

Aus dem Physiologischen  
Institut der Ludwig-Maximilians-Universität München

Vorstand: Univ.-Prof. Dr. med A. Konnerth  
Univ.-Prof. Dr. med U. Pohl

Angefertigt unter der Leitung von:  
Prof. Dr. rer.nat. B. Sutor

**Spontane unterschwellige  
Membranpotentialoszillationen  
und Impedanzresonanz  
in neokortikalen Neuronen der Ratte  
*in vitro***

Dissertation  
zum Erwerb des Doktorgrades der Humanbiologie  
an der Medizinischen Fakultät der  
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von  
Christian Biber  
aus  
Augsburg

2004

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Universität München

1. Berichterstatter : Prof. Dr. rer. nat. B. Sutor  
2. Berichterstatter : Prof. Dr. Ing. G. Färber  
Mitberichterstatter : Prof. Dr.med habil. Dr.rer.nat.habil. I. Rentschler  
: Priv. Doz. Dr. med. S. Noachtar  
Dekan : Prof. Dr. med. Dr. h.c. K. Peter

Tag der mündlichen Prüfung : 22.04.2004

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Literaturübersicht</b>	<b>5</b>
2.1	Peripheres Nervensystem . . . . .	5
2.2	Hirnstamm . . . . .	7
2.3	Diencephalon . . . . .	9
2.4	Telencephalon . . . . .	11
2.4.1	Neokortex . . . . .	13
2.5	Kritik . . . . .	16
<b>3</b>	<b>Theorie und Modelle</b>	<b>17</b>
3.1	Linearisierung der Hodgkin-Huxley-Gleichung . . . . .	20
3.2	Bedingungen . . . . .	27
3.2.1	L-Kriterium . . . . .	27
3.2.2	$\tau$ -Kriterium . . . . .	28
3.2.3	Modulation der Membranresonanz . . . . .	29
3.2.4	Membranpotentialoszillationen . . . . .	30
3.2.5	Temperatur . . . . .	31
3.2.6	Kanaldichte . . . . .	31
3.2.7	Membranpotential . . . . .	33
3.3	Die Membranzeitkonstante . . . . .	36
<b>4</b>	<b>Membranleitfähigkeiten</b>	<b>37</b>
4.1	Natriumleitfähigkeiten . . . . .	37
4.1.1	$I_{NaP}$ . . . . .	37
4.1.2	$I_{NaW}$ . . . . .	38
4.2	Calciumleitfähigkeiten . . . . .	39
4.2.1	LVA $Ca^{2+}$ -Kanäle . . . . .	39
4.2.2	HVA $Ca^{2+}$ -Kanäle . . . . .	39
4.3	Kaliumleitfähigkeiten . . . . .	40
4.3.1	$K_v$ -Kanäle . . . . .	40
4.3.2	Kir-Kanäle . . . . .	41
4.3.3	Sonstige Kaliumkanäle . . . . .	42
4.4	H-Typ Kationenkanal . . . . .	43
<b>5</b>	<b>Rauschen in neuronalen Systemen</b>	<b>45</b>

<b>6</b>	<b>Material und Methoden</b>	<b>49</b>
6.1	Inkubationslösungen . . . . .	49
6.2	Versuchstiere und Präparation . . . . .	50
6.3	Ableitungskammer und Zirkulationssystem . . . . .	50
6.4	Substanzapplikation und verwendete Pharmaka . . . . .	51
6.5	Elektroden . . . . .	52
6.6	Signalverstärker . . . . .	53
6.7	Datenaufnahme . . . . .	53
6.8	Neuronenklassifizierung . . . . .	54
6.8.1	Passive elektrotonische Eigenschaften . . . . .	54
6.8.2	Entladungsverhalten . . . . .	55
6.8.3	Strom-Spannungs-Kennlinie . . . . .	56
6.8.4	Morphologie . . . . .	56
6.9	Fourier-Transformation . . . . .	57
6.9.1	Grundlagen . . . . .	57
6.9.2	Anwendung . . . . .	59
6.9.3	Ermittlung der Systemfunktion . . . . .	61
6.9.4	Datenanalyse . . . . .	62
6.10	Graphische Darstellung und Statistik . . . . .	63
<b>7</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>65</b>
7.1	Klassische Neuronencharakterisierung . . . . .	65
7.1.1	Passive elektrotonische Eigenschaften . . . . .	65
7.1.2	Strom-Spannungs-Kennlinie . . . . .	67
7.1.3	Entladungsverhalten . . . . .	67
7.1.4	Morphologie . . . . .	68
7.2	Frequenzanalyse . . . . .	69
7.2.1	Optimierung der Versuchsparameter . . . . .	69
7.2.2	Die Unterschwelligkeitsbedingung . . . . .	72
7.3	Methoden zur Quantifizierung . . . . .	74
7.4	Impedanzresonanz und Membranpotentialoszillationen . . . . .	78
7.4.1	Impedanzresonanz . . . . .	78
7.4.2	Spontane unterschwellige Membranpotentialoszillationen . . . . .	83
7.4.3	Vergleich beider Phänomene . . . . .	84
7.5	Generierungsmechanismen und Modulation . . . . .	85
7.5.1	Blockierung der synaptischen Transmission . . . . .	85
7.5.2	Spannungsabhängige Natriumkanäle . . . . .	86
7.5.3	Spannungsabhängige Calciumkanäle . . . . .	89
7.5.4	Spannungsabhängige Kaliumkanäle . . . . .	90
7.5.5	H-Typ Kationenkanal . . . . .	96
7.6	Untersuchungen zur physiologischen Bedeutung . . . . .	101

<b>8 Diskussion</b>	<b>105</b>
8.1 Allgemeines . . . . .	105
8.2 Impedanzresonanz und Membranpotentialoszillationen . . . . .	105
8.3 Generierungsmechanismen und Modulation . . . . .	107
8.4 Modell und Realität . . . . .	110
8.5 Physiologische Bedeutung . . . . .	111
<b>9 Zusammenfassung</b>	<b>114</b>
<b>A Die Taylor-Entwicklung</b>	<b>117</b>
<b>B Taylor-Entwicklung der Kanalkinetik</b>	<b>118</b>
<b>C Ionenkanalkinetik im Fourier-Raum</b>	<b>119</b>

# Abkürzungsverzeichnis

AP	: Aktionspotential
EEG	: Elektroenzephalogramm
EPSP	: exzitatorisches postsynaptisches Potential
F.T.	: Fourier-Transformation
GABA	: Gamma-Amino-Buttersäure
H.H.	: Hodgkin-Huxley
I.R.	: Impedanzresonanz
MPO	: Membranpotentialoszillationen
RMP	: Ruhemembranpotential

cAMP	: cyclisches Adenosinmonophosphat
TEA	: Tetraethylammonium
TTX	: Tetrodotoxin
4-AP	: 4-Aminopyridin

C	: Kapazität
G	: Leitfähigkeit
L	: Induktivität
R	: Widerstand
T	: Temperatur
Z	: Impedanz

$\frac{d}{dx}$  : totale Ableitung nach x

$\frac{\partial}{\partial x}$  : partielle Ableitung nach x

$\delta x$  : Differenz  $x_2 - x_1$

# Kapitel 1

## Einleitung

Höheres Leben, wie wir es kennen, basiert auf der Kooperation von sehr einheitlich aufgebauten Einzelkomponenten, den Zellen, die sich im Laufe der biologischen Evolution zu größeren funktionellen Einheiten zusammengeschlossen haben. Dabei interagieren beim Menschen etwa  $7 \cdot 10^{12}$  Zellen [77] miteinander.

Das komplexeste und in seiner Funktionalität vielfältigste Organ ist das Nervensystem von Säugetieren, insbesondere das des Menschen. Allein unser Gehirn, als der am höchst entwickelte Teil des Nervensystems, besteht aus circa  $10^{10}$  Neuronen [170], die sich zu einem, in seiner anatomischen Organisation hoch strukturierten Netzwerk, zusammengeschlossen haben, welches durch kompliziertes Zusammenwirken seiner Komponenten als oberstes Steuerorgan agiert und beim Menschen nicht zuletzt als Sitz des Bewußtseins angesehen wird.

Trotz aller Erkenntnisse, die die Neurowissenschaften in den letzten Jahrzehnten gesammelt haben, fehlt uns nach wie vor fundamentales Wissen im Bereich der integrativen Gehirnphysiologie, also über die Mechanismen der Zusammenarbeit von Neuronen und der daraus resultierenden Entstehung höherer Gehirnleistungen [21]. Bedenkt man jedoch, daß das Gehirn im Wesentlichen nur stereotype elektrochemische Signale zur Informationskodierung benutzt, die aus kurzdauernden Änderungen der Zellmembranspannung bestehen („Aktionspotentiale“), so ist klar, daß die räumlich und zeitlich exakte Abstimmung dieser Signale von entscheidender Bedeutung für die Koordination und Funktionalität des Systems sein muß. Diese spatiotemporale Synchronisation der Aktionspotentiale führt zu rhythmischer Aktivität großer Neuronenverbände, die beispielsweise in einem Elektroenzephalogramm meßbar ist.

Bereits in den 30er Jahren des letzten Jahrhunderts haben Adrian und Mathews vermutet, daß diese EEG-Rhythmen insbesondere im Säugerneokortex den Funktionszustand des Gehirns reflektieren oder gar diktieren [47]. Kortikale Rhythmen treten in einem weiten Frequenzbereich auf, der von unter 1 Hz bis über 200 Hz reicht. Sie zeigen sowohl örtlich begrenzte, zum Teil nur innerhalb der kortikalen Kolumne und angrenzender Bereiche messbare Synchronität von oft schneller Aktivität [151, 152], als auch Synchronität von weit verteilten Gruppen von Neuronen [26]. Heute läßt sich nachweisen, daß synchrone

rhythmische Aktivität in verschiedenen Gehirnbereichen stark korreliert und assoziiert ist mit höheren Gehirnfunktionen, Verhaltens- und Wahrnehmungszuständen, motorischer Kontrolle, dem Informationstransfer zwischen Gehirnregionen und dem ontogenetischen oder sogar dem evolutionären Entwicklungsstand des Lebewesens [12, 21, 26, 62, 86, 118, 178]. Pathologische Veränderungen des oszillatorischen Verhaltens werden mit psychischen (z.B. Depressionen, Schizophrenie, Morbus Alzheimer [57, 93]) und physischen Störungen (motorische Kontrolle z.B. Tremor [102]) in Verbindung gebracht. Bei diesen Befunden darf allerdings nicht vergessen werden, daß solche Korrelationen keine Kausalität beweisen können und somit immer noch die Möglichkeit bleibt, daß trotz vieler Indizien zumindest einige dieser rhythmischen Aktivitätsmuster Epiphänomene sein könnten [26, 125]. Ungeachtet dessen ist die Fähigkeit von Neuronen, in einer großen Population oszillatorische Rhythmen zu projizieren und synchrones Entladen zu generieren, eine der wichtigsten Eigenschaften von Nervenzellen [93]. Beispielsweise entstehen Phänomene wie Langzeitpotenzierung und -depression (LTP/LTD) zweifellos durch eine hohe zeitliche Präzision der Aktivität, wie sie aus solcher Synchronität resultieren kann [113, 143, 172]. Dabei ist, wie bereits Lord Sherrington 1906 vermutet hat, diese funktionelle Organisation des Netzwerks hochgradig dynamisch [46], was sich an der großen Variabilität der Rhythmen bezüglich ihrer Frequenzen, ihrer räumlichen und zeitlichen Ausdehnung, den beteiligten Gehirnbereichen und den Entstehungsmechanismen zeigt [21].

Trotz der offensichtlich großen Bedeutung von synchroner rhythmischer Aktivität im Gehirn ist dennoch über deren Generierungs- und Aufrechterhaltungsmechanismen nur wenig bekannt [21, 26, 47, 62, 64]. Grundsätzlich werden zwei Arten der Rhythmusgenerierung vorgeschlagen [8, 21, 26, 47, 62, 128, 139]:

1. Rhythmische Aktivität als Folge der anatomischen Organisation des Netzwerkes: Das Verbindungsmuster zwischen den Neuronen, vor allem Rückkopplungsschleifen der neuronalen Schaltkreise, führt durch die Latenz der synaptischen Übertragung zwischen den Zellen zu Rhythmen mit genau definierten, allein von den Schaltkreiszeitkonstanten abhängigen, netzwerkspezifischen Frequenzbereichen. Dabei ist es prinzipiell nicht notwendig, daß die beteiligten Neurone selbst oszillatorische Eigenschaften besitzen [46].
2. Rhythmische Aktivität als Folge von intrinsischen Eigenschaften der Netzwerkkomponenten (Neurone). Hierbei können sowohl einzelne, zu selbstständigen Oszillationen fähige Neurone, sogenannte „Schrittmacher-Zellen“, das Netzwerk antreiben, als auch das gesamte System aus Zellen mit intrinsischen Vorzugsfrequenzen bestehen.

Als Grundlage für die intrinsische Rhythmik dieser Neurone ist eine überschwellige und eine unterschwellige Komponente ihres elektrischen Verhaltens unterscheidbar. Bei der überschwelligen Komponente handelt es sich um die Fähigkeit eines Neurons, selbstständig, also ohne synaptische Vermittlung, das Membranpotential in regenerativer Weise über die Entladungsschwelle zu treiben und so eine anhaltende, rhythmische Aktivität zu generieren. Bei der unterschwelligen Komponente können zumindest zwei Varianten bislang unterschieden werden:

1. Intrinsisch generierte Membranpotentialoszillationen (MPO), die die Entladungsschwelle allerdings nicht überschreiten.



2. Ebenfalls auf intrinsische Membraneigenschaften zurückzuführende, frequenzabhängige Verstärkung von synaptisch oder elektrotonisch verursachten Membranpotentialveränderungen, die wegen ihrer Bandpasseigenschaft auch Impedanz- oder Membranresonanz (IR) genannt wird. Deutlich wird dieses Phänomen vor allem durch eine Frequenzanalyse der Membranimpedanz der Zelle bei sinusförmigen Strominjektionen. Dabei zeigt sich im Impedanzspektrum ein charakteristisches Maximum bei der Resonanzfrequenz<sup>1</sup>.

Natürlich schließen sich die genannten Möglichkeiten der Rhythmusgenerierung gegenseitig nicht aus. Vielmehr unterstützen sich im intakten Gehirn die einzelnen Komponenten oft gegenseitig oder laufen parallel zueinander ab [21, 62]. Dies trägt entscheidend zur großen Variabilität und Dynamik des jeweiligen Systems und der verschiedenen Systeme untereinander bei. Erst in jüngerer Zeit haben die beiden letztgenannten unterschwelligen Komponenten vermehrt Beachtung gefunden, obwohl seit langem klar ist, daß die Wirkung synaptischer Eingänge entscheidend von der Interaktion von transmitterinduzierten Veränderungen der postsynaptischen Membran mit deren intrinsischen Eigenschaften abhängt [154]. Eine Analyse der Dynamik im unterschwelligen Membranpotentialbereich kann so zum Verständnis von Integrationsmechanismen auf Zellebene und den daraus resultierenden Netzwerkeigenschaften beitragen.

Man findet häufig, daß die Frequenz von vorhandenen spontanen Membranpotentialoszillationen mit der Entladungsfrequenz des Neurons korreliert [18, 31, 181, 172]. Bei genaueren Untersuchungen, vor allem mit künstlich induzierten Membranpotentialoszillationen, konnte gezeigt werden, daß es bei der Integration von postsynaptischen Potentialen zu einer an die Phase der Membranpotentialoszillationen gekoppelten Aktionspotentialgenerierung kommt [31, 85, 172]. Dabei nimmt die Wahrscheinlichkeit für das Entstehen eines Aktionspotentials zu, wenn das exzitatorische postsynaptische Potential und depolarisierende Phase der Oszillation<sup>2</sup> zusammentreffen [8, 47, 79]. Neben den offensichtlichen Zeit- und Taktgebereigenschaften<sup>3</sup> [41] der Membranpotentialoszillationen, die so zur zeitlichen Koordination beziehungsweise Synchronisation und damit zur Rhythmusgenerierung beitragen, sehen Volgushew und Singer [172] darin die Möglichkeit Amplitudendifferenzen der Eingänge in Latenzdifferenzen der Ausgänge umzuwandeln.

Obwohl seit den 40er Jahren bekannt [25], gibt es wegen der schwereren Beobachtbarkeit der Membranresonanz wenige klare Hinweise über deren Funktion im Integrationsprozess der Zelle. In einigen sensorischen Rezeptorzellen, wie den Haarzellen der Cochlea, den Rezeptorzellen der Retina von Schildkröten oder Elektrorezeptoren des Haifisches, konnte die Membranresonanz direkt mit der Kodierung von sensorischer Information in Verbindung gebracht werden [32, 125, 47, 62]. Über den Einfluß der Resonanz auf andere Verarbeitungsebenen kann bislang nur spekuliert werden. Ihre Wirkung wird dabei insbesondere in einer frequenzselektiven Signalfilterung und unterschwelligen Frequenzbevorzugung von synaptischen Eingängen gesehen. Dadurch soll es zu einer Beeinflussung des Antwortverhaltens der Zelle kommen: Eingangssignale mit bestimmten Wiederholungsraten oder

---

<sup>1</sup>genauerer zu Ablauf und Analyse der Impedanzuntersuchung in Kapitel 6.9.4

<sup>2</sup>insbesondere deren Maximum

<sup>3</sup>Timing-Eigenschaften

dynamischen Profilen werden verstärkt, so daß es vor allem im nahschwelligem Membranpotentialbereich zu einer erleichterten Aktionspotentialgenerierung durch „passende“ Signale kommen kann [47, 60, 124, 126, 154, 155, 167].

Da die Membranresonanz und die spontanen Membranpotentialoszillationen wegen ihres unterschwelligen Auftretens passive, in gewisser Weise latente Fähigkeiten der Zelle darstellen, deren Wirkungen im Netzwerk erst auftreten, wenn die Neurone „von außen“ stimuliert werden, sind beide Mechanismen besonders zur Synchronisation und Stabilisierung von rhythmischer neuronaler Aktivität geeignet [172]. Ein Indiz für die Bedeutung von Membranpotentialoszillationen und Impedanzresonanz kann auch die weite Verbreitung beider Phänomene im Nervensystem sein. Sie können in Vertebraten und Evertebraten, von periphär-sensorischen bis zentral-kortikalen Zellen gefunden werden. Insbesondere treten sie in Neuronen von Netzwerken auf, deren Rhythmik bereits bekannt und genauer untersucht ist. Dazu zählt

- das thalamo-kortikale System, das einige EEG-Wellen (vor allem  $\alpha$ -Wellen und Schlaf-Spindeln) im Kortex erzeugt [109, 150]
- das olivo-cerebelläre System, dessen rhythmische Aktivität Aufgaben bei der motorischen Koordination erfüllt [86, 102]
- die hippocampale Region mit ihrem sogenannten  $\Theta$ -Rhythmus, der mit Lern- und Gedächtnisfunktionen in Verbindung gebracht wird [86, 178].

Daneben wurden Membranpotentialoszillationen und Impedanzresonanz in vielen anderen Gehirnbereichen gefunden, in denen noch keine solche Identifizierung oder funktionelle Zuordnung zu deren rhythmischer Aktivität gelungen ist [26]. Dies gilt im besonderen für den Neokortex, der eine vielgestaltige Rhythmik seiner Aktivität zeigt [10], die teilweise auch im kortikalen Hirnschnitt *in vitro* gemessen worden ist [47] und daher auf lokale kortikale Netzwerke als Ursache für diese Rhythmik schließen läßt.

Vergleicht man die verschiedenen Gehirnregionen miteinander, so zeigen die dort gefundenen spontanen unterschwelligen Membranpotentialoszillationen und die Membranresonanz eine große Variabilität ihres Erscheinungsbildes (Häufigkeit des Auftretens, Frequenz und Amplitude, Spannungsabhängigkeiten etc.) und der ihnen zugrundeliegenden Generierungsmechanismen.

# Kapitel 2

## Literaturübersicht

### 2.1 Peripheres Nervensystem

Bei der Untersuchung von sensorischen Neuronen konnten insbesondere bei Mitralzellen im Bulbus olfactorius der Ratte unterschwellige Membranpotentialoszillationen festgestellt werden [31]. Diese zeigten sich bei allen untersuchten Neuronen bereits bei Ruhemembranpotential ( $-63 \pm 2$  mV) mit durchschnittlich 4 mV Amplitude und Frequenzen zwischen 10 Hz und 50 Hz (T: 20°C), wobei eine spannungsabhängige Zunahme der Oszillationsfrequenz mit Depolarisation von -65 mV bis -58 mV festgestellt wurde. Es handelte sich dabei um intrinsisch generierte, allein auf einer Natriumleitfähigkeit beruhende Membranpotentialoszillationen, da weder Blockierung der GABAergen sowie glutamatergen synaptischen Transmission, noch eine Unterdrückung spannungsabhängiger Calciumleitfähigkeiten durch Cobalt oder eine Veränderung der extrazellulären Kalium-Konzentration Einfluß hatten und nur TTX zu einer Unterdrückung der Oszillationen führte.

Die ersten Messungen, die systematisch das Resonanzverhalten der neuronalen Impedanz untersuchten, wurden von Puil *et al.* an Neuronen des trigeminalen Wurzelganglions von Meerschweinchen, zum Teil auch *in vivo*, durchgeführt [123, 124, 125]. Dabei konnte in über 70 % der Zellen Resonanz bei Ruhemembranpotential zwischen -65 mV und -55 mV im Impedanzspektrum festgestellt werden. Die Frequenzen lagen zwischen 66 Hz und 312 Hz mit einer Durchschnittsfrequenz von 159 Hz (T: 37°C). Veränderungen des Haltepotentials führten bei Hyperpolarisation zu einer Impedanzzunahme vor allem im Frequenzbereich unterhalb der Resonanzfrequenz, so daß es schließlich zu einem Verschwinden der Resonanz kam. Ebenso schwächten leichte Depolarisationen die Resonanzstärke ab. Dabei stieg die Resonanzfrequenz mit Depolarisation an, während Hyperpolarisation sie reduzierte. Die pharmakologischen Untersuchungen wurden *in vitro* durchgeführt. Hier hatte TTX bei keinem Membranpotential Einfluß auf die Resonanz. Hemmung von Kaliumleitfähigkeiten durch TEA führte zu einer Depolarisierung, einer deutlichen Impedanzzunahme und einem Verschwinden der Resonanz, so daß bei diesen Neuronen nicht genauer spezifizierte Kaliumströme für die Entwicklung der Membranresonanz verantwortlich gemacht wurden. In Neuronen von dorsalen Wurzelganglien der Ratte fanden Amir *et al.* [7] unterschwellige Membranpotentialoszillationen *in vitro*. Sie konnten vier Zelltypen mit unterschiedlichem Verhalten unterscheiden. Neurone vom Typ A (12 %) und Typ  $A_0$  (17 %) zeigten bei Ruhemembranpotential ( $\sim -60$  mV) Oszillationen, mit einer Durchschnittsfrequenz von

$96 \pm 18$  Hz (78 - 127 Hz) beziehungsweise  $124 \pm 44$  Hz (68 - 195 Hz) und Amplituden von  $1 \pm 1$  mV. Depolarisation bis -50 mV erhöhte die Häufigkeit des Auftretens in diesen beiden Neuronentypen auf 27 % bzw. 35 %, wobei die Frequenz der Oszillationen leicht zunahm. Badapplikation von TTX beziehungsweise Lidocain oder Reduktion der extrazellulären Natrium-Konzentration brachte die Oszillationen zum Verschwinden, wohingegen Cobalt keine Wirkung zeigte. Als Ursache für die Membranpotentialoszillationen nennen die Autoren den persistierenden Natriumstrom oder den sogenannten Natrium-Fenster-Strom in Verbindung mit einem Kaliumauswärtsstrom (evtl. Leck-Strom).

