neurotransmission möglich, denn die Analyse des Expressionsprofils in naiven Mäusen zeigte eine exklusive Anreicherung von mRNA für Rezeptoren des Kainat-Typs 2 (Grik2) sowie muscarinergische M1-Rezeptoren in NPY-positiven Interneuronen des Hilus im Vergleich zum restlichen Hilusgewebe bzw. hippocampalen NPY-positiven Neuronen außerhalb des Hilus.

Die Analyse der Expression sechs Stunden nach Furchtkonditionierung zeigte außerdem einen Anstieg von mRNA für das anxiolytische Neuropeptid Somatostatin im lateralen Kern der Amygdala, sowohl nach ton-assoziiertem als auch nach kontextueller Furchtkonditionierung. Eine mögliche Involvierung von Somatostatin in Kodierung emotional bedeutsamer Ereignisse wurde unter Ausnutzung der Tatsache untersucht, dass die Somatostatin-Expression in der Amygdala einer zirkadianen Schwankung unterliegt. Tatsächlich erhöhte sich die Ängstlichkeit von Mäusen im sogenannten Licht-Dunkel-Test zu einem Zeitpunkt an dem die Peptid-Expression von Somatostatin gering war. In transgenen Mäusen, bei denen das kodierende Gen für Somatostatin ausgeschaltet wurde, war eine zirkadiane Regulierung von Angst-ähnlichem Verhalten nicht zu beobachten. Die konditionierte ton- oder kontext-assoziierte Furchtantwort wurde in diesen Experimenten jedoch weder vom Genotyp noch vom Zeitpunkt des Trainings beeinflusst, weshalb ich einen Beitrag von Somatostatin zur Kodierung emotionaler Salienz nicht bestätigen, aber auch nicht völlig ausschließen konnte.

In einem zweiten Modell begann ich nun den Beitrag von Neuropeptiden und anderer Faktoren GABAerger Neurotransmission zu maladaptiven Prozessen emotionaler Gedächtnisbildung zu untersuchen. Hierbei wurde das juvenile Stressmodell in Ratten in

Zusammenarbeit mit Prof. Menahem Segal, Weizman- Institut, Israel, verwendet. Gestützt auf epidemiologische Daten wird davon ausgegangen, dass sich die Suszeptibilität für bestimmte Angsterkrankungen durch frühere Stresserfahrungen erhöht. Tatsächlich rufen intensive, psychologische Stresserlebnisse während der juvenilen Phase in Ratten und Mäusen Veränderungen von Ängstlichkeit und emotionalem Lernen bei erneutem Stress hervor, die mit Symptomen der Posttraumatischen Belastungsstörung (PTBS) im Menschen vergleichbar sind wie zum Beispiel eine generalisierte Furchtantwort. Außerdem wurden nach kombiniertem juvenilen und adulten Stress langanhaltende Veränderungen der Neuroplastizität in der Cornu ammonis (CA) 1-Region des ventralen Hippokampus im Vergleich zum dorsalen Teil in Ratten beschrieben, die auf eine erhöhte Erregbarkeit des ventralen Hippokampus hindeuten. Um Aufschluss über die molekulare Grundlage solcher Veränderungen zu erhalten, habe ich die Expression bestimmter GABAerger Faktoren in Schichten der ventralen und dorsalen CA1-Region mittels laser-gestützter Mikrodisketion und quantitativer real-time PCR untersucht. Es zeigten sich besonders im ventralen *Stratum radiatum* Veränderungen in der Expression des GABA-synthetisierenden Enzyms GAD65 und der GABA A-Rezeptoruntereinheiten $\alpha 1$ und $\alpha 2$ nach juvenilen, adulten Stress oder der Kombination aus beiden. Diese korrelierten teilweise mit der Expression von Corticosteron-Rezeptoren und könnten daher in der Tat direkt oder indirekt von der hippokampalen Corticosteronantwort abhängen. Weiterhin zeigte sich eine deutliche Korrelation zwischen der Expression des GABAergen Markers GAD65 und bestimmten Glutamat-Rezeptoruntereinheiten, die nach kombiniertem juvenilen und adulten Stress nicht mehr zu finden war. Dies deutet auf eine mögliche Verschiebung der Balance von exzitatorischer und inhibitorischer Neurotransmission in der ventralen CA1 im PTBS-Modell hin und könnte zur beobachteten erhöhten Erregbarkeit dieser Region beitragen.

Während juveniler Stress letztlich die Bildung eines emotionalen Gedächtnis durch veränderte Prädisposition und Adaption neuronaler Systeme beeinflusst, ist es auch möglich eine bereits etablierte Gedächtnisspur zu modulieren. Die Reaktivierung eines auditorischen Furchtgedächtnisses in Mäusen bildete hierbei das dritte von mir genutzte Modell. Während Furchtkonditionierung selbst zu langanhaltender Verminderung des Angst-ähnlichen Verhaltens und erhöhter mRNA-Expression für Corticosteron-Rezeptoren in der ventralen CA3-Region führte, waren diese molekularen Veränderungen nach der Reaktivierung des Furchtgedächtnisses nicht mehr zu

beobachten. Diese induzierte jedoch eine Erhöhung der Konzentration von Corticosteron im Blutplasma sowie eine kontextuelle Generalisierung der Furchtantwort bei gleichzeitig verminderter Ängstlichkeit. Lokale Applikation von Corticosteron in die ventrale CA3-Region konnte solch eine anxiolytische Reaktion verstärken. Reaktivierung ermöglicht also die „Rekalibrierung“ stressabhängiger neuronaler Systeme, die zur Veränderung emotionalen Verhaltens führt.

In allen drei Modellen wurden molekulare Veränderungen in hippocampalen Subregionen in verschiedenen Verhaltensparadigmen beobachtet, die aufgrund ihrer hohen emotionalen Relevanz von einer Aktivierung der Amygdala abhängen. Die von mir erstellten Befunde weisen darauf hin, dass die Ausbildung und Modulierung emotionalen Gedächtnisses von inhibitorischer Neurotransmission im Hippokampus geprägt wird. Inhibitorische Neurotransmission im Gyrus dentatus sowie den ventralen CA1 und CA3 Regionen steuert die Regulierung der Balance zwischen ton- und kontext-assoziiertes Furcht und trägt dabei zu Phänomenen der kontextuellen Generalisierung während der auditorischen Furchtkonditionierung bei. Eine weitere Erforschung der hier identifizierten molekularen Faktoren würde dabei die Grundlage für die Entwicklung neuer therapeutischer Möglichkeiten für Angsterkrankungen wie PTBS bieten.