

ZUSAMMENFASSUNG DER DISSERTATION

Titel - Functional plasticity in the hippocampal slices in vitro

- Sreedharan Sajikumar

Prozesse funktionaler Plastizität wie hippocampale Langzeitpotenzierung (LTP) und Langzeitdepression (LTD) werden als zelluläre Mechanismen angesehen, die Lernen und der Gedächtnisformierung unterliegen. LTP und LTD werden daher als geeignete Modelle zur Untersuchung dieser Prozesse herangezogen.

Eine Vielzahl von Eigenschaften der Langzeitpotenzierung wurden in den letzten Jahrzehnten bereits intensiv untersucht, während über Langzeitdepression und ihre Bedeutung für Lernprozesse weniger bekannt ist. In der vorliegenden Studie wurde untersucht, ob elektrisch induzierte LTD in der CA1-Region von Hippokampusschnittpräparaten von der Ratte ähnliche Eigenschaften aufweist wie LTD im intakten Tier, unter besonderer Berücksichtigung der Mechanismen der langfristigen Aufrechterhaltung von LTD. In initialen Experimenten wurden Stimulationsprotokolle entwickelt mit denen es möglich ist, zuverlässig verschiedene Formen von LTD in vitro zu induzieren. In Abhängigkeit vom Stimulationsprotokoll gelang es, entweder eine frühe, proteinsyntheseunabhängige Form (mit einer Dauer von 3 h-4 h) oder eine späte, de novo-proteinsyntheseabhängige langfristige Form (bis zu 8 h) zu induzieren. Beide Formen sind abhängig von der Aktivierung von NMDA-Rezeptoren. Darüber hinaus ist die LTD durch Eingangsspezifität gekennzeichnet d.h. LTD wurde nur an den Synapsen induziert, die eine entsprechende niedrigfrequente Reizung erfuhren. Die Entwicklung dieser

Protokolle führte demnach zu einer LTD in vitro, die phänotypisch analoge Induktionseigenschaften wie LTP aufweist.

In früheren Untersuchungen wurde gezeigt, dass die Induktion einer frühen LTP einen synaptischen Marker ('synaptic tag') an einer spezifisch aktivierten Synapse setzen kann, der dann in der Lage ist synapsenunspezifische plastizitätsrelevante Proteine, deren Synthese durch die Induktion einer späten LTP an einem zweiten, unabhängigen Eingang induziert wurde, einzufangen und zu prozessieren, so dass auf diese Weise die LTP des ersten Eingangs langfristig aufrechterhalten werden kann. Meine Untersuchungen zeigen nun, dass in vitro, dieser als 'synaptic tagging' bezeichnete Mechanismus ebenso für LTD gültig ist. Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass die Induktion entweder von LTD oder LTP an zwei unabhängigen synaptischen Eingängen (S1 und S2) ebenso zu späten assoziativen Interaktionen zwischen den beiden Formen synaptischer Plastizität führen: eine frühe LTD in Eingang S2 wird in eine langfristige LTD überführt, wenn eine späte LTP in Eingang S1 derselben Neuronenpopulation innerhalb eines bestimmten Zeitfensters induziert wird. Die Synthese prozessunabhängiger plastizitätsrelevanter Proteine durch die Induktion einer späten LTP in S1 führte somit zu einer Transformation der frühen in eine späte LTD in S2 wenn prozessspezifische synaptische Marker gesetzt wurden. Wir haben diese neue späte assoziative Eigenschaft zellulärer Informationsverarbeitung 'cross tagging' genannt, da prozessunspezifisch plastizitätsrelevante Proteine durch entweder LTD- oder LTP-spezifische synaptische Marker verarbeitet werden können und zur langfristigen Ausprägung der beiden Formen synaptischer Plastizität führen können.

Sowohl der synaptische Marker als auch die plastizitätsrelevanten Proteine sind durch eine relativ kurze Halbwertszeit von einigen Minuten bis zu wenigen Stunden gekennzeichnet bevor sie, sehr wahrscheinlich durch Dephosphorylierung, zu inaktiven Formen degradieren. Dies führte zu der Frage, ob der Marker oder besser der molekulare 'Markerkomplex' in eine inaktive Form zurückgesetzt werden kann und auf diese Weise die Prozessierung plastizitätsrelevanter Proteine verhindert wird. Dies sollte dann zu der Ausbildung nur der frühen Formen synaptischer Plastizität, hier der untersuchten LTP führen. Es ergab sich, dass eine niedrigfrequente Reizung sehr kurz (5 min) nach der Induktion einer frühen LTP den synaptischen Marker inaktiviert und zu keinerlei Ausprägung einer langfristigen LTP und somit zu keiner langfristigen zellulären Gedächtnisspur im tagging-Experiment führt.

Der nächste Schritt war die Suche nach möglichen Kandidaten für synaptische Markerkomplexe oder plastizitätsrelevante Proteine. Über die Rolle einer PKC-isoform als ein mögliches Molekül für den Markerkomplex wurde bereits intensiv durch andere Autoren spekuliert. Daher untersuchten wir die Rolle der Proteinkinase M-zeta (PKM ζ) für langfristige plastische Veränderungen, d.h. konkret für die Aufrechterhaltung der proteinsyntheseabhängigen Phasen von LTD/LTP, des synaptic tagging oder des cross-tagging Mechanismus. Die Inaktivierung von PKM ζ nach Induktion einer späten LTP führte zu einer Umkehrung derselben und nachfolgend zu einer Depression der tetanisierten Inputs. Im Gegensatz hierzu war die Aufrechterhaltung einer induzierten späten LTD nicht beeinträchtigt, jedoch deren Induktion gehemmt. PKM ζ -Inhibition verhindert synaptic tagging von

LTP. Während cross tagging wird die späte LTP verhindert, während eine frühe LTD an einem unabhängigen zweiten synaptischen Eingang in eine späte LTD transformiert wird. Dies lässt den Schluß zu, das PKM ζ spezifisch in den synaptic-tagging- Mechanismus für LTP, jedoch nicht in LTD involviert ist, aber das die PKM ζ sowohl für Induktionsprozesse der LTP als auch der LTD benötigt wird.