Wu und Chandler [181] untersuchten sowohl Membranpotentialoszillationen als auch Impedanzresonanzen in peripheren Neuronen der Ratte. Sie zeigten, daß erst ab Tag 7 nach der Geburt Membranpotentialoszillationen zu finden waren, deren Frequenz mit dem Alter zunahm. Ab dem 14. postnatalen Tag hatten die Membranpotentialoszillationen eine Frequenz von  $91 \pm 16$  Hz (74 - 121 Hz; T: 22°C - 24°C), die allerdings erst durch Depolarisation vom Ruhemembranpotential ( $-63 \pm 3$  mV) auf Meßpotentiale positiv von -60 mV auftraten. Dabei nahm in einem schmalen Membranpotentialfenster die Amplitude und die Frequenz der Oszillationen zu. Bei der Membranresonanz zeigte sich eine ähnliche Spannungsabhängigkeit: Sowohl die Frequenz als auch die Qualität der Resonanz nahmen mit Depolarisation zu, wobei die Resonanzfrequenz Werte von 20 Hz bis 135 Hz (T: 22°C - 24°C) erreichte und der Qualitätsfaktor<sup>1</sup> um den Faktor 10 anstieg. Beide Phänomene ähneln sich auch in ihrer pharmakologischen Modulierbarkeit:

Blockierung der synaptischen Übertragung und Badapplikation von Cadmium hatte keinen Effekt. TEA reduzierte die Frequenz der Membranpotentialoszillation um  $26 \pm 4$  % (120 Hz auf 90 Hz) und die Resonanzfrequenz um 50 % ( $104 \pm 20$  Hz auf  $54 \pm 18$  Hz) ohne Einfluß auf den Q-Wert. TTX blockierte die Oszillationen und reduzierte die Resonanzfrequenz (-34 %) und den Q-Wert (-50 %) deutlich. 4-AP führte in einem Teil der Neuronen zu einer starken Reduktion (-70 %) von Amplitude und Frequenz der Oszillationen und ließ sie in anderen Zellen ganz verschwinden. Außerdem war bei den Zellen, die auf ihr Impedanzverhalten untersucht wurden, keine Resonanz mehr festzustellen. Wu und Chandler sehen daher als Ursache für beide Phänomene einen 4-AP-sensitiven, nicht-inaktivierenden Kaliumauswärtsstrom<sup>2</sup>, der vom persistierenden Natriumstrom verstärkt wird.

Lit.	Frequenzen	Spannungsabhängigkeit	Mechanismus
[31]	10 - 50 Hz	f: Zunahme mit Depolarisation	nur TTX-sensitiv
[7]	70 - 200 Hz	f: Zunahme mit Depolarisation	$I_{NaP} + K^+$ -Strom
[181]	$\sim 90$ Hz	f: Zunahme mit Depolarisation	TTX und 4-AP-sensitiv

Tabelle 2.1: **Peripheres Nervensystem 1.** Membranpotentialoszillationen.

<sup>1</sup>Q-Wert vgl. Kap. 7.3

<sup>2</sup>nicht näher spezifiziert

Lit.	Frequenzen	Spannungsabhängigkeit	Mechanismus
[123, 124, 125]	$\sim 160$ Hz	f: Zunahme mit Depolarisation Q: Abnahme mit Depolarisation	nur TEA-sensitiv
[181]	20 - 135 Hz	f: Zunahme mit Depolarisation Q: Zunahme mit Depolarisation	nur TEA-sensitiv

Tabelle 2.2: Peripheres Nervensystem 2. Impedanzresonanz.

## 2.2 Hirnstamm

In inspiratorischen und expiratorischen Neuronen der Medulla oblongata der Katze wurden *in vivo* hochfrequente, nichtspannungsabhängige spontane Membranpotentialoszillationen ( f: 58 Hz; 50 - 100 Hz; T:  $38 \pm 0.5^\circ\text{C}$ ) mit einer Amplitude von 2 - 3 mV [56] gefunden. Der Olivenkernkomplex ist, was rhythmische Aktivität betrifft, die wichtigste Struktur in der Medulla oblongata. Lampl *et al.* [85, 86], Llinas *et al.* [92] und Yarom [182] konnten in mehreren Studien zeigen, daß ca. 10 % der untersuchten Neuronen des Olivenkernkomplexes von Meerschweinchen *in vitro* bereits bei Ruhemembranpotential ( $-61 \pm 10$  mV) unterschwellige Membranpotentialoszillationen aufwiesen. Diese waren vom Membranpotential unabhängig und hatten eine Durchschnittsfrequenz von  $3.6 \pm 1.2$  Hz (3 - 9 Hz; T:  $33^\circ\text{C}$  -  $34^\circ\text{C}$ ) und Amplituden um 3 mV. Bei simultanen Ableitungen zweier Neurone in einem Hirnschnitt wurden synchrone, in Phase und Frequenz identische Oszillationen festgestellt. Die Membranpotentialoszillationen waren weder durch TTX noch durch Blockierung der GABAergen und glutamatergen synaptischen Transmission zu beeinflussen. Allerdings blockierten sowohl Cobalt und Cadmium als auch der unspezifische Gap-Junction-Blocker Octanol die Oszillationen. Da bekannt ist, daß olivare Neurone stark elektrisch gekoppelt sind, schließen die Autoren aus diesen pharmakologischen Untersuchungen, daß die Membranpotentialoszillationen über Gap Junctions vermittelt und von einem Calciumstrom (T-Typ) oder eventuell von einem durch Calcium aktivierten Kaliumstrom unterstützt werden.

Lampl *et al.* [86] untersuchten das Resonanzverhalten der Impedanz von Neuronen des Olivenkernkomplexes. Dabei konnten in fast allen Neuronen Resonanz bei Ruhemembranpotential ( $-61 \pm 10$  mV) festgestellt werden, deren Durchschnittsfrequenz bei  $5.3 \pm 1.8$  Hz lag. Eine Veränderung des Meßpotentials führte in 56 % der Neuronen zu einer spannungsabhängigen Zunahme der Frequenz mit Hyperpolarisation, wobei die Autoren eine lineare Steigung mit  $-0.132 \pm 0.074 \frac{\text{Hz}}{\text{mV}}$  feststellen. In den verbleibenden 44 % der Zellen blieb die Frequenz allerdings konstant. Der Impedanzwert bei der Resonanzfrequenz ( $Z_{max}$ ) nahm sowohl bei De- als auch bei Hyperpolarisation vom Ruhemembranpotential aus ab. Ähnlich wie bei den Membranpotentialoszillationen zeigte TTX keine Wirkung, Cäsium dagegen führte zu einer allgemeinen Impedanzzunahme bei allen Frequenzen. Nickel, Cobalt und Octanol verminderten den  $Z_{max}$ -Wert deutlich und bewirkten so eine Verschlechterung der Resonanz. Octanol hatte zusätzlich eine frequenzerhöhende Wirkung<sup>3</sup>. Obwohl die Resonanz nicht vollständig durch diese Calciumkanalantagonisten unterdrückt werden konnte, führten die Autoren den T-Typ- $\text{Ca}^{2+}$ -Strom als Ursache für die Resonanz an. Der enge Zu-

<sup>3</sup>von  $\sim 5$  Hz auf  $\sim 10$  Hz

sammenhang von Impedanzresonanz und Membranpotentialoszillationen wurde zusätzlich in 3 Neuronen bestätigt, die beide Phänomene zeigten und bei denen die Resonanz- und Oszillationsfrequenz identisch waren. In einer Versuchsreihe wurde die Temperaturabhängigkeit der Membranpotentialoszillationen und Impedanzresonanz untersucht. Yarom und Lampl fanden für beide Phänomene eine lineare Zunahme der Frequenz bei schrittweiser Erhöhung der Temperatur von 26°C auf 32°C ( $f_{max}^R: 0.3 \pm 0.8 \frac{Hz}{^\circ C}$ ;  $f_{max}^S: 0.26 \frac{Hz}{^\circ C}$ ).

Bal und McCormick [12] fanden in den gleichen Zellen zusätzlich eine Cäsium-sensitive Komponente der Membranpotentialoszillationen und schlossen auf eine Beteiligung des durch Hyperpolarisation aktivierten Kationenstroms, des sogenannten H-Stroms.

Placantonakis *et al.* [120, 121] untersuchten Membranpotentialoszillationen im Olivenkernkomplex von juvenilen Ratten und konnten zwei Oszillationstypen unterscheiden: Die spontan auftretenden Oszillationen waren Serotonin-sensitiv, was auf dessen hemmende Wirkung auf den T-Calciumstrom zurückgeführt wurde. Diese spontanen Membranpotentialoszillationen konnten häufiger als in anderen Untersuchungen des Olivenkernkomplexes gefunden werden ( $\sim 50\%$ ), mit nicht-spannungsabhängigen Frequenzen zwischen 0.8 Hz und 8.9 Hz ( $f: 5.1 \pm 0.3$  Hz; T:  $35 \pm 1$  °C) und sehr großen Amplituden ( $\sim 10$  mV). Der zweite Oszillationstyp wurde durch NMDA-Applikation induziert und konnte durch nicht-kompetitive NMDA-Rezeptor-Antagonisten wie Dizocilpin, Ketamin oder L-689 blockiert werden. Interessanterweise hatte der kompetitive NMDA-Rezeptor-Antagonist APV keine Wirkung auf die Oszillationen. Dieser NMDA-induzierte Oszillationstyp unterschied sich in Form und Frequenz ( $f: 4.1 \pm 0.2$  Hz) signifikant vom spontanen Typ, genauso wie in dessen Sensitivität auf Ionenkanal- und Rezeptorantagonisten, so daß die Autoren hier von einem zweiten unabhängigen Oszillationsmechanismus sprechen.

Auch im Bereich der Pons wurden Membranpotentialoszillationen gefunden. Tegmentale Neurone der Ratte [164] zeigten TTX-sensitive Oszillationen des Membranpotentials, die im unterschweligen Bereich (-60 mV bis -50 mV) eine nicht-spannungsabhängige Frequenz von circa 12 Hz<sup>4</sup> hatten. Aufgrund der Sensitivität gegenüber TTX machen die Autoren den persistierenden Natriumstrom für die Generierung der Oszillationen verantwortlich. Weitere Depolarisation unter TTX-Wirkung führten zwischen -48 mV und -36 mV zu erneuten, Cadmium- aber nicht Nickel-sensitiven Oszillationen mit Frequenzen um 9 Hz, die mit zunehmender Depolarisation anstiegen. Neben Cadmium führte auch Calcium-freie extrazelluläre Lösung zur Unterdrückung der Spannungsoszillationen. Sowohl der Spannungsbereich als auch die Pharmakologie dieser Oszillationen sprechen für eine Beteiligung von N/L-Typ Calciumkanälen bei deren Generierung.

Ebenfalls im Bereich der Pons wurden in A5-Neuronen der *Formatio reticularis* von juvenilen (P5 - P10) Ratten spontane Membranpotentialoszillationen gefunden [55]. Die Oszillationen traten in Membranpotentialbereichen zwischen -58 mV und -65 mV mit Frequenzen unter 6 Hz (0.5 - 2 Hz; T: 22°C) auf. TTX führte nur zu einer Abschwächung der Membranpotentialoszillationen. Erst die Reduktion der extrazellulären Natrium-Konzentration blockierte die Oszillationen. Für die Generierung der Membranpotentialoszillationen wurden daher ein TTX-insensitiver Natriumstrom verantwortlich gemacht, der entweder durch Natriumkanäle im persistierenden Modus oder durch den sogenannten Natrium-Fensterstrom vermittelt wird.

---

<sup>4</sup>ohne Temperaturangabe

Lit.	Frequenzen	Spannungsabhängigkeit	Mechanismus
[56]	$\sim 60$ Hz	f: ?	?
[92, 182, 85, 86]	$\sim 4$ Hz	f: nicht spannungsabhängig	$I_T$ + Gap J. evtl. $I_H$
[121, 120]	a. $\sim 5$ Hz b. $\sim 4$ Hz	a. f: nicht spannungsabhängig b. f: ?	$I_T$ + $I_{N/L}$ $I_{NMDA}$
[164]	$\sim 12$ Hz	f: nicht spannungsabhängig	$I_{NaP}$
[55]	$< 6$ Hz	f: ?	TTX-insensitiver $I_{Na}$

Tabelle 2.3: **Hirnstamm 1.** Membranpotentialoszillationen.

Lit.	Frequenzen	Spannungsabhängigkeit	Mechanismus
[86]	$\sim 5$ Hz	f: Zunahme mit Hyperpolarisation Q: Maximum bei RMP (-60mV)	$I_T$

Tabelle 2.4: **Hirnstamm 2.** Impedanzresonanz.

## 2.3 Dienzephalon

Im Dienzephalon hat für die neuronale Rhythmik vor allem der Thalamus eine herausragende Bedeutung. In thalamischen Neuronen sind in erster Linie die zu rhythmischen Aktionspotentialentladungen führenden Membranpotentialoszillationen untersucht worden, die Steriade und McCormick als Grundlage für einige EEG-Wellen des Schlafs identifizierten [87, 115, 145, 153]. Diese niederfrequenten ( $\sim 2$  Hz) Oszillationen werden durch ein Zusammenspiel des T-Calciumstroms, H-Stroms und Calcium-aktivierter Kaliumströme generiert und hängen stark vom Membranpotential der Zelle ab.

Aber auch Untersuchungen zum Impedanzverhalten wurden an thalamischen Neuronen durchgeführt. Ströhmman *et al.* [154] konnten in Neuronen des auditorischen Thalamus des Huhns Resonanzen bei Ruhemembranpotential ( $-60 \pm 2$  mV) mit einer durchschnittlichen Frequenz von  $5.6 \pm 0.4$  Hz (2 - 12 Hz; T:  $34^\circ\text{C}$ ) finden. Im Gegensatz zur Frequenz war die Resonanzqualität (Q-Wert) spannungsabhängig, wobei der Qualitätsfaktor mit Hyperpolarisation zu- beziehungsweise mit Depolarisation abnahm. TTX hatte auf die Resonanzfrequenz keinen Einfluß, reduzierte aber den Qualitätsfaktor bei Membranpotentialen positiv von -65 mV. 4-AP, TEA und Nickel veränderten die Resonanzeigenschaften nicht, wohingegen Cäsium, vor allem im Frequenzbereich unterhalb der Resonanzfrequenz, zu einer Impedanzzunahme führte und so die Resonanz zum Teil ganz unterdrückte. Außerdem nahm die Resonanzfrequenz deutlich ab. Die Autoren sehen daher den H-Strom als Ursache der Impedanzresonanz, die vom persistierenden Natriumstrom verstärkt wird. Strohmman, *et al.* [155] stellen die Hypothese auf, daß die Resonanzfrequenz aufgrund der unterschiedlichen Expressionsstärke des H-Kanals von der neuronalen Verarbeitungsebene des untersuchten Neurons abhängig ist. Sie zeigten, daß auf dem auditorischen Weg durch das Nervensystem des Huhns die Resonanzfrequenz mit Anstieg der Verarbeitungsebene abnimmt: Auf sensorischer Ebene ist die Resonanzfrequenz  $\sim 100$  Hz, im Olivenkernkomplex  $\sim 50$  Hz, im Thalamus  $\sim 10$  Hz und im auditorischen Kortex war keine Resonanz mehr zu finden (0 Hz).

Dagegen können Jahnsen und Karnup [66] in einer vergleichenden Studie zum Impedanzverhalten von Neuronen des Thalamus, Hippokampus und Neokortex von Meerschweinchen keine wesentlichen Unterschiede der Resonanzfrequenzen feststellen.

Tennigkeit, *et al.* [168, 169, 167] fanden im auditorischen Thalamus der Ratte Impedanzresonanzen der Neurone, die sich von denen des Huhns zu unterscheiden scheinen. Resonanz konnte nur bei Ruhemembranpotential ( $\sim -65$  mV) und hyperpolarisierten Haltepotentialen gemessen werden. Depolarisation führte zur Unterdrückung der Resonanz, da die Impedanz im unteren Frequenzbereich ( $< 20$  Hz) deutlich abnahm. Die Resonanzfrequenz war dagegen nicht spannungsabhängig und lag bei  $\sim 1$  Hz (T:  $21^\circ\text{C} - 25^\circ\text{C}$ ). Temperaturerhöhung auf  $35^\circ\text{C}$  verdoppelte die Frequenz auf  $\sim 2$  Hz, was aber immer noch deutlich unter den in Neuronen des Huhns gemessenen Werten liegt. Auch beim zugrundeliegenden Generierungsmechanismus unterscheiden sich die Ergebnisse. TTX führte erneut nur zu einer Abschwächung der Resonanzqualität (um bis zu 40 %) ohne Einfluß auf die Frequenz. Unterdrückung der Resonanz erfolgte durch Applikation von Nickel oder Calcium-freie extrazelluläre Lösung, wohingegen 4-AP, Barium und auch Cäsium die Resonanzgröße, durch eine Zunahme der Impedanz vor allem unterhalb der Resonanzfrequenz, nur schwächten. Die Autoren schlossen daraus, daß die Impedanzresonanz von Neuronen des auditorischen Thalamus der Ratte vom T-Calciumstrom verursacht und vom persistierenden Natriumstrom beziehungsweise von einwärtsgerichteten Kaliumströmen und dem A-Strom moduliert wird.

Dies scheint der häufigere Mechanismus der thalamischen Impedanzresonanz bei Säugetieren zu sein, da auch Puil *et al.* [126] und Hutcheon *et al.* [61] zu einem ähnlichen Ergebnis in Neuronen des auditorischen Thalamus von Meerschweinchen kommen. Sie fanden Impedanzresonanzen bei Ruhemembranpotential ( $-66 \pm 8$  mV) im Bereich von 2 - 4 Hz (T:  $34^\circ\text{C}$ ), deren Qualität mit Hyperpolarisation zunahm und die Nickel- und Octanol-sensitiv waren, aber von Cäsium nicht verändert wurden. Außerdem fanden sie noch einen zweiten höherfrequenten Resonanztyp, der erst durch Depolarisierung des Membranpotentials auftrat, dessen Frequenz mit Depolarisierung von 12 Hz auf 26 Hz zunahm und der nach TTX-Applikation verschwand.

In neurosekretorischen Zellen der Hypophyse im Hypothalamus wurden spontane Membranpotentialoszillationen gefunden. Magnozelluläre hypothalamische Neurone des Nucleus supraopticus der Ratte [18, 91] entwickeln 7 bis 12 mV negativ von der Entladungsschwelle breitbandige, unterschwellige Membranpotentialoszillationen im Frequenzbereich von 10 bis 70 Hz (f:  $47 \pm 14$  Hz), die intrinsisch generiert wurden, da weder Blockierung der synaptischen Transmission noch elektrische Entkoppelung durch Heptanol sich auf die Oszillationen auswirkten. Dagegen waren sie sowohl TTX- als auch TEA-sensitiv. Andere Ionenkanalblocker wie Cadmium, Apamin, 4-AP, Charybdotoxin und Iberiotoxin ( $I_{Ca_K}$ -Blocker), Carbachol, Cäsium oder Barium hatten keinen Einfluß auf die Membranpotentialoszillationen. Die nach TTX-Applikation durchgeführte Depolarisation auf durchschnittlich -32 mV erzeugte teilweise erneut Oszillationen des Membranpotentials mit einer Frequenz von  $35 \pm 10$  Hz, die Cadmium-sensitiv waren. Für die unterschweligen Oszillationen machen die Autoren einen nicht-inaktivierenden Natriumstrom ( $I_{Na_P}$  oder  $I_{Na_W}$ ) im Zusammenspiel mit einem neu-postulierten TEA-sensitiven Kaliumauswärtsstrom verantwortlich.



Lit.	Frequenzen	Spannungsabhängigkeit	Mechanismus
[87]	$\sim 2$ Hz	f: ?	$I_T \leftrightarrow I_H$
[18, 91]	$\sim 50$ Hz	f: ?	TTX- und TEA-sensitiv

Tabelle 2.5: **Zwischenhirn 1.** *Membranpotentialoszillationen.*

Lit.	Frequenzen	Spannungsabhängigkeit	Mechanismus
[154]	$\sim 6$ Hz	f: nicht spannungsabhängig Q: Zunahme mit Hyperpolarisation	$I_H + I_{NaP}$
[168, 169, 167]	$\sim 1$ Hz	f: nicht spannungsabhängig Q: ?	$I_T + I_{NaP} + I_A + Kir$
[154]	2 - 4 Hz	f: nicht spannungsabhängig Q: Zunahme mit Hyperpolarisation	$I_T + I_{NaP}$

Tabelle 2.6: **Zwischenhirn 2.** *Impedanzresonanz.*

## 2.4 Telenzephalon

Im Telenzephalon ist vor allem die hippokampale Region mit ihren umgebenden Ein- und Ausgangsgebieten auf ihr unterschwelliges elektrisches Verhalten untersucht worden.

