

Functional neuronal plasticity in the dentate gyrus of freely moving rats

von Dipl.-Bioch. Jeffrey Lopez Rojas

Betreuerin: Prof. Dr. Julietta U. Frey

Zusammenfassung der Dissertation

Lang-Zeit-Potenzierung (LTP) ist gekennzeichnet als ein lang anhaltender Anstieg in der Wirksamkeit der synaptischen Übertragung nach einer kurzen hochfrequenten Stimulierung der afferenten Fasern. LTP wird verwendet als ein zelluläres Model für Lernen und Gedächtnis. Studien im Gyrus Dentatus (DG) analysieren allerdings oft nur den neuronalen "Output", den Populationsspike (PS), statt der synaptischen Komponente, dem exzitatorischen postsynaptischen Potential (EPSP). Im Allgemeinen wird angenommen, dass der PS die synaptische Antwort imitiert. Diese Arbeit beschreibt hauptsächlich, wie synaptische Erregbarkeit der Granularzellen mit neuronalem Feuern während LTP in Verbindung stehen und welche molekularen Mechanismen diese synaptischen und Erregbarkeitsänderungen in freibeweglichen Ratten unterstützen. Eine wichtige Frage in der heutigen Neurowissenschaft ist die Beziehung zwischen diesen beiden Phänomenen sowie ihre Mechanismen zu verstehen. Zur Untersuchung dieser Fragestellung benutzten wir eine kürzlich in unserem Labor eingeführte Methode, um den PS und das EPSP an ihren Entstehungsorten abzuleiten.

In einer ersten Serie von Experimenten untersuchten wir die Effekte unterschiedlicher Tetanisierungsprotokolle auf EPSP und PS. Wir fanden heraus, dass das Feuern der Granularzellen in relativer Unabhängigkeit von der synaptischen Wirksamkeit bei unterschiedlichen elektrischen Reizen verstärkt sein kann. Diese

Erregbarkeitsänderung kann bis zu 24 Stunden in freibeweglichen Ratten andauern. Von den verwendeten Tetanisierungsprotokollen war nur das "stärkste" in der Lage, eine späte Phase der synaptischen LTP zu beeinflussen.

In einer zweiten Serie von Experimenten untersuchten wir pharmakologische Eigenschaften der late-LTP. Wir fanden, dass beide gemessenen Parameter, die EPSP- und PS-Potenzierung stark von der Aktivierung der NMDA Rezeptoren während LTP-Induktion abhängig sind. Wir fanden aber auch, dass zusätzliche, noch zu identifizierende Mechanismen für die PS-Potenzierung verantwortlich gemacht werden müssen.

In einer folgenden Serie untersuchten wir, ob die Proteinkinase Mzeta (PKMzeta) auch im intakten Versuchstier für die langzeitige Aufrechterhaltung der LTP sowie möglicherweise für die PS-Potenzierung verantwortlich ist. Wir injizierten intrahippocampal die PKMzeta-Inhibitoren ZIP (zeta-Inhibitor Peptid) oder Chelerythrine Chlorid jeweils eine Stunde nach Tetanisierung. Synaptische late-LTP konnte dadurch vollständig unterbunden werden, wobei interessanterweise die PS-Potenzierung nicht beeinflusst war.

Insgesamt weisen unsere Ergebnisse daraufhin, dass im DG der freibeweglichen Ratte, das neuronale Feuern nicht nur von der Stärke der exzitatorischen Synapsen abhängig ist, sondern auch von neuronalen Erregbarkeitsänderungen, welche aktivitätsabhängig lang andauernd geändert werden kann.

Abstract

Long-term potentiation (LTP) is defined as a long-lasting increase in the efficacy of synaptic transmission after a brief high-frequency stimulation of afferent fibers and it has been used as a cellular model of learning and memory. Studies in the dentate gyrus (DG) however, do often only analyze the neuronal output, the population spike amplitude (PSA) instead of the synaptic component, the field excitatory postsynaptic potential (fEPSP). Generally, it was thought that the PSA mimics the synaptic response. This dissertation primarily describes how dentate granule cells' synaptic efficacy relates to the neuronal firing in LTP and which molecular mechanisms underpin these synaptic and excitability changes in freely moving animals. To understand the relation among these two phenomena and its mechanisms is a central question in neuroscience today. We took advantage of a recently developed method in our lab to measure both the fEPSP and the PSA in the proximity of their generation sites. In a first series of experiments we studied the outcome of different tetanization patterns on fEPSP and PSA. We found that the firing output of the granule cells can be upregulated relatively independent of the synaptic efficacy by distinct electrical stimuli and that these excitability changes can endure for at least 24 h. Of the studied tetanization protocols just the strongest one was able to induce a synaptic, that is fEPSP, late-LTP. In a second series through pharmacological manipulations we inquired about the underpinnings of this late-LTP. We found that both fEPSP and PSA potentiation were strongly dependent on NMDA receptor activation at the time of their induction, even when our results suggest that other mechanisms could also be involved in the PSA potentiation induction. We have intrahippocampally injected the PKMzeta inhibitors ZIP (zeta-inhibitory peptide) or chelerythrine chloride 1 h after the induction of LTP. This fully prevented synaptic late-LTP; PSA potentiation was however not affected. In summary our results suggest that in the DG of intact freely moving animals the neural firing does not only depend on the strength of the excitatory synapses, but also on neuronal excitability which can be long-lasting modified in an activity-dependent manner.