In Subiculumneuronen der Ratte haben Mattia *et al.* [105] unterschwellige Membranpotentialoszillationen in 20 von 91 Zellen gefunden, die nach Depolarisation des Membranpotentials auf -60 mV bis -50 mV auftraten. Die Frequenz der Oszillationen lag bei  $5.3 \pm 1.1$  Hz (4 - 9 Hz; T:  $33 \pm 1^\circ\text{C}$ ). Blockierung der synaptischen Transmission und Applikation von Cäsium hatte keinen Einfluß auf die Oszillationen. Cobalt und Cadmium führten zu einer leichten Frequenzerniedrigung, aber nur TTX ließ die Membranpotentialoszillationen verschwinden.

Auch im basolateralen und lateralen Bereich der Amygdala von Meerschweinchen konnten in 94 % der Zellen intrinsisch generierte Membranpotentialoszillationen gefunden werden [117, 118]. Es zeigten sich dabei zwei, in unterschiedlichen Membranpotentialbereichen auftretende Arten von Oszillationen. Der unterschwellige Typ trat in einem Potentialfenster zwischen -60 mV und der Entladungsschwelle mit einer durchschnittlichen nicht-spannungsabhängigen Frequenz von  $2.3 \pm 1.1$  Hz (0.5 - 9 Hz; 80 %: 1 - 3.5 Hz; T:  $36 \pm 1^\circ\text{C}$ ) auf und war TTX-, Barium- und Carbachol-sensitiv. Cobalt und eine Entfernung des extrazellulären Calciums hatten keinen Einfluß, was genauso für 4-AP, Iberiotoxin, Apamin, Cäsium und TEA galt. Der zweite Oszillationstyp konnte nach Applikation von TTX bei Membranpotentialen zwischen -40 mV und -20 mV mit etwas höheren Frequenzen ( f:  $5.8 \pm 1.1$  Hz; 1 - 7 Hz; 80 % : 2 - 6 Hz) beobachtet werden. Diese Oszillationen reagierten empfindlich auf Veränderungen der extrazellulären Calcium-Konzentration und die Applikation von Cobalt, Barium und TEA. Durch Voltage-Clamp Messungen konnten für die Potentialbereiche, in denen die beiden Oszillationstypen auftraten, negative Steigungen der Strom-Spannungskennlinie nachgewiesen werden. In einer ergänzenden Studie führten die Autoren Impedanzuntersuchungen in Neuronen des gleichen Bereichs der Amygdala durch [117]. Sie konnten Resonanzen in den Impedanzspektren nur durch De-

polarisation nahe an die Entladungsschwelle ( $\sim -53$  mV) feststellen. Die Resonanzfrequenz lag bei  $2.4 \pm 1$  Hz. Die Resonanzqualität wurde durch TTX um  $\sim 30$  % reduziert und durch Barium völlig unterdrückt. Dagegen zeigten Cäsium, TEA und 4-AP keine Wirkung. Für die Impedanzresonanz und die unterschwelligigen Membranpotentialoszillationen machen die Autoren das Zusammenspiel zwischen dem M-Strom und dem persistierenden Natriumstrom verantwortlich. Die hochschwelligigen Oszillationen sollen durch nicht näher spezifizierte Kalium- und Calciumströme generiert werden.

In CA1/CA3 Neuronen des Hippokampus der Ratte fanden Yim und Leung [88] Membranpotentialoszillationen, die nach Depolarisation des Membranpotentials an die Entladungsschwelle entstanden. Die Oszillationsfrequenz nahm mit Depolarisation zu und lag bei 2 - 10 Hz ( $T = 32^\circ\text{C}$ ). Blockierung der synaptischen Transmission, Applikation von Cadmium, Barium, Cäsium, 4-AP oder Reduktion der extrazellulären Calcium-Konzentration wirkten sich nicht auf die Oszillationen aus. Dagegen verschwanden sie nach Applikation von TTX, QX-314 (intrazellulär) oder Reduktion der extrazellulären Natrium-Konzentration. Wiederum traten bei weiterer Depolarisation unter TTX-Wirkung zum Teil neue, Cadmium-sensitive Oszillationen mit etwas niedriger Frequenz ( $< 5$  Hz) auf.

Zu ähnlichen Ergebnissen kamen Psarropoulou und Avoli in CA1-Neuronen des Hippokampus [122]. Sie fanden in 72 % der Zellen spontane spannungsabhängige Membranpotentialoszillationen mit Frequenzen<sup>5</sup> zwischen 3 - 15 Hz ( $-50$  mV:  $f: 7.8 \pm 0.6$  Hz), die TTX-sensitiv waren und nach Applikation von Cobalt ihre Frequenz reduzierten.

Neben diesen intrinsisch generierten, unterschwelligigen Membranpotentialoszillationen konnten andere Gruppen auch Gap Junction-vermittelte Oszillationen des Membranpotentials in hippokampalen Neuronen identifizieren [35, 71].

Pike *et al.* [119] führte an CA1-Neuronen des Hippokampus der Ratte Impedanzuntersuchungen durch. Sie fanden dabei verschiedenes, vom Neuronentyp abhängiges Resonanzverhalten. Pyramidenzellen zeigten bei Ruhemembranpotential ( $-62 \pm 1$  mV) eine Impedanzresonanz im Bereich von 2 - 12 Hz<sup>6</sup> ( $f: 4.1 \pm 0.4$  Hz). Sogenannte fast-spiking Interneurone hatten bei Ruhemembranpotential ( $-58 \pm 1$  mV) ein Maximum im Impedanzspektrum bei 10 - 50 Hz ( $f: 26 \pm 5$  Hz) und horizontale Interneurone waren im Bereich von 1 - 5 Hz ( $f: 2.4 \pm 0.5$  Hz; RMP:  $-65 \pm 2$  mV) resonant. TTX-Applikation konnte die Resonanz der fast-spiking Interneurone unterdrücken, blieb aber bei den anderen Zellen ohne Wirkung.

Eine wichtige Umschaltstation des allokortikalen Bereichs ist der entorhinale Kortex. In Neuronen des entorhinalen Kortex konnten Agrawal *et al.* [4], Alonso *et al.* [5], Dickson *et al.* [33], Klink *et al.* [78, 79] und White *et al.* [177] intrinsisch generierte, unterschwellige Membranpotentialoszillationen nachweisen. In etwa 80 % der Sternzellen der Schicht II traten Oszillationen bei Membranpotentialen zwischen  $-59$  mV und  $-54$  mV auf, die in Nicht-Stern-Zellen nicht zu beobachten waren. Die Oszillationsfrequenz lag bei 5 - 12 Hz ( $f: 8.2$  Hz [5] bzw.  $9.2$  Hz [79];  $T: 35^\circ\text{C}$ ) und zeigte eine deutliche Temperaturabhängigkeit ( $f: 3.1$  Hz [33];  $T: 24^\circ\text{C}$ ). Da sowohl TTX als auch ZD7288 die Oszillationen unterdrückten, wird ein Zusammenspiel zwischen persistierendem Natriumstrom und dem H-Strom als Generierungsmechanismus vorgeschlagen, auch wenn sich einige ihrer Veröffentlichungen widersprechen. So war in einer Versuchsreihe [78] auch Barium und TEA in der Lage,

---

<sup>5</sup>ohne Temperaturangabe

<sup>6</sup>ohne Temperaturangabe

die Oszillationen des Membranpotentials zu beenden. In einer späteren Veröffentlichung [33] dagegen reduzierte Barium zwar die Frequenz, erhöhte aber die Amplitude der Oszillationen. Außerdem modulierten Cobalt und Cadmium die Frequenz (Reduktion um 15 - 40 %), so daß wohl auch Calciumströme berücksichtigt werden müssen.

Heinemann *et al.* [36, 135] finden beim Vergleich von Neuronen der Schicht II mit Neuronen aus den Schichten IV-VI des entorhinalen Kortex der Ratte *in vitro* sehr ähnliche Membranpotentialoszillationen bei Haltepotentialen bis -50 mV (Schicht II:  $8.1 \pm 0.7$  Hz; Schichten IV-VI:  $10.4 \pm 1.1$  Hz). Bei weiterer Depolarisierung über die Entladungsschwelle hinaus wurden die Membranpotentialfluktuationen in sehr kurzen Interspike-Intervallen analysiert. Dabei zeigte sich bei Neuronen aller Schichten ein Anstieg der Oszillationsfrequenz (Schicht II:  $20.4 \pm 1.8$  Hz; Schichten IV-VI:  $22.8 \pm 1.7$  Hz).

Eine Untersuchung von Heinemann *et al.* in Neuronen des perirhinalen Kortex [135] zeigte, daß die dort gefundenen Membranpotentialoszillationen denen im entorhinalen Kortex sehr ähnlich sind ( f:  $8.6 \pm 0.6$  Hz; T:  $34^\circ\text{C}$ ).

Lit.	Frequenzen	Spannungsabhängigkeit	Mechanismus
[105]	$\sim 5$ Hz	f: ?	TTX-sensitiv
[117, 118]	$\sim 2$ Hz	f: nicht spannungsabhängig	$I_M + I_{NaP}$
[88]	2 - 10 Hz	f: Zunahme mit Depolarisation	$I_{NaP}$
[122]	3 - 15 Hz	f: Zunahme mit Depolarisation	TTX-sensitiv
[4, 5]	$\sim 8$ Hz	f: ?	$I_H + I_{NaP}$

Tabelle 2.7: **Großhirn 1.** Membranpotentialoszillationen.

Lit.	Frequenzen	Spannungsabhängigkeit	Mechanismus
[117, 119]	$\sim 2$ Hz	f: nicht spannungsabhängig Q: ?	$I_M + I_{NaP}$
[119]	10 - 50 Hz	f: nicht spannungsabhängig Q: ?	TTX-sensitiv

Tabelle 2.8: **Großhirn 2.** Impedanzresonanz.

### 2.4.1 Neokortex

Der Neokortex von Säugetieren ist insbesondere was Impedanzuntersuchungen betrifft, der am wenigsten erforschte Gehirnbereich.

Im visuellen Kortex der Ratte bzw. Katze [173] wurden *in vivo* hochfrequente Membranpotentialoszillationen gemessen, die allerdings auf synaptische Ereignisse zurückzuführen waren. Singer *et al.* [10] fanden in bestimmten Neuronen (sog. „chattering cells“) des visuellen Kortex der Katze *in vivo* intrinsisch generierte, überschwellige „ $\gamma$ -Oszillationen“ (25-70 Hz), wobei die Impedanz dieser Zellen monoton mit der Frequenz abnahm und damit kein von 0 Hz verschiedenes Maximum (Resonanz) besaßen.

In Pyramidenzellen der Schicht V des somatosensorischen Kortex der Ratte fanden Silva *et al.* [141] unterschwellige Membranpotentialoszillationen, die auch bei Unterbindung der synaptischen Transmission nach Depolarisation bis nahe an die Entladungsschwelle mit Frequenzen zwischen 5 Hz und 9 Hz auftraten und durch TTX unterdrückt wurden.

Amitai [8] untersuchte im somatosensorischen Kortex Membranpotentialoszillationen, die nach folgendem experimentellem Verfahren zu beobachten waren: Das Membranpotential wurde langanhaltend depolarisiert, bis es zu Spike-Inaktivierung kam. Daraufhin wurde das Haltepotential leicht hyperpolarisiert bis das Membranpotential zu oszillieren begann. In 69 % der so behandelten Neuronen zeigten sich in einem schmalen Membranpotentialfenster zwischen -45 mV und -55 mV Oszillationen mit spannungsabhängiger Frequenz von 7 Hz bis 40 Hz (T: 35°C - 36°C), die TTX-sensitiv waren und durch Cobalt ihre Frequenz und Amplitude verkleinerten.

Impedanzuntersuchungen an Pyramidenzellen der Schichten I-V des somatosensorischen Kortex von juvenilen (P4 - P19) Ratten von Hutcheon *et al.* [59, 60] zeigten in 32 von 59 Neuronen<sup>7</sup> Resonanzen bei Ruhemembranpotential ( $\sim -70$  mV) mit einer Resonanzfrequenz von  $1.3 \pm 0.4$  Hz (0.7 - 2.5 Hz; T: 24°C - 26°C) und einem Qualitätsfaktor von  $40 \pm 30$ . Die Veränderung des Haltepotentials offenbarte eine Spannungsabhängigkeit der Impedanzgröße vor allem bei Frequenzen unter 20 Hz. Depolarisation führte zu einer Impedanzzunahme und somit zu einem Ansteigen der Resonanzqualität, ohne daß sich die Resonanzfrequenz signifikant veränderte. TTX-Applikation führte bei Depolarisation zu einer Abnahme der Resonanzfrequenz und -qualität. Keine Wirkung auf die Impedanzen hatte TTX bei Membranpotentialen negativ von -75 mV, im Gegensatz zu Barium, das vor allem bei solch hyperpolarisierten Potentialen zu einer allgemeinen Impedanz- und Resonanzqualitätszunahme und einer Reduktion der Resonanzfrequenz führte. Die Applikation von Cäsium, auch in Kombination mit Barium, resultierte in einer Unterdrückung des Resonanzverhaltens der Zellen. Hutcheon *et al.* schlossen daraus, daß diese kortikale Membranresonanz vom H-Strom generiert und in den jeweiligen Potentialbereichen vom persistierenden Natriumstrom verstärkt beziehungsweise von einwärtsgerichteten Kaliumkanälen gedämpft wird.

In Pyramidenzellen der Schicht V des frontalen Kortex von Meerschweinchen fanden Llinas und Yarom [94] Membranpotentialoszillationen mit einer spannungsabhängigen Frequenz von 10 Hz bis 45 Hz (T: 37°C). Dabei zeigten 18 von 37 Neuronen diese Oszillationen bereits bei Ruhemembranpotential ( $\sim -63$  mV), bei den anderen 19 Zellen traten sie erst nach Depolarisation des Membranpotentials, zum Teil bis auf -45 mV, auf. Bei solch positiven Membranpotentialen konnten nur noch Interspikephasen des Membranpotentials analysiert werden. Die beobachteten Fluktuationen des Membranpotentials deuteten die Autoren als eigenen, nicht-spannungsabhängigen ( $f: 44.7 \pm 4.6$  Hz) Oszillationstyp, obwohl auch diese Oszillationen nach TTX-Applikation verschwanden.

Auch Gutfreund *et al.* [47] untersuchten Membranpotentialoszillationen in Pyramidenzellen des frontalen Kortex. Sie stellten fest, daß circa 50 % der Zellen nach Depolarisation des Membranpotentials, zum Teil auch über die Entladungsschwelle hinaus, spannungsabhängige Oszillationen zeigten, die linear mit der verwendeten Stromstärke von 4 Hz auf bis zu 27 Hz anstiegen ( $8.6 \pm 0.6 \frac{\text{Hz}}{\text{nA}}$ ; T: 34°C). Neben TTX unterdrückte auch die gemeinsame Applikation von TEA, Cobalt, Nickel und Cäsium die Oszillationen. Die-

---

<sup>7</sup>ohne altersabhängige Unterscheidung

ser „breitbandige“ Antagonistencocktail erschwert allerdings doch eine Analyse der verantwortlichen Ionenmechanismen. Außerdem führten sie Impedanzuntersuchungen in 30 anderen Neuronen des frontalen Kortex durch. Es zeigte sich eine spannungsabhängige Veränderung des Resonanzverhaltens der Zellen. Bei Ruhemembranpotential ( $-66 \pm 9$  mV) lag das Impedanzmaximum bei etwa 3 Hz. Depolarisation, erneut auch über die Entladungsschwelle hinaus, führte zu einer angeblich<sup>8</sup> linearen ( $0.3 \pm 0.1 \frac{\text{Hz}}{\text{mV}}$ ) Zunahme der Resonanzfrequenz auf bis zu 12 Hz. Neben der Frequenzzunahme hatte Depolarisation des Membranpotentials eine Abnahme der Impedanzgröße bei niedrigen Frequenzen und damit eine Zunahme des Qualitätsfaktors zur Folge. Die Impedanzresonanz ließ sich durch gemeinsame Applikation von TEA mit Cäsium aufgrund einer Erhöhung der Impedanz bei niedrigen Frequenzen beseitigen. TTX und Nickel führten bei depolarisierten Membranpotentialen zu einer allgemeinen Impedanzzunahme, ohne die Resonanzfrequenz zu verändern. Cobalt dagegen hatte auf das Impedanzverhalten der Zellen keinen Einfluß. Die Autoren geben sowohl für die Membranpotentialoszillationen als auch für die Impedanzresonanz den gleichen Generierungsmechanismus an. Beide Phänomene sollen durch ein Zusammenspiel des persistierenden Natriumstroms mit einem langsam aktivierenden, nicht-inaktivierenden Kaliumstrom<sup>9</sup> entstehen.

Im präfrontalen Kortex von juvenilen (2 - 4 Wochen) Ratten haben Sejnowski *et al.* [39] bei Membranpotentialen positiv von -60 mV in Pyramidenzellen und Interneuronen der Schichten V/VI spontane Membranpotentialoszillationen gefunden. Im Spannungsbereich zwischen -60 mV und -50 mV zeigten beide Neuronentypen sehr ähnliche, nichtspannungsabhängige Oszillationen (Pyramidenzellen:  $4.9 \pm 1.9$  Hz; Interneurone:  $5.9 \pm 2.7$  Hz; T:  $30^\circ\text{C} - 32^\circ\text{C}$ ). Depolarisation über die Entladungsschwelle hinaus (Interspike-Analyse) führte, wie schon im frontalen Kortex, zu Membranpotentialoszillationen mit höheren, spannungsabhängigen Frequenzen. Hierbei unterscheiden sich nun Pyramidenzellen und Interneurone: Die Oszillationsfrequenz der Pyramidenzellen ( f:  $9.9 \pm 3.6$  Hz) war niedriger und hatte eine schwächere Spannungsabhängigkeit (Steigung:  $0.38 \frac{\text{Hz}}{\text{mV}}$ ) als bei den Interneuronen ( f:  $26.7 \pm 19.3$  Hz; Steigung:  $1.97 \frac{\text{Hz}}{\text{mV}}$ ).

Lit.	Frequenzen	Spannungsabhängigkeit	Mechanismus
[141]	5 - 9 Hz	f: ?	$I_{NaP}$ evtl. $I_{Ca}$
[8]	7 - 40 Hz	f: Zunahme mit Depolarisation	$I_{NaP}$ evtl. $I_{Ca}$
[94]	10 - 45 Hz	f: Zunahme mit Depolarisation	$I_{NaP}$
[47]	4 - 27 Hz	f: Zunahme mit Depolarisation	$I_{NaP} + I_M$
[39]	$\sim 5$ Hz	f: nicht spannungsabhängig	?

Tabelle 2.9: **Neokortex 1.** Membranpotentialoszillationen.

<sup>8</sup>die Problematik von überschwelligen Impedanzmessungen wird in Kapitel 3 behandelt

<sup>9</sup>als Möglichkeit wird der M-Strom angegeben

Lit.	Frequenzen	Spannungsabhängigkeit	Mechanismus
[59, 60]	$\sim 1$ Hz	f: nicht spannungsabhängig Q: Zunahme mit Depolarisation	$I_H + I_{NaP} + Kir$
[47]	3 - 12 Hz	f: Zunahme mit Depolarisation Q: Zunahme mit Depolarisation	$I_M + I_{NaP}$

Tabelle 2.10: **Neokortex 2.** *Impedanzresonanz.*

## 2.5 Kritik

Zur Frequenzanalyse der Membranpotentialoszillationen und insbesondere der Impedanzresonanz wurde bei den beschriebenen Arbeiten vor allem die Fourier-Transformation verwendet. Sorgfalt bei der technischen Umsetzung dieser Analysemethode ist für die Qualität der Ergebnisse von entscheidender Bedeutung<sup>10</sup>.

Ein wichtiges Kriterium ist die Aufnahmedauer der Messungen, die über die Frequenzauflösung der Ergebnisse entscheidet. So muß zum Beispiel zur Angabe von Resonanz- oder Oszillationsfrequenzen mit einem Auflösungsvermögen von 0.1 Hz die Aufnahmedauer mindestens 10 Sekunden betragen. In einer Vielzahl von Arbeiten wurden Frequenzwerte präsentiert, die weit unterhalb ihrer theoretischen Genauigkeit lagen und nicht selten mit weniger als 1 Sekunde Aufnahmedauer durchgeführt wurden [8, 13, 18, 36, 105, 123, 124, 125, 181]. Außerdem wurden die Probleme von Aktionspotentialen in den Aufnahmen bei überschwelligen Messungen, vor allem bei der Impedanzanalyse<sup>11</sup>, nicht erwähnt.

Insgesamt fehlt bislang eine systematische, am besten modellbasierte Methode zur Quantifizierung der Meßergebnisse. Bislang wurden den Fourierspektren in einer „fit-by-eye“-Methode die charakteristischen Oszillations- und Resonanzwerte entnommen.

Bei der Verlässlichkeit von quantitativen Aussagen, beispielsweise über die Spannungsabhängigkeit der Frequenzen (Steigungskoeffizient), oder die modulatorische Wirkung von Ionenkanalantagonisten ist neben der Quantifizierungsproblematik zumeist die geringe Neuronenzahl, auf der diese Aussagen basieren, zu bemängeln, was sich dann auch in scheinbar widersprüchlichen Ergebnissen bei verschiedenen Meßreihen ausdrückt.

Kritisch zu betrachten ist außerdem, daß auch in Studien in denen Membranpotentialoszillationen und Impedanzresonanz vergleichend gegenüber gestellt wurden, bislang nie systematisch beide Phänomene gemeinsam in einer Zelle untersucht worden sind.

<sup>10</sup>Die Fourier-Transformation wird in Kapitel 6.9 ausführlich beschrieben

<sup>11</sup>vgl. Kapitel 7.2.2

# Kapitel 3

## Theorie und Modelle

Es stellt sich die Frage, ob es trotz der offensichtlich großen Variabilität der Impedanzresonanz und der Membranpotentialoszillationen nicht doch ein Grundprinzip für beide Phänomene existiert, das zu einer gemeinsamen Theorie des unterschweligen elektrischen Frequenzverhaltens von Neuronen führt.

Spannungszosillationen und Impedanzresonanz kennt man in der Elektrotechnik aus elektrischen Schaltkreisen, sogenannten Schwingkreisen, die aus parallel bzw. seriell angeordneten Widerständen, Kondensatoren und Spulen bestehen. Die Geschichte der Neurophysiologie ist gerade in ihren Anfängen eng verbunden mit der Entwicklung von elektrischen Äquivalenzschaltkreisen, die als Modelle für das elektrische Verhalten von Neuronen dienen. So entwickelten Fricke (1925) und Cole (1928) aus der „Membrantheorie“ von Bernstein (1902) bzw. Nernst (1889), und der Kabelgleichung von Lord Kelvin (19. Jh.) den klassischen Äquivalenzschaltkreis für erregbare Zellen, der einem lecken Kondensator entspricht (Parallelschaltung von Kapazität  $C$  und Ohmschem Widerstand  $R$  - RC-Kreis).

Dieses Modell hatte großen Erfolg. So konnte Cole zum Beispiel in den 30er Jahren die Membrankapazität mit circa  $1 \frac{\mu F}{cm^2}$  so genau abschätzen, daß dieser Wert noch heute grob gültig ist [65]. Die ersten Wechselstrom (AC)-Messungen, die in den 40er Jahren von Cole [24, 25] durchgeführt wurden, brachten allerdings Ergebnisse, die scheinbar nur mit einer zusätzlichen induktiven Komponente der Membraneigenschaften erklärt werden konnten. Modelle, wie zum Beispiel eine quasi-kristalline piezoelektrische Struktur der Membran, wie sie Cole [24] als Alternative vorschlug, konnten nicht bestätigt werden. Auch führten Abschätzungen der notwendigen Magnetfelder zu unphysiologisch großen Werten, so daß die Idee einer spulenartigen Struktur in der Membran verworfen wurde.

Erst Hodgkin und Huxley brachten mit ihrer bahnbrechenden Arbeit [52] auch in der Frage der Membraninduktivität neue Erkenntnisse. Sie konnten zeigen, daß das unterschwellige elektrische Verhalten des Tintenfisch-Riesenaxons bei kleinen Störungen des Membranpotentials eine induktive Komponente besitzt. Mathematisch bedeutet diese sogenannte Klein-Signal-Bedingung eine Linearisierung der Hodgkin-Huxley-Differentialgleichungen. Die folgende Herleitung orientiert sich an der Originalarbeit von Hodgkin und Huxley, ergänzt durch eine Reihe von Veröffentlichungen, die sich im Besonderen mit der Interpretation des Ergebnisses hinsichtlich der induktiven Komponente eines resultierenden Äquivalenzschaltkreises beschäftigen [2, 3, 80, 29, 32, 65, 81, 106, 133, 134, 144]:

Eine Störung des elektrochemischen Gleichgewichts einer erregbaren Zelle, z.B. durch künstliche Strominjektion oder auch synaptische Ereignisse, hat einen Ausgleichsstrom über die Membran zur Folge, der den Gleichgewichtszustand wiederherstellt. Dieser Membranstrom setzt sich aus zwei Komponenten zusammen:

Die erste Komponente ist ein „Verschiebestrom“ von Ladungen entlang der Zellmembran, bei dem keine Ladung diese überquert und der die kapazitiven Eigenschaften der Membran widerspiegelt. Die zweite Komponente ist der tatsächlich über die Membran fließende Ionenstrom, der sich aus verschiedenen Teilströmen zusammensetzt, die von den aktiven Ionenkanälen abhängen:

$$I_M(t) = I_C(t) + I_I(t) = C_M \frac{\partial V(t)}{\partial t} + \sum_i I_i(t) \quad (3.1)$$

Im Hodgkin-Huxley-Modell besteht der Ionenstrom  $I_I$  aus drei voneinander unabhängigen Teilströmen:

- einem Leckstrom  $I_L$ , dessen Leitfähigkeit spannungsunabhängig und zeitinvariant ist -  $I_L$  entspricht den Eigenschaften des Ohmschen Zweigs im RC-Kreis.
- einem Natriumstrom  $I_{Na}$  und
- einem Kaliumstrom  $I_K$ , wobei die Leitfähigkeiten die den beiden Strömen zugrundeliegen spannungs- und zeitabhängig sind, wodurch sie der Membran aktive, regenerative Eigenschaften verleihen, die über den passiven RC-Kreis hinausgehen.

$$I_I(t) = I_L + I_{Na}(t) + I_K(t) \quad (3.2)$$

Grundsätzlich gilt für alle Ströme das Ohmsche Gesetz:

$$I_i = G_i \cdot (V - E_i) \quad (3.3)$$

mit  $G_i$  : i-te Leitfähigkeit  
 $V$  : Haltepotential (z.B. RMP)  
 $E_i$  : Umkehrpotential der i-ten Ionensorte

Also

$$I_{Na} = G_{Na} \cdot (V - E_{Na}) \quad (3.4)$$

$$I_K = G_K \cdot (V - E_K) \quad (3.5)$$

$$I_L = G_L \cdot (V - E_L) \quad (3.6)$$

Die Leitfähigkeit  $G$  setzt sich bei  $I_{Na}$  und  $I_K$  aus der maximalen Leitfähigkeit des Ionenkanals  $\bar{G}_i$  und der spannungs- und zeitabhängigen Wahrscheinlichkeit  $k_i$ , daß dieser sich im leitenden Zustand befindet, zusammen:

$$G_i = G_i(V(t); t) = \bar{G}_i \cdot k_i(V(t); t) \quad (3.7)$$



Da der Koeffizient  $k_i$  die Kinetik des Kanals beschreibt, nannten ihn Hodgkin und Huxley „gating particle“. Für die Beschreibung der „gating particles“ verwendeten sie ein Zwei-Zustandsmodell. Nach dieser sogenannten Annahme erster Ordnung kann sich ein gating particle entweder im offenen (a) oder geschlossenen Zustand (b) befinden:



$\alpha$  und  $\beta$  sind spannungsabhängige Geschwindigkeitskonstanten<sup>1</sup>, die die Wahrscheinlichkeiten für einen Übergang von einem zum anderen Zustand angeben und die nicht von der Geschichte des Systems abhängen (Markov-Prozess). Die Funktionen für  $\alpha$  und  $\beta$  werden experimentell bestimmt, weshalb man auch von halbempirischer Hodgkin-Huxley-Theorie spricht. Im Hodgkin-Huxley-Modell kommen in der Formulierung der Natrium- und Kaliumleitfähigkeiten jeweils vier solcher gating particles vor. Es müssen sich dabei alle vier im offenen Zustand befinden, damit der jeweilige Kanal leitet. Damit greifen Hodgkin und Huxley bereits theoretisch der modernen Erkenntnis voraus, daß die meisten Ionenkanäle mehrere Konformationsänderungen ihrer Struktur durchlaufen bis sie im leitfähigen Zustand sind.

Für den Kalium- und Natriumstrom ergeben sich so folgende Gleichungen:

$$I_K = \bar{G}_K \cdot n^4 (V - E_K) \quad (3.9)$$

$$I_{Na} = \bar{G}_{Na} \cdot m^3 h (V - E_{Na}) \quad (3.10)$$

Dabei beschreiben  $n$  und  $m$  die jeweilige Aktivierungskinetik der Kanäle und  $h$  die Inaktivierungskinetik des Natriumkanals, wobei die  $m$ - und  $h$ -Koeffizienten des Natriumkanals voneinander unabhängig sind.

Aus dem Zwei-Zustandsmodell resultiert direkt eine mathematische Beschreibung der Kanalkinetiken:<sup>2</sup>

$$\frac{dn(V; t)}{dt} = \alpha_n(V) \cdot [1 - n(V; t)] - \beta_n(V) \cdot n(V; t) \quad (3.11)$$

Diese Gleichungen lassen sich sehr schön interpretieren, wenn man  $n$ ,  $m$  und  $h$  nicht als gating particles eines Kanals betrachtet, sondern darin die Fraktion an offenen/aktiven (bzw. geschlossenen/inaktiven) Kanälen der Gesamtpopulation einer Kanalsorte sieht:

*Die Veränderung der Anzahl an offenen Kanälen zu einem beliebigen Zeitpunkt ( $\frac{dn}{dt}$ ) ist gleich der Anzahl der vom geschlossenen in den offenen Zustand übergehenden Kanälen ( $\alpha \cdot (1 - n)$ ) abzüglich der Anzahl der vom offenen in den geschlossenen Zustand übergehenden Kanälen ( $\beta \cdot n$ ).*

Führt man alle Erkenntnisse zusammen, so erhält man das Standard-Hodgkin-Huxley-Membranleck-Modell, eine nichtlineare inhomogene Differentialgleichung erster Ordnung:

$$I_{inj}(t) = \underbrace{C_M}_{\text{Störung von aussen}} \frac{dV}{dt} + G_L (V - E_{RMP}) + \bar{G}_{Na} \cdot m^3 h (V - E_{Na}) + \bar{G}_K \cdot n^4 (V - E_K) \quad (3.12)$$

$\underbrace{\hspace{2cm}}$   
Störung  
von aussen

<sup>1</sup>In der Populationsinterpretation stehen  $\alpha$  und  $\beta$  für die Anzahl der Übergänge pro Sekunde

<sup>2</sup>analog für  $m$  und  $h$

### 3.1 Linearisierung der Hodgkin-Huxley-Gleichung

Das Verhalten der Membran auf kleine Störungen, und damit die unterschwelligen Lösungen der Hodgkin-Huxley-Gleichung, erhält man durch Analyse der spannungs- und zeitabhängigen Ströme  $I_{Na}$  und  $I_K$  mit einem Näherungsverfahren. Man entwickelt dabei die Funktionen  $I_{Na}(V(t);t)$  und  $I_K(V(t);t)$  in einer sogenannten „Taylor-Reihe“<sup>3</sup> um ein beliebiges Haltepotential. Bricht man die Polynomialreihe nach dem linearen Glied ab, so spricht man von Linearisierung der Gleichung. Solange die Störungen „klein“<sup>4</sup> bleiben, ist das Ergebnis ausreichend genau. Für den Kaliumstrom<sup>5</sup> folgt daraus:

$$I_K = \bar{G}_K \cdot n^4 (V - E_K)$$

Taylor-Entwicklung von  $I_K$  um ein Potential  $V_r$ :

$$\delta I_k = \left( \frac{\partial I_K}{\partial V} \right) \Big|_r \delta V + \left( \frac{\partial I_K}{\partial n} \right) \Big|_r \delta n \quad (3.13)$$

Die Taylor-Reihe wurde nach dem linearen Glied abgebrochen. Der Index  $r$  bedeutet, daß die entsprechende Ableitung am Punkt  $V_r$  durchzuführen ist. Es gilt:

(a)

$$\left( \frac{\partial I_K}{\partial V} \right) \Big|_r = \bar{G}_K \cdot n_r^4 = G_{K_r}$$

mit  $n_r$  :  $n$ -Wert am Punkt  $V_r$   
 $G_{K_r}$  : Kaliumleitfähigkeit am Punkt  $V_r$

(b)

$$\left( \frac{\partial I_K}{\partial n} \right) \Big|_r = 4 \cdot \bar{G}_K \cdot n^3 (V_r - E_K)$$

Zusammen ergibt sich damit:

$$\delta I_k = \underbrace{G_{K_r} \cdot \delta V}_{\text{Strom durch gerade offene Kanäle aufgrund der Spannungsveränderung}} + \underbrace{4 \cdot \bar{G}_K \cdot n^3 (V_r - E_K) \cdot \delta n}_{\text{Strom aufgrund Veränderung der Zahl offener Kanäle wegen der Spannungsveränderung}} \quad (3.14)$$

Da auch die Kanalkinetik  $n$  eine Funktion der Spannung ist, muß diese ebenfalls in einer Taylor-Reihe um die Spannung  $V_r$  entwickelt werden<sup>6</sup>:

$$\frac{dn}{dt} = \alpha_n \cdot (1 - n) + \beta_n \cdot n$$

$$\frac{d}{dt} \delta n = d \frac{\delta n}{dt} = \delta \alpha_n - (\delta \alpha_n + \delta \beta_n) \cdot n - (\alpha_n + \beta_n) \cdot \delta n \quad (3.15)$$

<sup>3</sup>vgl. Anhang A

<sup>4</sup>vgl. Kapitel 3.2.6

<sup>5</sup>analog für  $I_{Na}$

<sup>6</sup>Herleitung in Anhang B

Auch die Geschwindigkeitskonstanten  $\alpha_n$  und  $\beta_n$  hängen vom Membranpotential ab. Daraus folgt:

$$\delta\alpha_n = \left(\frac{d\alpha_n}{dV}\right) \cdot \delta V \quad (3.16)$$

$$\delta\beta_n = \left(\frac{d\beta_n}{dV}\right) \cdot \delta V \quad (3.17)$$

Die Gleichungen 3.15, 3.16 und 3.17 ergeben einen Ausdruck für die durch die Potentialstörung veränderte Anzahl offener Kanäle  $\delta n$  :

$$\begin{aligned} \frac{d}{dt}\delta n &= \left(\frac{d\alpha_n}{dV}\right) \cdot \delta V - (\alpha_n + \beta_n) \cdot \delta n - n \cdot \left(\frac{d(\alpha_n + \beta_n)}{dV}\right) \cdot \delta V \\ &\cong \left(\frac{d}{dt} + \alpha_n + \beta_n\right) \cdot \delta n = \left[\left(\frac{d\alpha_n}{dV}\right) - \left(\frac{d(\alpha_n + \beta_n)}{dV}\right)\right] \cdot \delta V \end{aligned} \quad (3.18)$$

Führt man alle Ergebnisse in der ursprünglichen Gleichung 3.14 zusammen, so erhält man die linearisierte Kaliumstromgleichung für kleine Störungen des Membranpotentials:

$$\delta I_k = \left(G_{K_r} + \frac{a}{\frac{d}{dt} + b}\right) \cdot \delta V \quad (3.19)$$

mit:

$$\begin{aligned} a &= 4 \cdot \bar{G}_K \cdot n^3 \cdot (V_r - E_K) \cdot \left[\left(\frac{d\alpha_n}{dV} - n \cdot \frac{d(\alpha_n + \beta_n)}{dV}\right)\right] \\ b &= \alpha_n + \beta_n \end{aligned}$$

Analog, wenn auch aufgrund der voneinander unabhängigen Kanalkinetikfunktionen  $m$  und  $h$  etwas umfangreicher, wird die Natriumstromgleichung linearisiert:

$$I_{Na} = \bar{G}_{Na} \cdot m^3 h \cdot (V - E_{Na})$$

$$\begin{aligned} \delta I_{Na} &= \left(\frac{\partial I_{Na}}{\partial V}\right)_r \cdot \delta V + \left(\frac{\partial I_{Na}}{\partial m}\right)_r \cdot \delta m + \left(\frac{\partial I_{Na}}{\partial h}\right)_r \cdot \delta h \\ &= G_{Na_r} \cdot \delta V + 3 \cdot \bar{G}_{Na} \cdot m^2 h \cdot (V_r - E_{Na}) \cdot \delta m + \bar{G}_{Na} \cdot m^3 \cdot (V_r - E_{Na}) \delta h \end{aligned}$$

und schließlich:

$$\delta I_{Na} = \left(G_{Na_r} + \frac{g_m}{\frac{d}{dt} + (\alpha_m + \beta_m)} + \frac{g_h}{\frac{d}{dt} + (\alpha_h + \beta_h)}\right) \cdot \delta V \quad (3.20)$$

mit:

$$\begin{aligned} G_{Na_r} &= \bar{G}_{Na} \cdot m_r^3 h_r \\ g_m &= 3 \cdot \bar{G}_{Na} \cdot m^2 h \cdot X_i \\ g_h &= 3 \cdot \bar{G}_{Na} \cdot m^3 \cdot X_i \\ X_{i=m;h} &= (V_r - E_{Na}) \left[\frac{d\alpha_i}{dV} - i \cdot \left(\frac{d(\alpha_i + \beta_i)}{dV}\right)\right] \end{aligned}$$

Die Terme  $G_{Na_r}$  und  $G_{K_r}$  entsprechen dabei den Ohmschen Komponenten der jeweiligen Leitfähigkeiten. Die anderen Terme spiegeln die Eigenschaften, die aus der Kanalkinetik resultieren, wider.

Eine für den weiteren Verlauf sehr instruktive Lösung der linearisierten Ionenstromgleichungen gibt DeFelice [29] durch Verwendung der Fourier-Transformation an<sup>7</sup>:

$$\frac{\delta \tilde{I}_K}{\delta \tilde{V}} = G_{K_r} + \frac{4 \cdot \bar{G}_K \cdot n^3 \cdot (V_r - E_K) \cdot \left( \frac{d\alpha_n}{dV} - n \cdot \frac{d(\alpha_n + \beta_n)}{dV} \right)}{(\alpha_n + \beta_n) \cdot \left( 1 + i \cdot \omega \cdot \frac{1}{(\alpha_n + \beta_n)} \right)} \quad (3.21)$$

mit:  $\delta \tilde{I}$ ;  $\delta \tilde{V}$ : Fourier-Transformierte von  $\delta I$  bzw.  $\delta V$

Neben der angenehmen Vermeidung des Operatorterms  $d/dt$  gelingt so ein eleganter Brückenschlag zur Bestimmung eines passenden Äquivalenzschaltkreises.

Betrachtet man den Strom durch eine reale Spule, das heißt eine Reihenschaltung von Widerstand und Induktivität (rL-Schaltung), so gilt:

$$\begin{aligned} \text{(a) Für Induktivitäten :} \quad & \partial V_L(t) = -L \cdot d \frac{\partial I(t)}{\partial t} \\ \text{F.T.:} \quad & \partial \tilde{V}_L(f) = i \cdot \omega \cdot L \cdot \partial \tilde{I}_L(f) \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{(b) Für Widerstände:} \quad & \partial V_r(t) = r \cdot \partial I(t) \\ \text{F.T.:} \quad & \partial \tilde{V}_r(f) = r \cdot \partial \tilde{I}_r(f) \end{aligned}$$

$$\text{(c) Für Reihenschaltungen :} \quad \partial \tilde{V}_{Ges} = \partial \tilde{V}_r + \partial \tilde{V}_L \quad \wedge \quad \partial \tilde{I}_{Ges} = \partial \tilde{I}_r = \partial \tilde{I}_L$$

Gemeinsam ergeben die Gleichungen einen Ausdruck für die Admittanz der Schaltung:

$$\begin{aligned} \partial \tilde{V} &= (r + i \cdot \omega \cdot L) \cdot \partial \tilde{I} \\ \Rightarrow \quad \frac{1}{Z} &= \frac{\partial \tilde{I}}{\partial \tilde{V}} = \frac{1}{r + i \cdot \omega \cdot L} = \frac{\frac{1}{r}}{1 + i \cdot \omega \cdot \frac{L}{r}} \end{aligned} \quad (3.22)$$

Zum Vergleich noch einmal die aus der Kanalkinetik resultierende Gleichung:

$$\frac{1}{Z} = \frac{\partial \tilde{I}}{\partial \tilde{V}} = \frac{a'}{1 + i \cdot \omega \cdot b'} \quad (3.23)$$

mit:

$$\begin{aligned} a' &= \frac{4 \cdot \bar{G}_K \cdot n^3 \cdot (V_r - E_K) \cdot \left( \frac{d\alpha_n}{dV} - n \cdot \frac{d(\alpha_n + \beta_n)}{dV} \right)}{\alpha_n + \beta_n} \\ b' &= \frac{1}{\alpha_n + \beta_n} \end{aligned}$$

---

<sup>7</sup>Herleitung siehe Anhang C

Man erkennt die Analogie zwischen einer rL-Schaltung und den aus der Kinetik resultierenden Kanaleigenschaften, wenn man  $a'$  mit  $1/r$  und  $b'$  mit  $L/r$  identifiziert. Ein solcher Analogieschluß ist durchaus üblich und hilfreich, wie das bekannteste Beispiel von elektrischem Stromkreis und hydraulischer (Wasser-) Leitung zeigt [113]. Der Term  $L/r$  wird auch die Zeitkonstante  $\tau_L$  der Schaltung genannt. Solche Zeitkonstanten lassen sich auch aus der Hodgkin-Huxley-Gleichung für die Membran herleiten:

(1.a) Die passive Membran:

$$I_M = I_C + I_I = C_M \cdot \frac{dV}{dt} + \frac{V}{R_m}$$

Lösung der linearen Differentialgleichung 1. Ordnung:

$$V(t) = I_M \cdot R_m \cdot \left(1 - e^{-\frac{t}{\tau_M}}\right) \quad (3.24)$$

mit  $\tau_M = R_m \cdot C_M$

(1.b) Der RC- Parallelkreis:

$$\begin{aligned} \frac{1}{Z_M} &= \frac{1}{R_m} + \frac{1}{Z_C} = \frac{1}{R_m} + i \cdot \omega \cdot C_M \\ &= \frac{1 + i \cdot \omega \cdot \tau_M}{R_m} \end{aligned} \quad (3.25)$$

mit  $\tau_M = R_M \cdot C_M$

(2.a) Quasi-aktive Membran<sup>8</sup> – linearisierte Leitfähigkeit:

$$\frac{dn}{dt} = \alpha_n - (\alpha_n + \beta_n) \cdot n$$

Lösung der Differentialgleichung mit folgenden Randbedingungen:

$$\begin{aligned} n &= n_0 \quad \text{für } t = t_0 \\ n &= n_\infty \quad \text{für } t \rightarrow \infty \end{aligned}$$

$$n(t) = n_\infty - (n_\infty - n_0) \cdot e^{-\frac{t}{\tau_L}} \quad (3.26)$$

mit  $\tau_L = \frac{1}{\alpha_n + \beta_n}$

Das gleiche Ergebnis erhält man beim Vergleich der Gleichungen für die rL-Schaltung mit der linearisierten Hodgkin-Huxley-Gleichung, was die Richtigkeit der Überlegungen unterstreicht.

---

<sup>8</sup>Bezeichnung nach C. Koch [80]

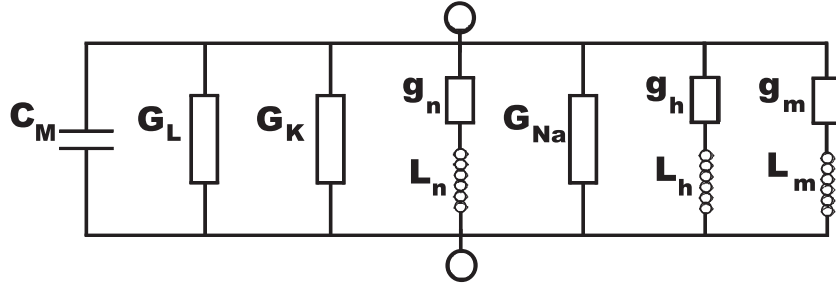


Abbildung 3.1: Äquivalenzschaltkreis aus der linearisierten Hodgkin-Huxley-Gleichung

Den resultierenden Äquivalenzschaltkreis zeigt Abbildung 3.1. Dabei entsprechen  $C_M$ ,  $G_L$ ,  $G_K$  und  $G_{Na}$  dem klassischen Membranmodell, die drei  $g_i L_i$ -Glieder sind die phänomenologischen Repräsentationen der Kanalkinetiken.

Doch dieses Modell ist noch nicht ganz vollständig. Berücksichtigt man zum einen, daß das Membranpotential nur einen begrenzten physiologischen Bereich hat und zum anderen, daß die Terme  $\frac{d\alpha}{dV}$  und  $\frac{d\beta}{dV}$  bei einem Membranpotential immer umgekehrte Vorzeichen haben, so erkennt man, daß die Ausdrücke

$$g_n = 4 \cdot \bar{G}_K \cdot n^3 \cdot (V - E_K) \cdot \frac{\left[ \left( \frac{d\alpha_n}{dV} \right)_r - n \cdot \left( \frac{d(\alpha_n + \beta_n)}{dV} \right)_r \right]}{\alpha_n + \beta_n} \quad (3.27)$$

$$L_n = \frac{1}{g_n \cdot (\alpha_n + \beta_n)} \quad (3.28)$$

auch negative Werte annehmen können. Dadurch werden die negativen  $gL$ -Komponenten des Äquivalenzschaltkreises in positive  $gC$ -Komponenten transformiert<sup>9</sup>:

$$\text{mit:} \quad \begin{aligned} C' &= -L \cdot g^2 \\ g' &= -g \end{aligned}$$

Es gibt zwei Bedingungen für das Auftreten einer solchen phänomenologischen Kapazität:

- (a) Das Umkehrpotential der Ionensorte liegt positiv vom Haltepotential und der Ionenkanal aktiviert mit Depolarisation, d.h.

$$\begin{aligned} E_{Ion} &> V_{MP} \\ \Rightarrow (V_{MP} - E_{Ion}) &< 0 \quad \wedge \quad \frac{d\alpha}{dV} > \frac{d\beta}{dV} \end{aligned} \quad (3.29)$$

- (b) Das Umkehrpotential der Ionensorte liegt negativ vom Haltepotential und der Kanal aktiviert mit Hyperpolarisation, d.h.

$$\begin{aligned} E_{Ion} &< V_{MP} \\ \Rightarrow (V_{MP} - E_{Ion}) &> 0 \quad \wedge \quad \frac{d\alpha}{dV} < \frac{d\beta}{dV} \end{aligned} \quad (3.30)$$

<sup>9</sup>nach der Definition für Induktivitäten und Kapazitäten auf S.22

Im physiologisch unterschwelligen Membranpotentialbereich trifft die Bedingung (a) auf die Aktivierungskinetik (m-Komponente) des Natriumstroms zu. Für stabile Zustände muß die Summe aller Leitfähigkeiten dabei immer positiv sein. Als Ergebnis erhält man den korrigierten Äquivalenzschaltkreis einer linearisierten, quasi-aktiven Membran mit zwei spannungs- und zeitabhängigen Leitfähigkeiten (Abb. 3.2).

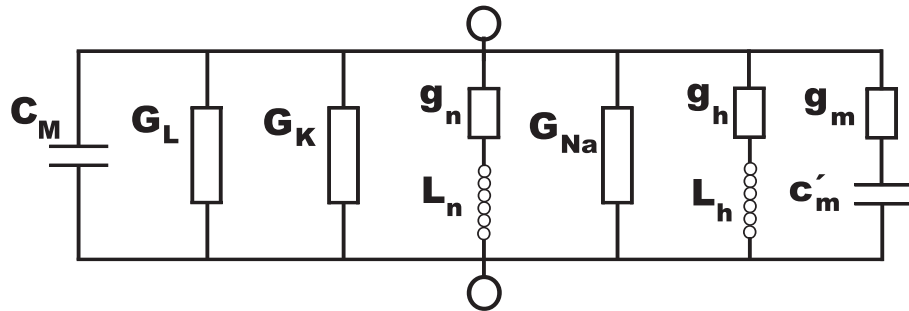
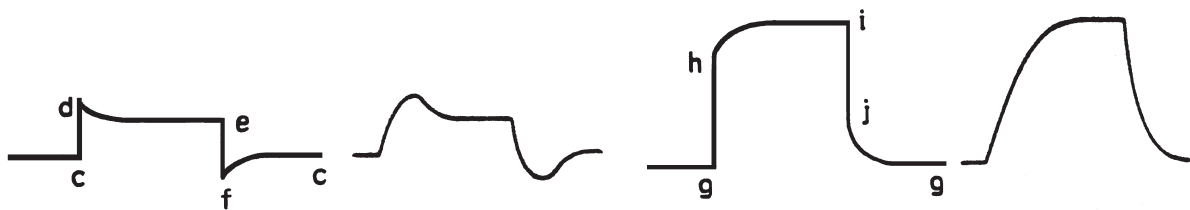


Abbildung 3.2: Korrigierter Äquivalenzschaltkreis mit zwei phänomenologischen Induktivitäten ( $L_n$  und  $L_h$ ) und einer phänomenologischen Kapazität ( $c'_m$ ).

Mauro *et al.* [106] zeigen am Beispiel des Kalium-Systems wie sich die phänomenologischen Induktivitäten beziehungsweise Kapazitäten im Experiment bemerkbar machen:



A. Positiv vom  $K^+$ -Umkehrpotential

B. Negativ vom  $K^+$ -Umkehrpotential

Abbildung 3.3: Wirkung der verzögerten Leitfähigkeitsaktivierung bzw. -deaktivierung des  $I_K$  (jeweils rechts: Ergebnis mit zusätzlicher paralleler Kapazität).

1.  $MP > V_K$  (Abbildung 3.3 A.):

Ein depolarisierender Strompuls führt zu einem Spannungssprung, dessen Größe vom sogenannten Hochfrequenzwiderstand („chord conductance“) der Zelle abhängt ( $c \mapsto d$ ). Da die Leitfähigkeit zeitvariant ist, nimmt die Spannungsantwort kontinuierlich ab<sup>10</sup>, bis ein neuer Gleichgewichtszustand erreicht ist ( $d \mapsto e$ ). Die Spannungsveränderung aufgrund der Kaliumstromaktivierung verhält sich also auf der Zeitachse induktiv („wirkt der Ursache entgegen“). Abschalten des Strompulses führt zu einem Spannungsabfall ( $e \mapsto f$ ), der wiederum aufgrund der zeitabhängigen Leitfähigkeitsveränderung des Kaliumstroms kontinuierlich in den ursprünglichen Zustand zurückkehrt ( $f \mapsto c$ ).

2.  $MP < V_K$  (Abbildung 3.3 B.):

Ein depolarisierender Strompuls führt wieder zu einem Spannungssprung ( $g \mapsto h$ ).

<sup>10</sup>Kaliumstrom bewirkt eine Repolarisierung des Membranpotentials

Die mit der Zeit zunehmende Leitfähigkeitserhöhung läßt diesmal die Spannung langsam weiter ansteigen bis zum neuen Gleichgewichtszustand ( $h \mapsto i$ ). Beim Ende des Pulses fällt die Spannung zuerst schnell ab ( $i \mapsto j$ ) bis aufgrund der dadurch veränderten Leitfähigkeit der Ausgangszustand erreicht wird. Der Kaliumstrombeitrag wirkt also kapazitiv.

Diese Betrachtung macht klar, warum man von phänomenologischer Induktivität oder Kapazität spricht. Das System kann also aufgrund der verzögerten Aktivierungskinetik des Kaliumstroms auf schnelle Spannungsveränderungen (hohe Frequenzen) gar nicht reagieren und wirkt so als Hochpassfilter. Gemeinsam mit den Tiefpasseigenschaften der passiven Membran (RC-Eigenschaften) resultiert so ein Bandpassverhalten, daß die Impedanzresonanz charakterisiert. Das elektrische Verhalten des Kalium-Systems zeigt auch bei Pulsbeginn und -ende bereits gedämpfte Spannungsschwingungen, also oszillatorische Eigenschaften. Allerdings ist damit die Entstehung von spontanen, anhaltenden, unterschwelligen Membranpotentialoszillationen noch nicht geklärt. Mehrere Hypothesen wurden hierfür aufgestellt:

Als simpelste Erklärung wird häufig die „Gegenspielerhypothese“ herangezogen, bei der mindestens zwei Ströme mit unterschiedlichen Kinetiken und entgegengesetzten Umkehrpotentialen so interagieren, daß oszillatorische Schwankungen des Membranpotentials entstehen.

Etwas genauer betrachten z.B. Hutcheon und Yarom [62] den Prozess zur Entwicklung von Membranpotentialoszillationen. Sie gehen davon aus, daß die Impedanzresonanz durch einen Strom, dessen Kinetik zu induktiven Eigenschaften der Membran führt, von einem zweiten Strom, der prinzipiell Spannungsveränderungen unterstützt, so verstärkt wird, daß Membranpotentialoszillationen entstehen.

Eine Möglichkeit, die ebenfalls die Membranresonanz als Ursache für Spannungsozillationen sieht, aber ohne einen expliziten zweiten Strom auskommt, wurde bislang wenig beachtet:

Grundsätzlich wird auch das Systemrauschen<sup>11</sup> von den Eigenschaften eines elektrischen Schwingkreises moduliert und könnte so zu anhaltenden kleinamplitudigen Oszillationen mit charakteristischer Frequenz führen [29].

Ebenfalls aus der elektrischen Schaltkreistheorie ist bekannt, das oszillatorische Eigenschaften eines Systems durch Bauelemente mit negativer Leitfähigkeit erzeugt werden. Diese Elemente stellen dem System Energie zu Verfügung und wirken daher als regenerative Verstärker. Bei der Untersuchung von neuronalen Membranpotentialoszillationen konnte ebenfalls die Beteiligung von Ionenströmen bestätigt werden, die im Spannungsbereich, in dem die Oszillationen auftraten, negative Leitfähigkeiten besitzen<sup>12</sup>.

Eine Methode, die auf elegante Weise die bislang mehr empirischen Befunde mit dem Hodgkin-Huxley-Modell verbindet, ist die sogenannte Hopf-Bifurkationsanalyse [20, 45]. Die Bifurkationsanalyse wird in der theoretischen Physik für Stabilitätsuntersuchungen nichtlinearer Systeme verwendet. Unter Bifurkation versteht man dabei einen Punkt, an dem aufgrund einer Störung ein System, das mit nichtlinearen Differentialgleichungen beschrieben wird, eine grundlegende qualitative Veränderung zeigt. Auf diese Weise können

<sup>11</sup>zum Rauschen in neuralen Systemen vgl. Kapitel 5

<sup>12</sup>vgl. Kap. 2



zum Beispiel Strukturveränderungen in der Natur modelliert werden. Die Hopf-Bifurkation ist dabei ein Spezialfall, der einem oder mehreren Punkten entspricht, an denen das System aus einer stabilen Gleichgewichtslage in einen periodischen (oszillatorischen) Zustand übergeht. Dabei gilt die periodische Lösung immer nur für hinreichend kleine Umgebungen der Hopf-Bifurkation, was unserer Bedingung der Unterschwelligkeit des Membranpotentials entspricht. Eine Hopf-Bifurkationsbedingung für die Instabilität eines Zwei-Komponenten-Hodgkin-Huxley-Modells lautet [178, 80, 102]:

$$-\left(\frac{\partial I_{Ion}}{\partial V}\right)_{V,h(V)} > \frac{C_M}{\tau_h(V)} \quad (3.31)$$

mit der Hopf-Bifurkation<sup>13</sup>:

$$-\frac{1}{C_M} \cdot \frac{\partial I_{Ion}}{\partial V} - \frac{1}{\tau_h} = 0 \quad (3.32)$$

mit:  $\tau_h(V)$  = Inaktivierungszeitkonstante beim Potential  $V$   
 $\frac{\partial I_{Ion}}{\partial V}$  = Steigungsleitfähigkeit

Unterschiedliche Membranpotentiale führen zu unterschiedlichen Hopf-Bifurkationen. Oszillationen treten zwischen solchen Punkten (Membranpotentialen) auf, was der Beobachtung entspricht, daß Oszillationen nur in einem bestimmten Membranpotentialfenster zu beobachten sind. Drei weitere Bedingungen können aus der Ungleichung gefolgert werden:

1. Die I-V-Kurve braucht einen Bereich mit ausreichend negativer Steigungsleitfähigkeit
2. Die Inaktivierungsrate darf nicht zu groß werden, d.h.  $\tau_h$  sollte möglichst groß sein<sup>14</sup>
3. Die maximale Leitfähigkeit des Ionenstroms darf nicht zu klein werden<sup>15</sup>

## 3.2 Bedingungen

Im Folgenden sollen systematisch notwendige und eventuell hinreichende Bedingungen für die Generierung von Impedanzresonanz und Membranpotentialoszillationen aufgestellt werden.

Für die Entstehung von Impedanzresonanz müssen zwei Kriterien von den fraglichen Ionenströmen erfüllt werden:

### 3.2.1 L-Kriterium

Phänomenologische Induktivitäten entstehen durch Ströme, die, wie bereits gezeigt, aktiv Potentialveränderungen entgegenwirken. Dabei ist sowohl die Lage des Umkehrpotentials ( $E_{Ion}$ ) des Ions zum aktuellen Haltepotential (MP), als auch das Aktivierungs- bzw. Inaktivierungsverhalten des Ionenkanals entscheidend [80, 32, 133]. Da hauptsächlich Kationen für das elektrische Verhalten der Zelle wichtig sind, kommen zwei mögliche Kombinationen in Frage:

<sup>13</sup>Gleichgewichtsbedingung bei der alle Zeitableitungen verschwinden

<sup>14</sup>Diese Bedingung ließe sich auch im umgekehrtem Sinne für die Aktivierungskinetik verwenden

<sup>15</sup>sonst wird die linke Seite der Ungleichung Null

1. Auswärtsstrom von Kationen:

$$MP > E_{Ion} \quad \wedge \quad \text{verzögerter Anstieg der Leitfähigkeit mit Depolarisation}$$

2. Einwärtsstrom von Kationen:

$$MP < E_{Ion} \quad \wedge \quad \text{verzögerter Anstieg der Leitfähigkeit mit Hyperpolarisation}$$

Diese Bedingungen drücken aus, daß Ströme, deren Umkehrpotential am Fuß (Abb. 3.4) ihrer Aktivierungskurve liegen, Potentialveränderungen entgegenwirken und so induktives Verhalten erzeugen können [62].

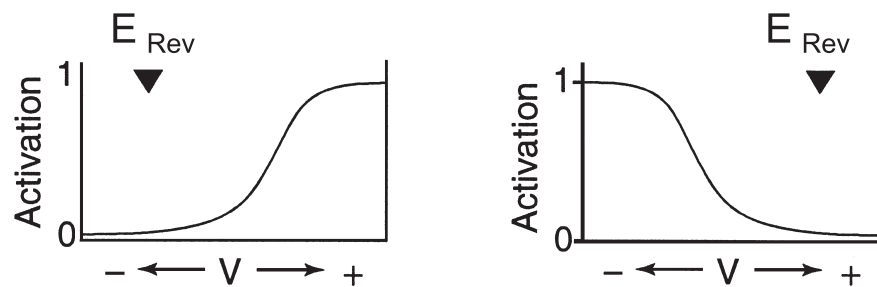


Abbildung 3.4: Das Umkehrpotential ( $E_{Rev}$ ) von resonanzerzeugenden Stömen liegt am Fuß seiner Aktivierungskurve (nach [62]).

### 3.2.2 $\tau$ -Kriterium

Die induktiven Eigenschaften eines Stroms kommen erst dann zum Vorschein, wenn dessen Aktivierungskinetik, verglichen mit der passiven Membranzeitkonstanten, ausreichend langsam ist. Diese Bedingung resultiert aus der Vorstellung, daß die Resonanzeigenschaften des Impedanzverhaltens der Zelle aus der Verbindung von Hoch- und Tiefpasseigenschaften<sup>16</sup> der Membran entstehen. Dabei repräsentieren die passiven<sup>17</sup> Membrankomponenten (RC-Modell) den Tiefpass und die spannungs- und zeitabhängigen Leitfähigkeiten (rL-Modell) den Hochpass [59]. Für beide Komponenten können Eckfrequenzen ihrer Wirkung angegeben werden:

1. Hochpass:

$$f_{aktiv} = \frac{1}{2\pi \cdot \tau_{Ion}} \tag{3.33}$$

mit  $\tau_{Ion}$  : Aktivierungszeitkonstante des Ionenstroms  
 → auf Potentialänderungen, die erheblich schneller als  $\tau_{Ion}$  auftreten kann der Strom nicht reagieren<sup>18</sup>.

<sup>16</sup>Es hat sich die Konvention durchgesetzt, daß sich die Passrichtung auf die Impedanzzunahme bezieht.

<sup>17</sup>„passiv“ wird hier synonym für „nicht zeit- und spannungsabhängig“ verwendet.

<sup>18</sup>und damit dämpfen

2. Tiefpass:

$$f_{passiv} = \frac{1}{2\pi \cdot \tau_M} \quad (3.34)$$

mit  $\tau_M$  : „passive“ Membranzeitkonstante  
 → Potentialänderungen, die schneller als  $\tau_M$  auftreten, werden von den passiven Membraneigenschaften ausgeblendet („shunt-Effekt“).

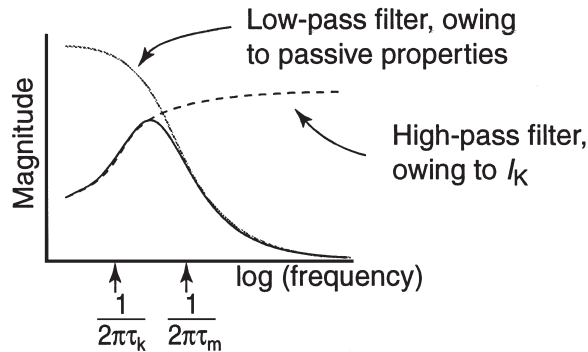


Abbildung 3.5: Resonanzentstehung aus den Bandpasseigenschaften der Membran (nach [62]).

Nur bei ausreichend großem Unterschied zwischen den beiden Eckfrequenzen kann sich die Membranresonanz ausbilden (Abb. 3.5), das heißt:

$$\begin{aligned} f_{passiv} &> f_{aktiv} \\ \cong \tau_M &< \tau_{Ion} \end{aligned}$$

Bislang ist nicht geklärt, ob die Erfüllung des L- und  $\tau$ -Kriteriums hinreichend für das Entstehen der Membranresonanz ist. Weitere Bedingungen könnten noch notwendig sein, wie zum Beispiel die maximale Leitfähigkeit der Ionenkanäle, die Kanaldichte oder die Stärke des Einflusses von anderen Ionenströmen [80, 62, 81].

### 3.2.3 Modulation der Membranresonanz

Notwendige Voraussetzung für eine Interaktion zweier Ströme ist natürlich ein gemeinsamer Membranpotentialbereich, in dem beide eine von Null verschiedene Amplitude besitzen. Ansonsten gelten für Modulationsströme grundsätzlich die umgekehrten Bedingungen wie für Resonanzströme, d.h. sie müssen schnell aktivieren und ihre Wirkung soll Potentialveränderungen unterstützen:

Ein Kationeneinstrom, bei unterschwelligen physiologischen Potentialen, verbunden mit schneller<sup>19</sup> Aktivierung bei Depolarisation verstärkt die Resonanzamplitude, d.h. das Umkehrpotential des Ionenkanals liegt am Maximum der Aktivierungskurve (Abb. 3.6). Die Resonanzgröße kann jedoch auch abgeschwächt werden. Hierfür kommen Auswärtsströme von Kationen in Frage, deren Umkehrpotentiale ebenfalls am Maximum der Aktivierungskurve liegen, die allerdings diesmal mit Hyperpolarisation ansteigt (Abb. 3.6).

<sup>19</sup>verglichen mit der Membranzeitkonstanten

Bei  $\infty$ -schneller Aktivierungskinetik sollten diese Modulationsströme nur auf die Größe nicht aber auf die Frequenz der Resonanz Einfluß nehmen [62, 106].

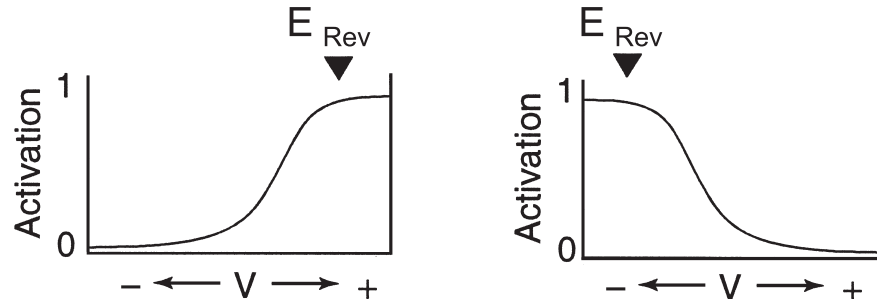


Abbildung 3.6: Ionenkanäle mit Einwärtsrektifikation in de- bzw. hyperpolarisierender Richtung können die Impedanzresonanz verstärken (links) oder dämpfen (rechts). Das Umkehrpotential ( $E_{Rev}$ ) der Ionen liegt dabei am Maximum der Aktivierungskurve (nach [62]).

### 3.2.4 Membranpotentialoszillationen

Geht man bei der Entstehung von Membranpotentialoszillationen von der Interaktion zweier (oder mehrerer) Ionenleitfähigkeiten aus, so ist natürlich erneut die erste Bedingung, daß sie in einen gemeinsamen Potentialbereich in ausreichender Stärke aktiviert sind, d.h. ihre Aktivierungskurven müssen überlappen [178]. Sowohl aus der Bifurkationsanalyse, als auch aus Äquivalenzschaltkreisüberlegungen geht hervor, daß zumindest ein beteiligter Ionenkanal einen Membranpotentialbereich mit negativer Steigungsleitfähigkeit besitzen muß. Dazu müssen zwei Bedingungen erfüllt sein [106]:

Aus dem Ohmschen Gesetz:  $I = g \cdot (V - E)$  folgt für die Steigungsleitfähigkeit:

$$\frac{dI}{dV} = \frac{dg}{dV} \cdot (V - E) + g \quad (3.35)$$

d.h.  $\frac{dI}{dV} < 0$  für:

- (a)  $V < E$  : d.h. möglichst positives Umkehrpotential des Stroms

und

- (b)  $\frac{dg}{dV} \uparrow \uparrow$  : d.h. der Kanal muß genügend stark rektifizieren

Aus der Hopf-Bedingung  $-\frac{\partial I}{\partial V} > \frac{C_M}{\tau_h}$  gehen noch zwei weitere Voraussetzungen an die entsprechenden Ionenkanäle hervor, die sie zu Generierung von Membranpotentialoszillationen erfüllen müssen [80, 102, 178]. Die Ungleichung trifft zu<sup>20</sup>, wenn gilt:

1. Die Inaktivierungszeitkonstante beim Haltepotential ist möglichst groß. Das heißt, der Strom inaktiviert nur langsam.

<sup>20</sup>bei negativer Steigungsleitfähigkeit am Haltepotential

2. Die Amplitude des Ionenstroms beim Haltepotential darf nicht zu klein sein.

Nachdem die wesentlichen Voraussetzungen geklärt sind, unter denen spontane, unter-schwellige Membranpotentialoszillationen und Impedanzresonanz auftreten können, sollen nun weitere Faktoren analysiert werden, die einen Einfluß auf die zwei wichtigsten Charakteristika beider Phänomene, nämlich deren Frequenz und Größe, haben könnten.

### 3.2.5 Temperatur

Die Temperatur ist sicher von großer Bedeutung für praktisch alle elektrochemischen und physiologischen Prozesse eines Neurons. Da die Temperatur allerdings während eines Experiments sehr konstant gehalten werden kann und auch im intakten Gehirn normalerweise keine größeren Schwankungen durchläuft, ist wenig wahrscheinlich, daß sich eine physiologische Bedeutung hinter der Temperaturabhängigkeit der Oszillationen oder der Resonanz verbirgt. Allerdings ist dieser Faktor beim Vergleich von Ergebnissen verschiedener Studien wichtig, die bei unterschiedlichen Versuchsbedingungen durchgeführt wurden<sup>21</sup>. Es sind vor allem die Geschwindigkeitskonstanten  $\alpha$  und  $\beta$ , die eine Temperaturabhängigkeit des Systems bewirken. Dabei hängen sie über den Boltzmann-Faktor  $b(T)$  mit der Versuchstemperatur zusammen:

$$\alpha = \alpha \cdot e^{b(T)} \quad (3.36)$$

So sind es in erster Linie die Frequenzwerte, die mit der Temperatur ansteigen. Die maximale Leitfähigkeit eines Kanals sind dagegen kaum temperaturabhängig [65, 102].

### 3.2.6 Kanaldichte

Für die Kanaldichte gilt ebenfalls, daß sie sich während eines Experiments nicht ändern dürfte. Da sich allerdings die Kanaldichte durchaus von Zelle zu Zelle unterscheidet, kann so zum Teil die Variabilität wichtiger Zellparameter (RMP,  $R_n$ ,  $\tau_M$  ...) und der Frequenz bzw. Größe der Impedanzresonanz und der Membranpotentialoszillationen erklärt werden [102]. Für die Membranpotentialoszillationen können bereits Veränderungen von 1 % empfindliche Auswirkungen haben [57].

Zur Beschreibung der Abhängigkeiten wird ein Kanaldichtefaktor  $\eta$  mit der maximalen Leitfähigkeit des Kanals multipliziert und variiert:

$$G_{Na} = \bar{G}_{Na} \cdot \eta \quad (3.37)$$

Koch [80] konnte so folgende Zusammenhänge aufzeigen:

$r_n, r_m, r_h$ und $C_M$	→	indirekt proportional zu $\eta$
$L_n, L_m$	→	direkt proportional zu $\eta$
$\tau_n, \tau_h$	→	unabhängig von $\eta$

Dadurch nehmen Frequenz und Größe sowohl der Impedanzresonanz als auch der Membranpotentialoszillationen mit der Kanaldichte zu. Experimentell hat dieser Befund zwei Bedeutungen:

<sup>21</sup>daher die Temperaturangaben in Kapitel 2

1. Reduktion der Kanaldichte eines an der Resonanzentstehung beteiligten Ionenkanals durch Applikation eines pharmakologischen Antagonisten führt zu einer Reduktion der Resonanzfrequenz und -qualität bis hin zur Unterdrückung des Phänomens.
2. Aufgrund der inhomogenen Verteilung von Ionenkanälen über verschiedene Bereiche der Neuronenmembran (Dendriten, Soma, Axon) könnten sich dort auch eventuell verschiedene Resonanzfrequenzen und -stärken ausprägen.

Die Kanaldichte hat außerdem noch eine entscheidende Bedeutung in der Frage, wie groß eine „kleine“ Störung des Membranpotentials sein darf, damit die Linearisierung der Hodgkin-Huxley-Gleichung noch erlaubt ist. Die Antwort ist von zwei Faktoren abhängig:

1. der Erregbarkeit der Zelle und damit vor allem von der Ionenkanaldichte<sup>22</sup> des Natriumkanals und der Leck-Kanäle.
2. dem Abstand des Haltepotentials von der Entladungsschwelle also vor allem vom Schwellenpotential der Aktivierung des Natriumkanals.

Koch [80, 81] zeigt, daß bei physiologischen Bedingungen der Bereich der kritischen Potentialveränderung ( $V_{crit}$ ) zwischen 2 und 15 mV liegt. Er geht davon aus, daß normalerweise in Abständen von circa 5 mV ein Äquivalenzschaltkreis mit einem „Satz“ von  $g_x$ -,  $C_x$ - und  $L_x$ - Werten das unterschwellige elektrische Verhalten der Zelle beschreiben kann, wobei sich dieser linearisierbare Membranpotentialbereich proportional zur Veränderung der Kanaldichte  $\eta$  verhält, wie Abbildung 3.7 zeigt.

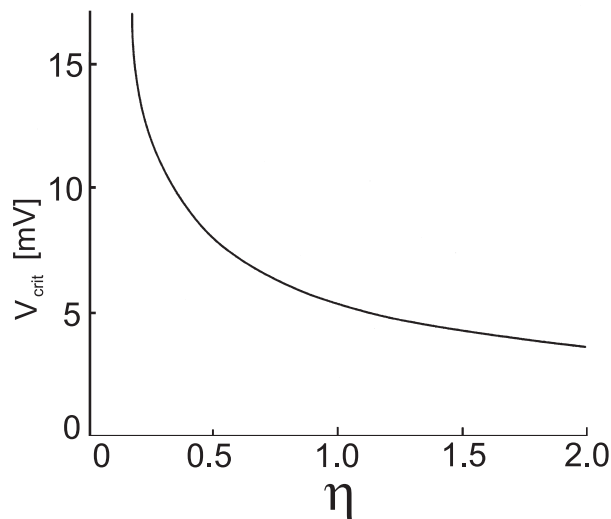


Abbildung 3.7: Die kritische Potentialveränderung  $V_{crit}$ , bei der eine Linearisierung noch zulässig ist, in Abhängigkeit von der Ionenkanaldichte  $\eta$  (nach [80]).

<sup>22</sup>gleicher „Kabeldurchmesser“ wird vorausgesetzt

### 3.2.7 Membranpotential

Das Membranpotential ist der während des Experiments am leichtesten zu verändernde Parameter und auch *in vivo* stellt er den wichtigsten variablen Faktor des elektrischen Verhaltens eines Neurons dar. Da alle Zeitkonstanten über deren Aktivierungs- und Inaktivierungskinetik vom Membranpotential abhängen, liegt nahe, daß auch die Oszillations- und Resonanzfrequenzen spannungsabhängig sind [80, 29, 62, 65, 81, 102]. Zur Analyse des Zusammenhangs betrachtet man ein vereinfachtes Äquivalenzschaltkreis-Modell einer „quasi-aktiven“, das heißt linearisierten, Membran (Abb. 3.8).

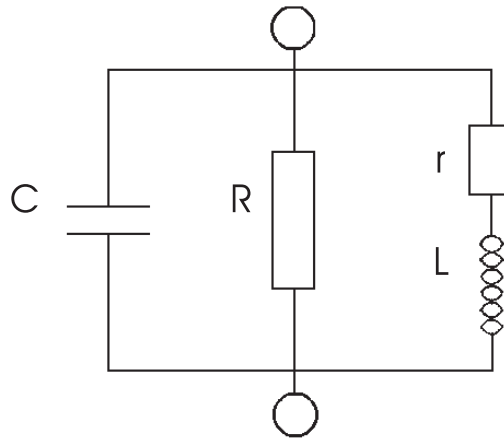


Abbildung 3.8: *RrLC-Parallelschwingkreis. Vereinfachter Äquivalenzschaltkreis der linearisierten Membran.*

Für die Admittanz gilt:

$$\begin{aligned} \frac{1}{Z} &= \frac{1}{R} + \frac{1}{r + i \cdot \omega \cdot L} + i \cdot \omega \cdot C \\ &= \frac{1}{R} \cdot \frac{(1 - \omega^2 \cdot \tau_1 \cdot \tau_2) + \frac{R}{r} + i \cdot \omega \cdot (\tau_1 + \tau_2)}{1 + i \cdot \omega \cdot \tau_2} \end{aligned} \quad (3.38)$$

$$\begin{aligned} \text{mit} \quad \tau_1 = R \cdot C &= \tau_m \\ \tau_2 = \frac{L}{r} &= \tau_l \end{aligned}$$

Daraus folgt für die Impedanz:

$$\begin{aligned} Z &= \text{Re}(Z) + i \cdot \text{Im}(Z) \\ &= R \cdot \frac{x + y \cdot \omega \cdot \tau_2}{x^2 + y^2} + i \cdot R \cdot \frac{x \cdot \omega \cdot \tau_2 - y}{x^2 + y^2} \end{aligned} \quad (3.39)$$

mit

$$\begin{aligned} x &= (1 - \omega^2 \cdot \tau_1 \cdot \tau_2) + \frac{R}{r} \\ y &= \omega \cdot (\tau_1 + \tau_2) \end{aligned}$$

Für das frequenzabhängige Betragsquadrat der Impedanz erhält man so:

$$|Z(\omega)|^2 = R^2 \cdot \frac{r^2 + \omega^2 \cdot L^2}{(CRL)^2 \cdot \omega^4 + (L^2 + C^2 R^2 r^2 - 2CR^2 L) \cdot \omega^2 + (R + r)^2} \quad (3.40)$$

Zum Auffinden der Resonanz müssen die Extrema dieser Gleichung bestimmt werden, d.h.

$$\frac{\partial |Z(\omega)|^2}{\partial \omega} = 0$$

Es existiert die Lösung:

$$(a) \quad \omega^4 + 2 \cdot \left(\frac{r}{L}\right)^2 \cdot \omega^2 + K = 0$$

mit

$$K = \frac{(L^2 + C^2 R^2 r^2 - 2CR^2 L) \cdot r^2 - (R + r)^2 \cdot L^2}{(CRL)^2 \cdot L^2} \quad (3.41)$$

Aus (a) folgt für die Resonanzfrequenzen:

$$\omega_{\max}^2 = -\frac{1}{\tau_2} \pm \sqrt{\frac{1}{\tau_2^2} - K}$$

Davon kommt nur die reelle und positive Lösung in Frage:

$$\omega_{\max} = \sqrt{-\frac{1}{\tau_2} + \sqrt{\frac{1}{\tau_2^2} - K}} \quad \wedge \quad K < \frac{1}{\tau_2^2} \quad (3.42)$$

Es gibt also theoretisch nur ein positives reelles Maximum der Impedanz und auch experimentell wurde bislang immer nur eine Resonanz in den Impedanzspektren gefunden.

Die Resonanzfrequenz ist nach Gleichung 3.42 explizit von zwei Faktoren abhängig: Zum einen von der Zeitkonstanten des Induktivastes und zum anderen einer Konstanten  $K$ , die von allen Schaltkreiskomponenten ( $R$ ,  $C$ ,  $r$  und  $L$ ) bestimmt wird. Für die Wirkung des Membranpotentials auf die entsprechenden Membrankomponenten sind folgende Zusammenhänge bekannt:

- Der apparente Eingangswiderstand  $R$  nimmt mit Depolarisation zu.
- Die Membrankapazität sollte vom Membranpotential unabhängig sein.
- Die induktiven Komponenten  $r$  und  $L$  hängen durch die Geschwindigkeitskonstanten  $\alpha$  und  $\beta$  in nicht-trivialer Weise vom Membranpotential ab.



Um den Verlauf der Resonanzfrequenz in Abhängigkeit der einzelnen Faktoren zu beschreiben, muß daher vor allem die Funktion für die Konstante  $K$  analysiert werden. Für  $K$  gilt in einer ersten Näherung folgende Ungleichung:

$$K = \left(\frac{C}{L}\right)^2 \cdot r^4 - 2 \left(\frac{C}{L}\right) \cdot r^2 - 2 \left(\frac{1}{R}\right) \cdot r - 1 \leq 0 \quad (3.43)$$

$K$  ist also als Polynom 4. Grades von  $r$  darstellbar, daß aufgrund der drei negativen Terme, mehrere Nullpunkte besitzt. Die Ungleichung wird für folgende Bedingungen erfüllt:

$$0 \leq r < r_{kritisch}$$

Wobei gilt:

- Zunahme von  $r$  führt zu negativerem  $K \Rightarrow \omega_{max}$  nimmt zu, bis zum Erreichen des 1. Extremums von  $K$ ; weitere Zunahme von  $r$  führt zur Abnahme von  $\omega_{max}$
- Am Punkt  $r = r_{kritisch}$  ist  $K$  gleich Null und damit, wegen  $\omega_{max} = 0$ , auch keine Resonanz mehr vorhanden
- Bei größerem  $r$  sind keine positiven reellen Lösungen mehr möglich

Aus der Ungleichung für  $K$  gehen außerdem noch einige Bedingungen für die anderen Komponenten hervor, die für ein  $\omega_{max} > 0$  notwendig sind:

Der (Eingangs-) Widerstand  $R$  und die (Membran-) Kapazität  $C$  müssen ausreichend klein und die (phänomenologische) Induktivität  $L$  ausreichend groß sein, damit das Polynom für  $K$  negativ werden kann. Die Bedingungen zur Entwicklung eines von 0 Hz verschiedenen Impedanzmaximums lauten also:

$$\begin{aligned} r &: 0 \leq r < r_{kritisch} \\ L &: L \geq L_{kritisch} \\ C &: C \leq C_{kritisch} \\ R &: \text{möglichst klein} \end{aligned}$$

Die bereits erwähnte Notwendigkeit einer möglichst großen Zeitkonstanten des Resonanzstroms folgt hier aus den Bedingungen des Äquivalenzschaltkreises für  $r$  und  $L$  und dem Zusammenhang  $\tau = \frac{L}{r}$ , was auch die Gültigkeit des Modells unterstreicht.

Offensichtlich ist eine Spannungsabhängigkeit der Resonanzfrequenz ein komplexes Problem, dessen Zusammenhänge schwer abschätzbar sind und man daher bei der Interpretation von Meßergebnissen vorsichtig sein sollte. Hutcheon *et al.* [59] haben diese Spannungsabhängigkeit der Frequenz und des Qualitätsfaktors anhand eines, dem obigen ähnlichen, Modells mit realistischen Werten für neokortikale Neurone simuliert und erhalten den in Abbildung 3.9 zu sehenden, nichtlinearen Verlauf.

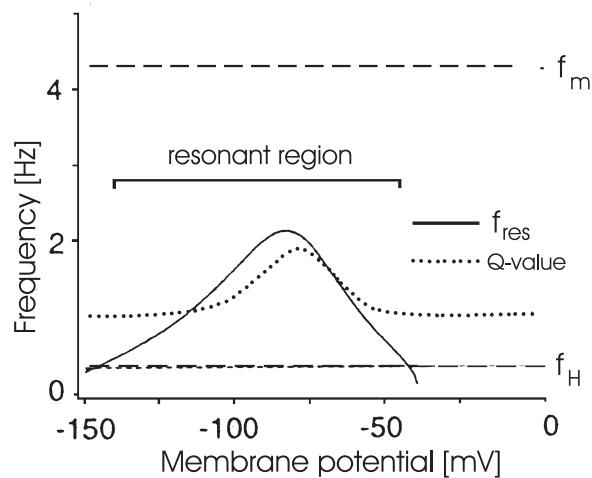


Abbildung 3.9: Theoretische Spannungsabhängigkeit der Resonanzfrequenz- und qualität neokortikaler Neurone ( $T: 24^{\circ}C$ )(nach [59]).

### 3.3 Die Membranzeitkonstante

Auf die Bedeutung der Membranzeitkonstanten für die Impedanzresonanz und die Membranpotentialoszillationen ist in den letzten Abschnitten hingewiesen worden. Daher lohnt sich ein kritischer Blick auf diese häufig verwendete Größe, wie er von Koch *et al.* [82] vorgeschlagen wird:

Unter der Membranzeitkonstanten  $\tau_M$  versteht man allgemein die Antwortzeit der Zelle auf Störungen des Ruhezustands [113]. In den frühen 80er Jahren wurde die Membranzeitkonstante mit wenigen Millisekunden angegeben. Mit verbesserter Technik „wuchs“ er auf Werte von 20 ms bis sogar 100 ms für ZNS-Neurone von Säugetieren an. Auch zeigte sich, daß viele Faktoren Einfluß auf diese eigentlich für passiv gehaltene, Größe haben. Dabei spielt beispielsweise der Aktivitätszustand des Netzwerks eine wichtige Rolle. Synaptische Potentiale können lokal und transient den Wert der Zeitkonstante verändern. Ebenso manipuliert die Gesamtmembranleitfähigkeit den Betrag von  $\tau_M$ . Hierzu tragen sowohl „passive“ Leck-Leitfähigkeiten, als auch „aktive“ spannungs- und zeitabhängige Leitfähigkeiten bei. Auch der Ort der  $\tau_M$ -Bestimmung entscheidet über die Größe des Wertes. So führten dendritische Messungen zu deutlich kürzeren Zeitkonstanten als somatische Messungen, was sowohl auf den geringeren Durchmesser, als auch auf unterschiedliche Kanaldichten zurückzuführen ist. Schließlich können auch chemische Substanzen wie Ionenkanalantagonisten die Membranzeitkonstante beeinflussen.

Es ist also fraglich, ob die Einschätzung, daß es sich bei der Membranzeitkonstanten um eine „passive“ Größe und damit tatsächlich um eine Konstante handelt, richtig ist [82]. Im Zusammenhang mit Membranpotentialoszillationen und der Impedanzresonanz haben diese Überlegungen im Augenblick, insbesondere auf deren Frequenzen, kaum abschätzbare Auswirkungen. Sehr wahrscheinlich ist allerdings, daß nicht nur durch Veränderungen der induktiven Kanalkinetiken, sondern auch über die scheinbar passiven Membraneigenschaften eine Modulation beider Phänomene erfolgen kann.

# Kapitel 4

## Membranleitfähigkeiten

Nachdem im letzten Kapitel die theoretischen Bedingungen für Leitfähigkeiten, die an der Erzeugung und Modulierung von Membranpotentialoszillationen beteiligt sein können, formuliert wurden, sollen nun die in Frage kommenden realen Leitfähigkeiten der Neuronenmembran des zentralen Nervensystems von Säugetieren charakterisiert werden.

### 4.1 Natriumleitfähigkeiten - $I_{Na}$

Der spannungsabhängige Natriumkanal ist zentral an der Generierung von Aktionspotentialen beteiligt. Er besitzt schnelle Aktivierungs- und Inaktivierungskinetiken mit einer durchschnittlichen Offenzeit von circa 1 ms [6, 166]. Die Natriumleitfähigkeit hat einen Membranpotentialbereich mit negativer Steigung zwischen -60 mV und -40 mV [4, 166]. Bei Ruhemembranpotential ist normalerweise der Natriumstrom Null und nimmt erst mit Depolarisation des Membranpotentials ab -65 mV schnell zu [16]. Da das Natrium-Gleichgewichtspotential bei etwa +50 mV liegt [113], ist der  $I_{Na}$  in physiologischen Membranpotentialbereichen ein Kationeneinwärtsstrom. Der wichtigste selektive, pharmakologische Antagonist des  $Na^+$ -Kanals ist das Tetrodotoxin TTX [51].

#### 4.1.1 Der persistierende Natriumstrom - $I_{NaP}$

Eine kleine Fraktion spannungsabhängiger Natriumkanäle (ca. 1 %) aktiviert verzögert auf Depolarisation des Membranpotentials und inaktiviert nicht sofort wieder. Dies hat den sogenannten persistierenden Natriumstrom  $I_{NaP}$  zur Folge [6, 27]. Ob es sich dabei um einen Subtyp des  $Na^+$ -Kanals oder um normale Natriumkanäle in einem persistierenden Modus handelt, ist noch nicht geklärt. Die Aktivierungszeitkonstante des  $I_{NaP}$  beträgt circa 3 ms, für die Inaktivierungszeitkonstante werden Werte zwischen 100 ms und mehr als 400 ms angegeben [166, 27]. Der persistierende  $Na^+$ -Strom aktiviert 3 mV bis 10 mV negativer als der transiente  $Na^+$ -Strom, was zu einer Verschiebung der Aktivierungskurve hin zu negativeren Potentialen führt.

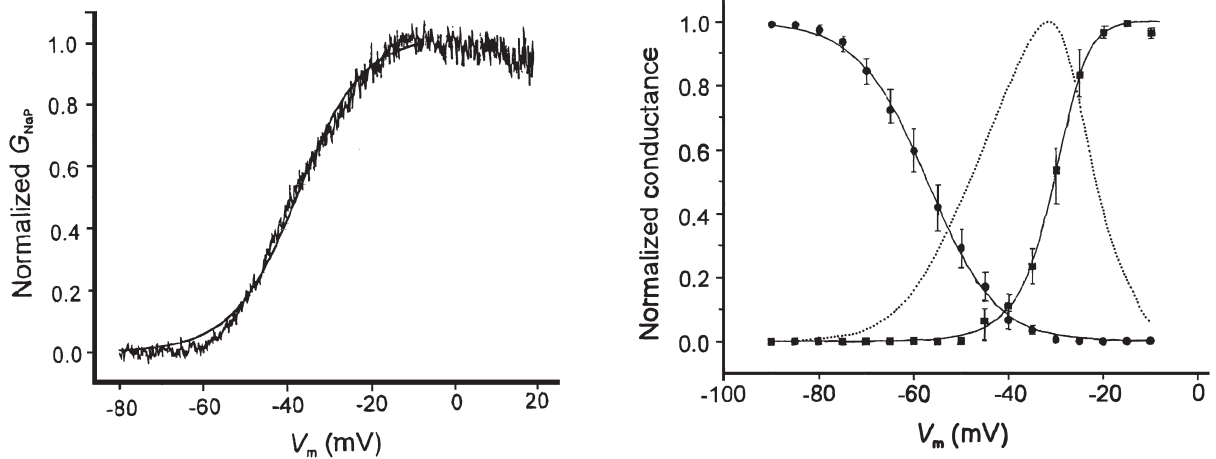
### 4.1.2 Der Natrium- „Fenster“-Strom - $I_{NaW}$

Ein bereits in den 70er Jahren postulierter nicht-inaktivierender Natriumstrom ist der sogenannte Natrium-„Fenster“-Strom  $I_{NaW}$ . Er resultiert aus der Hodgkin-Huxley-Beschreibung der  $I_{Na}$ -Kinetik:

$$\underbrace{I_{NaW}}_{\text{Fenster-Strom}} = m^3 \cdot h \cdot \underbrace{\bar{I}_{Na}}_{\text{maximaler Strom}}$$

Der Überlapp von Aktivierungs- und Inaktivierungskurve (m und h) in einem schmalen Membranpotentialfenster führt zu einem Gleichgewichts-Natriumstrom, der scheinbar nicht inaktiviert [9].

Unterscheiden lassen sich die beiden nicht-inaktivierenden Natriumströme nur in den Aktivierungskurven bei überschwelligen Membranpotentialen (Abb. 4.1). Der  $I_{NaP}$  hat eine sigmoide Aktivierungskurve, wohingegen der  $I_{NaW}$  einen glockenförmigen Spannungsverlauf zeigt.



**A.** Der persistierende Natriumstrom  $I_{NaP}$  mit sigmoidem Aktivierungsverlauf. **B.** Der  $I_{NaW}$  entsteht aus der Überlappung der Aktivierungs- und Inaktivierungskinetik des  $I_{Na}$ .

Abbildung 4.1: Nicht-inaktivierende Natriumströme (nach [4]).

## 4.2 Calciumleitfähigkeiten

Calcium ist eines der wichtigsten Elemente der Zellphysiologie. Es dient sowohl als intrazellulärer Botenstoff („second messenger“) als auch in der elektrochemischen Informationsverarbeitung von Neuronen. Spannungsabhängige Calciumkanäle werden nach ihrem Aktivierungsverhalten in niederschwellig-aktivierende (LVA) und hochschwellig-aktivierende (HVA) Calciumkanäle unterschieden. Das Calcium-Gleichgewichtspotential liegt bei circa +120 mV.  $Ca^{2+}$ -Kanalaktivierung führt also bei physiologischen Membranpotentialen zu einem Kationeneinwärtsstrom [51, 72, 102, 113].

### 4.2.1 LVA (low-voltage-activated) $Ca^{2+}$ -Kanäle

LVA- $Ca^{2+}$ -Kanäle werden wegen ihrer schnellen Inaktivierung auch transiente T-Typ-Calciumkanäle genannt. Sie ähneln in ihrer Kinetik und Spannungsabhängigkeit dem Natriumkanal [113]. Aktivierung des T-Stroms  $I_T$  erfolgt durch Depolarisation, der allerdings eine kurze Hyperpolarisation vorausgegangen sein muß<sup>1</sup>, im unterschweligen Membranpotentialbereich ab -70 mV also etwas negativer als der Natriumstrom [51, 58]. Die Aktivierungszeitkonstante liegt zwischen 10 ms und 60 ms und die Kanäle haben eine durchschnittliche Offenzeit von 10 ms bis 100 ms, wobei die Inaktivierungszeitkonstante mit der Stärke der Depolarisation abnimmt [51, 58, 162]. Die etwas langsamere Kinetik des  $I_T$ , verglichen mit dem  $I_{Na}$ , wird im Hodgkin-Huxley-Formalismus durch eine niedrigere Potenz der Aktivierungsfunktion  $m'$  ausgedrückt [61]:

$$I_{CaT} = \bar{G}_{CaT} \cdot m'^2 \cdot h' \cdot (V - E_{Ca}) \quad (4.1)$$

Wie die Natriumleitfähigkeit hat auch die T- $Ca^{2+}$ -Leitfähigkeit einen Membranpotentialbereich (-60 mV bis -40 mV) mit negativer Steigung [162] und einen Überlapp der Aktivierungs- und Inaktivierungskurven, woraus sich ein T- $Ca^{2+}$ -Fenster-Strom ergibt [62, 102]. Die wichtigsten Kanalantagonisten sind Octanol und vor allem divalente Metallionen wie Nickel, Cadmium und Cobalt.

### 4.2.2 HVA (high-voltage-activated) $Ca^{2+}$ -Kanäle

HVA- $Ca^{2+}$ -Kanäle sind eine heterogene Gruppe von Calciumkanälen mit vergleichsweise hohen maximalen Leitfähigkeiten<sup>2</sup>, die alle erst weit überhalb der Entladungsschwelle aktivieren (-30 mV bis -20 mV) und somit für unterschwellige Untersuchungen nicht berücksichtigt werden müssen [58].

Man unterscheidet mindestens fünf HVA-Kanaltypen die mit L, N, P, Q und R bezeichnet werden und die sich, abgesehen vom molekularen Aufbau, auch in ihren Inaktivierungskinetiken (von 50 ms bis mehrere 100 ms) und spezifischen Antagonisten unterscheiden [51, 113].

<sup>1</sup>De- Inaktivierung des T- $Ca^{2+}$ -Kanals

<sup>2</sup>LVA : 3-9 pS ; HVA : > 20 pS [58]

## 4.3 Kaliumleitfähigkeiten

Kaliumkanäle sind vermutlich die evolutionär ältesten Ionenkanäle und besitzen die höchste Diversität untereinander. Zur Zeit sind über 100 Untereinheiten für Kaliumkanäle bekannt, die sich zu einer Vielzahl von Kanalfamilien mit unterschiedlichster Phänomenologie zusammenlagern können [146]. Allen gemeinsam ist, daß  $K^+$ -Ströme im physiologischen Membranpotentialbereich aufgrund des Kalium-Gleichgewichtspotentials von circa -85 mV [113] Kationenauswärtsströme sind und dadurch normalerweise Störungen des Ruhemembranpotentials entgegenwirken. Die für einen Einfluß auf die Membranpotentialoszillationen und die Impedanzresonanz in Frage kommenden Kaliumleitfähigkeiten sollen im Folgenden charakterisiert werden.

### 4.3.1 $K_v$ -Kanäle - Durch Depolarisation aktivierte $K^+$ -Kanäle

Die Familie der durch Depolarisation aktivierten  $K^+$ -Kanäle, die nicht Calcium-abhängig sind, kann selbst wieder grob in zwei Unterfamilien aufgeteilt werden, die sich vor allem in ihren Kinetiken unterscheiden:

Langsam-inaktivierende  $K_v$ -Kanäle werden der Unterfamilie der sogenannten verzögerten Gleichrichter (Delayed Rectifier DR), schnell-inaktivierende  $K_v$ -Kanäle der Unterfamilie der sogenannten A-Typ- $K_v$ -Kanäle, zugeordnet [104, 132]. Allerdings gibt es eine Reihe von  $K_v$ -Kanälen, deren Eigenschaften zwischen A-Typ und DR-Typ liegen [131, 147]. Allen  $K_v$ -Kanälen ist neben der auswärtsgerichteten Wirkung ihrer (Aktivierungs-) Kinetiken der molekulare Grundaufbau aus 4 Untereinheiten mit 6 Transmembransegmenten gemeinsam, wobei die Porenregion (H5) zwischen Segment S5 und S6 liegt [63, 73, 104].

#### Schnell-inaktivierende $K_v$ -Kanäle - A-Typ

Diese Unterfamilie ist, wie erwähnt, selbst recht heterogen. Charakteristisch für A-Typ-Kanäle ist, daß, ähnlich wie beim T-Typ Calciumkanal, der Aktivierung durch Depolarisation eine vorherige Hyperpolarisation<sup>3</sup> zur De-Inaktivierung vorausgegangen sein muß [44, 51, 104, 113, 131]. Dabei liegt die Aktivierungsschwelle zwischen -50 mV und -60 mV, also im unter-schweligen Membranpotentialbereich [131]. *Per definitionem* sind A-Ströme transient, d.h. die Leitfähigkeiten aktivieren und inaktivieren schnell. Dabei liegt die Inaktivierungszeitkonstante im Bereich von 10 ms bis 180 ms [146] (häufig etwa 50 ms [131]). Die Aktivierungszeitkonstante beträgt etwa 5- 10 ms (< 20 ms [131]). Die Kinetik des A-Typ- $K_v$ -Kanals sorgt dafür, daß der resultierende A-Strom bei länger anhaltender Depolarisation auf einem konstanten, unter-schweligen Haltepotential keine Rolle spielt.

Blockierbar sind A-Kanäle vor allem durch 4-AP, TEA und Cäsium [51, 104, 113, 131].

---

<sup>3</sup>negativ von -70 mV

### Verzögert-gleichrichtende $K_v$ -Kanäle - $K_{DR}$

Der Verzögerte Gleichrichter ist der „klassische“, im Hodgkin-Huxley-Formalismus beschriebene Kaliumkanal:

$$I_K = \bar{G}_K \cdot n^4 \cdot (V - E_K) \quad (4.2)$$

Neben der langsamen, „verzögerten“ Aktivierung ( $> 50$  ms) hat er eine Inaktivierungszeitkonstante von mehreren Sekunden [131]. Da die Aktivierungsschwelle der  $K_{DR}$ -Leitfähigkeit allerdings bei  $-40$  mV bis  $-20$  mV liegt, hat der  $I_{DR}$  im konstant unterschwelligen Membranpotentialbereich keine größere Bedeutung [131, 104].

Blockiert wird der  $K_{DR}$ -Kanal neben TEA auch von 4-AP, Cäsium und Barium [51, 104, 113, 131, 146].

### 4.3.2 Einwärtsgleichrichtende Kaliumkanäle - Kir-Kanäle

Chandy und Gutman [23] haben eine Einteilung der einwärtsgleichrichtenden Kaliumkanäle nach ihrer genetischen Verwandtschaft in 6 Untergruppen, Kir1.x bis 6.x, vorgeschlagen, wobei die einzelnen Untergruppen weiter in mehrere Kanalsubtypen untergliedert werden [34]. Phänomenologisch unterscheiden sich die verschiedenen Kir-Kanäle in der Stärke ihrer gleichrichtenden Wirkung, in der Lokalisation im Nervensystem und in ihren Kinetiken. Allen einwärtsgleichrichtenden Kaliumkanälen ist die Grundstruktur aus 4 Untereinheiten mit 2 Transmembransegmenten gemeinsam [63, 73]. Der Begriff „einwärtsgleichrichtend“ bezieht sich nur auf die Erhöhung der Leitfähigkeit mit zunehmender Hyperpolarisation des Membranpotentials. Der tatsächliche Nettostrom ist natürlich, bei physiologischen Membranpotentialen, wie bei allen Kaliumströmen, aufgrund des Kalium-Gleichgewichtspotentials ein Auswärtsstrom [29]. Der Mechanismus, der zu dieser Einwärtsgleichrichtung führt, ist ebenfalls bei allen Kir-Kanälen gleich:

Bei Vergleichen der molekularen Struktur von  $K_v$ - und Kir-Kanälen fiel auf, daß den Kir-Kanälen der „spannungssensitive“ Bereich fehlt [63], was zu der Frage führte, wie das spannungsabhängige Verhalten der Kanäle zustande kommen kann. Man stellte fest, daß die gleichrichtende Wirkung zwei Komponenten mit unterschiedlicher Zeitabhängigkeit besitzt. Die erste, schnelle<sup>4</sup> und in ihrer rektifizierenden Wirkung stärkere Komponente wird durch intrazelluläres Magnesium, daß die Kanalpore verstopft, vermittelt [114]. Depolarisation verstärkt diesen Mechanismus, was die scheinbare Einwärtsrektifikation zur Folge hat. Die zweite, langsame<sup>5</sup> und schwächere Komponente, die auch bei Magnesium-freier intrazellulärer Lösung besteht, wird von intrazellulären Polyaminen (z.B. Spermine, Putrisine [73]) verursacht. Sie sorgen für eine zeitabhängige<sup>6</sup> Abnahme des Kaliumauswärtsstroms auf Depolarisation, weswegen man ursprünglich von Deaktivierung des Kir-(IRK-) Stroms gesprochen hat [63, 73].

Eine weitere Gemeinsamkeit aller Kir-Kanäle ist die Sensitivität auf extrazelluläres Barium, Cäsium und TEA [33, 51, 63, 113, 161, 163, 176].

Im Säugetiergehirn sind vor allem Kir2.x und Kir3.x von großer Bedeutung [34, 73, 98].

<sup>4</sup> $< 1$ ms [51]

<sup>5</sup>5 - 500 ms [51]

<sup>6</sup>die Dauer hängt u.a. von deren Größe ab

### Kir2.x-Kanäle - IRK

Es sind mindestens drei Subtypen (Kir2.1 - Kir2.3) dieser Untergruppe der Kir-Kanäle bekannt [63, 114]. Sie entsprechen den „klassischen“, ursprünglich IRK-Kanäle genannten, Kalium-Einwärtsgleichrichtern. Neben ihrer molekularen Struktur unterscheiden sie sich hauptsächlich in der Stärke ihrer Gleichrichtung, wobei allerdings alle Kir2.x-Kanäle als stark gleichrichtend gelten [73].

### Kir3.x-Kanäle - GIRK

Zur Zeit sind 4 Subtypen (Kir3.1 - Kir3.4) der Kir3.x-Untergruppe bekannt [63, 73, 114]. Die Besonderheit der Kir3.x-Kanäle ist, daß sie zur Aktivierung einen zusätzlichen Mechanismus über ein G-Protein benötigen, woher auch ihr ursprünglicher Name „GIRK“ stammt [179]. Dabei wirkt die  $G_{\beta\gamma}$ -Untereinheit des G-Proteins direkt, ohne biochemische Zwischenschritte auf den Kanal („Membrane delimited“) [28, 50]. Dadurch ist eine, für die Wirkung von G-Proteinen, schnelle Aktivierung möglich, mit Aktivierungszeitkonstanten der verschiedenen Subtypen zwischen 30 ms und 500 ms wobei der Aktivierungsprozess zum Teil in mehreren Schritten<sup>7</sup> erfolgt [86, 103, 179]. Die Aktivierung bewirken sogenannte PTX-(Pertussistoxin) sensitive G-Proteine, die zur  $G_i/G_o$ -Familie gezählt werden. Diese G-Proteine werden vor allem durch inhibitorische metabotrope Neurotransmitter aktiviert. Im Neokortex sind davon in erster Linie  $GABA_B$ - und  $A_1$ -Adenosin-Rezeptoren, die selektiv durch CGP35348 bzw. DPCPX blockierbar sind, beteiligt [48, 159, 165]. Zudem aktivieren auch  $M_2$ -muskarinische,  $\alpha_2$ -adrenerge,  $\mu/\delta$ -opioide,  $D_2$ -dopaminerge, Histamin- und Serotonin- Rezeptoren  $G_i/D_o$ -Proteine [28, 50, 63, 67, 98, 103]. Moduliert werden können Kir3.x-Kanäle darüber hinaus durch sogenannte RGS<sup>8</sup>-Moleküle, die vor allem zu einer Reduktion der Deaktivierungszeitkonstanten führen [103].

### 4.3.3 Sonstige Kaliumkanäle

Im Zusammenhang mit Membranpotentialoszillationen und Impedanzresonanz tauchen hin und wieder noch zwei weitere Kaliumkanaltypen auf.

#### M-Typ Kaliumkanal

Der M-Strom zeigt eine spannungsabhängige Zunahme der Aktivierung durch Depolarisation des Membranpotentials positiv von circa -70 mV und ist z.T. bei Ruhemembranpotential bereits vorhanden. Er aktiviert mit Zeitkonstanten von 100 ms bis 200 ms. Der M-Kanal inaktiviert nicht von alleine, sondern wird über das G-Protein des muskarinischen<sup>9</sup> Acetylcholin-Rezeptors deaktiviert [72, 107, 113, 116]. Abgesehen von seinem natürlichen Inaktivierungsmechanismus ist der M-Strom durch Barium und TEA blockierbar [33, 51, 78, 113].

<sup>7</sup>dadurch werden zum Teil mehrere Zeitkonstanten angegeben

<sup>8</sup>Regulators of G-Protein signalling

<sup>9</sup>daher der Name „M“-Strom



### Calcium-aktivierte Kaliumkanäle - $K_{Ca}$ -Kanäle

Da zur Aktivierung der  $K_{Ca}$ -Kanäle eine ausreichende intrazelluläre Calcium-Konzentration notwendig ist, sollten sie bei anhaltend unterschwelligen Membranpotentialen keine Bedeutung für Membranpotentialoszillationen oder Impedanzresonanz haben, da der einzig in Frage kommende Calciumkanal (T-Typ) zum einen schnell inaktiviert und zum anderen eine geringe Leitfähigkeit besitzt. Grundsätzlich zählen  $K_{Ca}$ -Kanäle zur  $K_v$ -Familie, werden nach der Größe ihrer maximalen Leitfähigkeiten eingeteilt (3 Subtypen) und sind unter anderem blockierbar durch TEA, Barium und Cäsium [51, 104, 113, 131].

## 4.4 H-Typ Kationenkanal

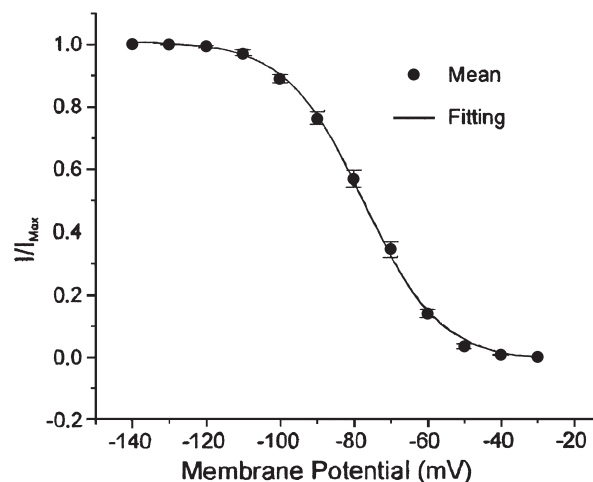


Abbildung 4.2: Spannungsabhängiger Aktivierungsverlauf des H-Kanals (nach [33]).

Ein für die rhythmische Aktivität von Neuronen sehr wichtiger Ionenkanal ist der durch Hyperpolarisation aktivierende, unselektive Kationenkanal, der sogenannte H-Kanal. Da er sowohl Natrium als auch Kalium leitet<sup>10</sup>, liegt sein Umkehrpotential bei -10 mV bis -30 mV und führt somit im unterschwelligen Potentialbereich zu einem Nettokationeneinwärtsstrom, hat also eine depolarisierende Wirkung auf das Membranpotential [43, 99, 116]. Die Aktivierung durch Hyperpolarisation erfolgt verzögert. Dabei ist die Aktivierungszeitkonstante von der Stärke der Hyperpolarisation abhängig: Je größer der hyperpolarisierende Potentialsprung, desto schneller reagiert der Kanal, d.h. die Zeitkonstante wird kürzer. Die Werte liegen an der Aktivierungsschwelle (-40 mV bis -60 mV) bei 1 bis 2 Sekunden und sinken bei maximalem Aktivierungspotential (negativ von -110 mV) auf 100 ms bis 400 ms [49, 116]. H-Kanäle sind also bei allen unterschwelligen Membranpotentialen aktiv (siehe Abb. 4.2) und tragen zur Einstellung des Ruhemembranpotentials bei [99]. Auch die Inaktivierungskinetik des H-Stroms hat einen langsamen, komplexen Zeitverlauf. Der  $I_h$  relaxiert nach Aktivierung langsam auf einen Gleichgewichtswert. Der H-Strom inaktiviert also praktisch nicht [116]. Die Relaxationszeitkonstante ist ebenfalls spannungsabhängig

<sup>10</sup> $g(Na^+)/g(K^+) \approx 1/4$  [17]

und nimmt mit Depolarisation von einigen Sekunden bis auf wenige zehn Millisekunden ab [33, 49]. Der H-Kanal ist ein evolutionär alter Kanal, von dem bislang 4 Subtypen (HCN1 - 4) kloniert wurden, die sich leicht in ihren Kinetiken und der Lokalisation im Nervensystem unterscheiden [17, 110]. Das Kanalprotein besteht aus 4 Untereinheiten mit 6 Transmembransegmenten (Spannungssensor: S4; Pore: S5 - S6) [138]. Im Gegensatz zu den Kir-Kanälen ist der H-Kanal nicht sensitiv für Barium, TEA oder 4-AP und somit den meisten klassischen Kaliumkanalblockern. Auch TTX als spezifischer Natriumkanal-antagonist zeigt keine Wirkung [33, 51, 116]. Dagegen wird der H-Kanal von Cäsium und dem hochselektiven ZD7288 blockiert [43, 116, 160, 163, 180]. Bei Cäsium gibt es Anzeichen, daß es keine vollständige Blockierung des H-Kanals zu bewirken scheint [33]. Es ist bekannt, daß der H-Strom durch direkte Wirkung von intrazellulärem cAMP moduliert werden kann. Dabei verschiebt sich die Aktivierungskurve zu positiveren (2 - 13 mV) Membranpotentialen. Der Strom aktiviert also bei depolarisierten Membranpotentialen schneller und stärker, ohne seine maximale Leitfähigkeit zu verändern [17, 51, 116, 138]. Aktivierung von Rezeptoren, die die intrazelluläre cAMP-Konzentration verändern, wie zum Beispiel  $\beta$ -adrenerge Rezeptoren oder Opioid-Rezeptoren, wirken so auch auf den H-Kanal [17, 49, 50, 99, 163].

# Kapitel 5

## Rauschen in neuronalen Systemen

In der Neurophysiologie wurde und wird eine Vielzahl von zum Teil sehr wichtigen und durchaus physiologischen Vorgängen als Rauschen bezeichnet. So konnte man bis zur Entwicklung der Patch-clamp Technik und den dadurch ermöglichten Einzelkanaluntersuchungen mit Hilfe der Rauschanalyse von Membranpotential-Fluktuationen („Kanalrauschen“) auf die Kinetik von Ionenkanälen schließen [113]. Die Spektraldichte des Kanalrauschens folgt dabei der Gleichung [29]:

$$S_I(f) = \frac{4 \cdot I^2}{N} \cdot \frac{1-p}{p} \cdot \frac{\tau}{1 + \omega^2 \cdot \tau^2} \quad (5.1)$$

mit:  $\tau$  : Zeitkonstante ( $\tau = \frac{1}{\alpha+\beta}$ )  
N : Absolute Anzahl von Kanälen  
I : Strom durch Kanäle  
P : Offenwahrscheinlichkeit des Kanals ( $p = \frac{\alpha}{\alpha+\beta}$ )

Am „Potentialrauschen“ sind neben dem Kanalrauschen noch zahlreiche andere physiologische Vorgänge, wie z.B. (spontane) synaptische Ereignisse beteiligt. Die Spektraldichte der Fluktuationen der Transmembranspannung aller „Rauschquellen“ im Frequenzbereich unter 1 kHz hat dabei einen  $1/\sqrt{f}$ -förmigen Verlauf [29, 76, 81, 112, 177], der sich aus theoretischen Überlegungen am RC-Parallelstromkreis ergibt. Eine „white-noise“-Rauschquelle in einem RC-Kreis führt zu folgender Impedanz [74, 81]:

$$Z(f) = \left( \frac{R}{i \cdot 2\pi \cdot f \cdot C} \right)^{\frac{1}{2}} \sim \frac{1}{f^{\frac{1}{2}}} \quad (5.2)$$

Das sogenannte 1/f-Rauschen ist auch aus technischen Anwendungen bekannt. Allerdings konnte noch keine einheitliche Theorie für diese Rauschfunktion entwickelt werden [74]. Allgemein folgt das Amplitudenspektrum  $S(f)$  des 1/f-Rauschens der Gleichung:

$$S(f) = \frac{K}{f^n} \quad (5.3)$$

mit: K,n: Konstanten

Der Exponent  $n$  bewegt sich zwischen Null und Zwei. Je näher  $n$  gegen Null geht, umso stärker ähnelt das Spektrum dem „weißen Rauschen“. Dagegen bedeutet ein  $n$ -Wert von Zwei, daß das Spektrum einen, aus der Braunschen Molekularbewegung bekannten, Verlauf hat.  $1/f$ -Rauschen entsteht allgemein durch Widerstandsfluktuationen<sup>1</sup> mit einer weiten Verteilung von Zeitkonstanten bei hohen Widerständen (im  $M\Omega$ -Bereich). Eine Temperaturabhängigkeit des  $1/f$ -Rauschens ist umstritten [29]. Interessanter Weise wird dem  $1/f$ -Rauschen ein evolutionärer Zufallsprozess unterstellt, d.h. das gegenwärtige Verhalten wird von der Vergangenheit des Systems beeinflusst und besitzt damit eine gewisse Kausalität, ist also kein rein stochastisches Phänomen. Man spricht vom „Gedächtnis“ des  $1/f$ -Rauschens [74], daß umso weiter in die Vergangenheit zurückreicht, je weiter der  $n$ -Wert vom Wert 1 entfernt ist. Es ist unumstritten, daß das Membranrauschen, in welcher Form auch immer, einen Einfluß auf die neuronale Signaltransduktion hat, insbesondere bei Membranpotentialen, die nahe an der Entladungsschwelle liegen [108]. An solchen kritischen Bifurkationspunkten ist Rauschen wesentlich an der Stabilitätsentscheidung beteiligt [102].

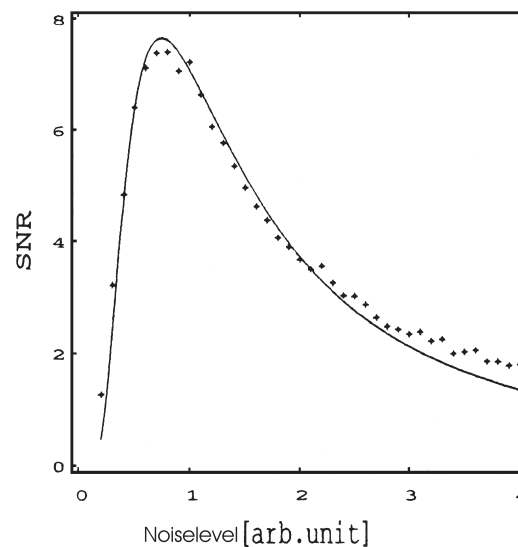


Abbildung 5.1: **Stochastische Resonanz.** Das Signal-zu-Rausch-Verhältnis (SNR) durchläuft ein von der Intensität des Rauschens abhängiges Maximum (nach [76]).

Aus der Beschreibung von bi- und multistabilen Systemen<sup>2</sup> in der Physik stammt ein Phänomen, dem auch in zunehmendem Maße in der Neurophysiologie Bedeutung für die Informationscodierung beigemessen wird [14, 30, 96, 127, 149]: die sogenannte stochastische Resonanz [1, 15, 22, 37, 38, 40, 42, 69, 70, 83, 97, 111, 140]. Voraussetzung für stochastische Resonanz ist neben der Bistabilität noch das Zusammenwirken von Fluktuationen (Rauschen) mit schwachen periodischen Signalen, wie sie bei Neuronen zum Beispiel mit unterschwelligen Membranpotentialoszillationen an der Entladungsschwelle auftreten [174, 175]. Mit stochastischer Resonanz wird das auf den ersten Blick paradoxe

<sup>1</sup>physiologisch: Leitfähigkeitsfluktuationen

<sup>2</sup>Systeme mit Schwellenphänomen, d.h. das System hat einen Grenzzustand, an dem sich sein Verhalten wesentlich ändert

Phänomen bezeichnet, bei dem sich das Signal- zu- Rausch-Verhältnis (SNR) zunächst mit Zunahme der Rauschamplitude verbessert (also zunimmt), dann ein Maximum erreicht und schließlich wieder abnimmt, wie in Abbildung 5.1 zu sehen ist. Sieht man die stochastische Resonanz im neuronalen Zusammenhang, so bedeutet „Signal“ die Wahrscheinlichkeit für die Auslösung eines Aktionspotentials im Rhythmus der periodischen „Vorgabe“, also z.B. der Membranpotentialoszillationen oder der rhythmischen Netzwerkaktivität, das mit anwachsendem Potentialrauschen ein Maximum durchläuft. Diese Betrachtung macht deutlich, daß solch ein Verhalten natürlich gerade dazu prädestiniert zu sein scheint, um bei der Kodierung- und Dekodierung von Information im neuronalen Netzwerk auf zellulärer Basis eine zentrale Rolle zu spielen.

# Fragestellung

Spontane, unterschwellige Membranpotentialoszillationen und die Membranimpedanz von Neuronen sind im Neokortex, insbesondere im Frontallappen, wenig und zum Teil mit widersprüchlichen Ergebnissen untersucht worden. Die Quantifizierung der Messungen wurde bislang unsystematisch durchgeführt und die Problematik bezüglich der Fourier-Transformation zur Frequenzanalyse von neurophysiologischen Signalen ist dabei häufig vernachlässigt worden. Vergleiche zwischen den beiden Phänomenen konnten bislang immer nur indirekt durchgeführt werden, da sie nie systematisch in den selben Zellen analysiert wurden.

Der erste Teil dieser Arbeit beschäftigt sich daher mit einer ausführlichen und grundlegenden Analyse dieser beiden Phänomene in Neuronen des frontalen Kortex (Schicht II/III) der Ratte *in vitro*. Dazu werden alle wesentlichen Merkmale der spontanen, unterschweligen Membranpotentialoszillationen bzw. der Impedanzresonanz, wie phänomenologisches Erscheinungsbild (Frequenzen, Größen etc.), Generierungsmechanismen und pharmakologische Modulierbarkeit analysiert. Zur Quantifizierung der Messungen werden Methoden, die auf das Äquivalenzschaltkreismodell der linearisierten Hodgkin-Huxley-Membran zurückgreifen, vorgeschlagen und deren Gültigkeit überprüft. Zur Steigerung der Meßqualität werden die Versuchsparameter für die Fourier-Transformation untersucht und optimiert. Bei allen Zellen sollen sowohl die spontanen Membranpotentialoszillationen als auch die Membranimpedanz analysiert werden, um unmittelbare Vergleiche zwischen den beiden Phänomenen bezüglich ihrer charakteristischen Merkmale zu ermöglichen.

Nach der Klärung der wichtigsten Charakteristika der spontanen Membranpotentialoszillationen und der Impedanzresonanz wird im letzten Teil der Arbeit versucht eine mögliche physiologische Bedeutung der beiden Phänomene aufzuzeigen. In einem ersten Ansatz soll der Einfluß von Membranpotentialoszillationen bzw. der Impedanzresonanz auf evozierte postsynaptische Potentiale und das resultierende Entladungsverhalten der Neurone untersucht werden.

# Kapitel 6

## Material und Methoden

### 6.1 Inkubationslösungen

Da die Untersuchungen an Gehirnschnittpräparaten *in vitro* durchgeführt wurden, mußten zur Aufrechterhaltung der neuronalen Aktivität über einen längeren Zeitraum diese sogenannten „Slices“ mit einer Lösung perfundiert werden, deren ionale Zusammensetzung dem natürlichen Liquor entspricht. Für Präparation und Perfusion während der Messungen wurden zwei Lösungen verwendet, die sich nur in der Konzentration divalenter Kationen unterscheiden. Die Stammlösung hatte folgende Zusammensetzung:

NaCl	:	125	mM
KCl	:	3	mM
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	:	1.25	mM
NaHCO <sub>3</sub>	:	25	mM
D-Glucose	:	10	mM

Die im Vergleich zum natürlichen Liquor erhöhte Glucose-Konzentration ist zur Gewährleistung des Energiestoffwechsels der Neurone *in vitro* notwendig [90]. Zur Sauerstoffversorgung wird diese ACSF<sup>1</sup> permanent mit Carbogen<sup>2</sup> begast. Das CO<sub>2</sub> bildet zusammen mit dem Natriumhydrogencarbonat einen Säure-Base-Puffer, der bei der Meßtemperatur von 31.5°C für einen pH-Wert von 7.4 sorgt. Die Präparationslösung, die während der Herstellung der Gehirnslices verwendet wurde, enthielt im Vergleich zur Perfusionslösung, die in der Meßkammer während der Ableitungen zirkulierte, eine reduzierte Calciumkonzentration bei gleichzeitig erhöhter Magnesiumkonzentration. Die dadurch bewirkte Verringerung der Erregbarkeit und Stoffwechseltätigkeit der Neuronen im traumatisierten Gewebe führt zu einer deutlich verbesserten Langzeit-Vitalität der Zellen.

Präparationslösung	:	ACSF	+	0.5 mM	CaCl <sub>2</sub>
				3 mM	MgCl <sub>2</sub>
Perfusionslösung	:	ACSF	+	2.5 mM	CaCl <sub>2</sub>
				1.5 mM	MgCl <sub>2</sub>

---

<sup>1</sup>ACSF: artifizielle cerebrospinale Flüssigkeit

<sup>2</sup>95 % O<sub>2</sub> ; 5 % CO<sub>2</sub>

## 6.2 Versuchstiere und Präparation

Die Untersuchungen wurden an Schnittpräparaten des frontalen Kortex von adulten<sup>3</sup> Wistar-Ratten *in vitro* durchgeführt. Die Haltung der Tiere erfolgte in Käfigen bei konstanter Raumtemperatur von 23°C und 12 h Licht pro Tag. Wasser und Futter standen *ad libidum* zur Verfügung.

Die Tiere wurden mit dem volatilen Anästhetikum Isofluran (Abbot GmbH, Wiesbaden) narkotisiert und nach Erreichen des Toleranzstadiums (Ausfall der Stell- und Haltere reflexe, vertiefte und normalfrequente Atmung, fehlender Corneareflex) dekapitiert. Das Gehirn wurde *in toto* entnommen und sofort für mindestens 1 Minute in die eisgekühlte, mit Carbogen gesättigte Präparationslösung gebracht. Anschließend wurde das Cerebellum entfernt und das verbleibende Gehirn entlang der Fissura longitudinalis geteilt. Während eine Hemisphäre wieder in die Präparationslösung zurückgelegt wurde, erfolgte an der zweiten Hemisphäre die Herstellung der Slices. Dazu wurde parallel zur dorsalen Gehirnoberfläche der ventrale Gehirnteil abgetrennt und der dorsale Bereich mit Cyanoacrylat (Bürklin, Deutschland) auf einen Träger aufgeklebt. Nach Befestigung des Trägers in einer ebenfalls mit eiskalter Präparationslösung gefüllten Kammer des Vibratoms (Leica VT1000S), das eine Schnittführung senkrecht zur dorsalen Gehirnoberfläche ermöglichte, wurden 3 - 5 400 µm dicke coronale Schnitte je Hemisphäre angefertigt. Die Slices wurden dann in einer Aufbewahrungskammer mit begaster Präparationsflüssigkeit bei Raumtemperatur für mindestens 2h inkubiert.

## 6.3 Ableitungskammer und Zirkulationssystem

Nach der Erholungsphase wurde jeweils ein Hirnschnitt aus der Aufbewahrungskammer in die Ableitungskammer<sup>4</sup> auf ein streng gespanntes Nylonnetz gelegt. Ein zweites, weitmaschigeres Netz wurde von oben unter mikroskopischer Kontrolle zur Fixierung des Slices aufgelegt. Die Ableitungskammer wurde ständig mit Perfusionslösung durchflutet. Eine Schlauchpumpe sorgte für eine Durchflußrate von 4 - 5 ml/min, wobei die Badlösung vom Boden der Kammer eingeleitet und am oberen Rand der Kammer so abgesaugt wurde, so daß der Hirnschnitt ständig circa 0.2 bis 0.4 cm unterhalb des Flüssigkeitsspiegels lag<sup>5</sup>. Zur Aufrechterhaltung der Versuchstemperatur von 31.5°C wurde die ACSF außerhalb der Kammer in einem Wasserbad vorgewärmt und vor dem Einfluß in die Kammer nochmals durch einen Durchlauferwärmer geleitet.

---

<sup>3</sup>älter als 28 Tage

<sup>4</sup>Ø : 2 cm ; Tiefe : 2.5 cm

<sup>5</sup>„submerged slice“ Technik



## 6.4 Substanzapplikation und verwendete Pharmaka

Alle verwendeten Substanzen wurden über die Badlösung appliziert. Durch die Zirkulation der ACSF mit 4 - 5 ml/min wurde in der Ableitungskammer nach spätestens 10 Minuten die gewünschte Substanzkonzentration erreicht. Die folgenden Konzentrationsangaben beziehen sich immer auf die Endkonzentration in der Badlösung:

### Rezeptorantagonisten:

- APV : D(-)-2Amino-5-phosphonovaleriansäure (Tocris, Biotrend, Köln)  
 Konz. : 10  $\mu\text{M}$  - kompetitiver NMDA- Rezeptorantagonist  
 CNQX : 6-Cyano-7-Nitroquinoxalin-2,3-dion (Sigma, Deisenhofen)  
 Konz. : 10  $\mu\text{M}$  - kompetitiver AMPA/Kainat- Rezeptorantagonist  
 Bicucullin : Methiodid- Salz (Sigma)  
 Konz. : 10  $\mu\text{M}$  - GABA<sub>A</sub>- Rezeptorantagonist  
 CGP35348: P-3-Aminopropyl-P-diethoxymethyl-phosphonsäure (Tocris, Bristol)  
 Konz. : 100  $\mu\text{M}$  - selektiver GABA<sub>B</sub>- Rezeptorantagonist  
 DPCPX : 8-Cyclopentyl-1,3-dipropylxanthin (Tocris)  
 Konz. : 10  $\mu\text{M}$  - selektiver A<sub>1</sub>-Adenosin- Rezeptorantagonist

### Rezeptoragonist und Antioxidans:

- Isoproterenol : (Tocris)  
 Konz. : 100  $\mu\text{M}$  - selektiver  $\beta_1$ -adrenerger- Rezeptoragonist  
 Natriummetabisulfit: Antioxidans; nur gemeinsam mit Isoproterenol angewendet (Tocris)  
 Konz. : 300  $\mu\text{M}$

### Ionenkanalblocker:

- TTX : Tetrodotoxin (Sigma)  
 Konz. : 700 nM - selektiver Na<sup>+</sup>-Kanalblocker  
 TEA : Tetraethylammonium (Tocris)  
 Konz. : 10 mM - unselektiver K<sup>+</sup>-Kanalblocker  
 Ni<sup>2+</sup> : Nickelchlorid wird mit phosphatfreier ACSF angewendet (Sigma)  
 Konz. : 100  $\mu\text{M}$  - Ca<sup>2+</sup>-Kanalblocker (v.a. T-Typ)  
 Ba<sup>2+</sup> : Bariumchlorid (Sigma)  
 Konz. : 100  $\mu\text{M}$  - unselektiver K<sup>+</sup>-Kanalblocker  
 Cs<sup>+</sup> : Cäsiumchlorid (Sigma)  
 Konz. : 2 mM - K<sup>+</sup>- und H-Kanalblocker  
 ZD7288 : 4-N-ethyl-N-phenylamino-1,2-dimethyl-6-methylaminopyrimidiniumchlorid  
 Konz. : 70  $\mu\text{M}$  - selektiver H-Kanalblocker (Sigma)

## 6.5 Elektroden

Für die intrazellulären Messungen des elektrischen Verhaltens der Neurone wurden scharfe Glasmikroelektroden mit Hilfe von mechanischen Mikromanipulatoren in die Zellen eingestochen. Die Glasmikroelektroden bestanden aus Borosilicatglaskapillaren<sup>6</sup> (Harvard Apparatus, Edenbridge, Kent, DB), die durch ein Elektrodenziehgerät (Sutter Instrument Co., San Rafael, USA) zu Pipetten mit einem Spitzendurchmesser von  $< 0.5 \mu\text{m}$  geformt wurden. Die Elektrolytlösung, die in die Glaspipetten eingefüllt wurde, bestand aus 2 M Kaliumacetat und 0.3 M Kaliumchlorid. Diese Zusammensetzung der Elektrolytlösung verhinderte Störungen der Messung von postsynaptischen Potentialen aufgrund von in die Zelle ausdiffundierendem Chlorid [157]. Die eigentliche Meßelektrode bestand aus einem mittels Elektrolyse chloriertem Silberdraht, der in die elektrolytgefüllte Glaspipette eingeführt wurde und der mit dem Meßkopf des Signalverstärkers verbunden war.

Ein wichtiges Charakteristikum der Mikroelektroden ist der Elektrodenwiderstand. Er ist ein indirektes Maß für den Durchmesser der Glaspipettenöffnung. Bei zu großen Durchmessern ( $< 80 \text{ M}\Omega$ ) ist eine stabile Ableitung des Membranpotentials nicht möglich, dagegen führen zu kleine Pipettenöffnungen ( $> 130 \text{ M}\Omega$ ) zu Schwierigkeiten bei der Kompensation der sogenannten Streukapazität.

Diese Elektrodenkapazität entsteht, da die Glaskapillare als Dielektrikum die intrakapilläre Elektrolytlösung von der intrazellulären bzw. extrazellulären Lösung (ACSF) trennt. Sie ist daher auch von der Eintauchtiefe der Elektrode abhängig. Würde man den Elektrodenwiderstand und die Streukapazität nicht elektronisch kompensieren<sup>7</sup>, so entstünde ein zusätzlicher RC-Kreis, der als Tiefpassfilter höhere Frequenzen ausblenden und damit Messungen von schnellen Signalen (z.B. Aktionspotentiale) stören würde [112].

Zu große Elektrodenwiderstände führen außerdem häufig zu Polarisationsartefakten: An Übergängen von Ionenleitung zu metallischer Leitung entstehen Elektrodenpotentiale, die den gemessenen Spannungswert bei Strominjektion verfälschen, d.h. der Elektrodenwiderstand verändert sich während der Strominjektion (Rektifikation). Daher mußten die Mikroelektroden für möglichst störungsfreie Messungen folgende Kriterien erfüllen:

1. Der Elektrodenwiderstand mußte zwischen  $80 \text{ M}\Omega$  und  $130 \text{ M}\Omega$  liegen.
2. Die Streukapazität mußte kompensierbar sein.
3. Es durften keine Polarisationsartefakte auftreten.
4. Der Elektrodenwiderstand mußte bei positiver und negativer Strominjektion gleich bleiben, d.h. die Elektrode durfte keine rektifizierende Wirkung haben.

Zur Bestimmung des Membranpotentials und dessen Veränderungen war noch eine in die ACSF der Ableitungskammer eingetauchte und mit dem Masseingang des Verstärkermeßkopfes verbundene Referenzelektrode notwendig. Diese Erdungselektrode bestand aus einer gebogenen Glaskapillare, die mit einer festen 5% Agar/5% Graphit-Mischung um einen zweiten chlorierten Silberdraht gefüllt war.

<sup>6</sup>Außendurchmesser : 1.5 mm ; Innendurchmesser : 0.86 mm

<sup>7</sup>vgl. 6.6

Zur Auslösung von synaptischen Potentialen diente eine konzentrische, bipolare Silberelektrode<sup>8</sup>, deren Spitze im Gewebe versenkt wurde. Diese Reizelektrode war über eine Konstantstromquelle (max.: 1000  $\mu\text{A}$ ) mit einem Reizgenerator (Master 8, A.M.P.I., Israel) verbunden, mit dem man die Reizdauer (100  $\mu\text{s}$ ) und das Reizintervall (11.1 s) einstellen konnte.

## 6.6 Signalverstärker

Zur Amplifizierung der intrazellulären Signale wurde ein Verstärker (SEC 10L, npi, Tamm, Deutschland) verwendet, der neben der Potentialmessung auch die Manipulation der Membranspannung durch Injektion von Strom über die Mikroelektrode in die Zelle erlaubte. Diese gleichzeitige Spannungsmessung und Strominjektion wurde über eine moderne Schaltung, die der Wheatstoneschen Brückenschaltung äquivalent ist, realisiert. Sie ermöglichte die Kompensation des durch Strominjektion verursachten Spannungsabfalls am elektrischen Widerstand der Elektroden Spitze. Außerdem konnte der Verstärker über eine schnelle Rückkopplungsschaltung die Streukapazität der Mikroelektroden neutralisieren. Die zeitliche Steuerung der Strominjektion zur Manipulation des Membranpotentials erfolgte über den bereits erwähnten Reizgenerator. Ein Funktionsgenerator (HM8131-2, Hameg Instruments, Frankfurt) ermöglichte die Wechselstromapplikation. Dabei konnten sowohl einfache, sinusförmige, monofrequente (0.01 Hz - 10 kHz) Ströme erzeugt werden, als auch, im sogenannten „wobble“-Betrieb, Wechselströme, deren Frequenz sich linear oder logarithmisch von einer Startfrequenz auf eine Endfrequenz steigert<sup>9</sup>. Der Frequenzbereich kann dabei zwischen 0.1 Hz und 1 kHz liegen. Über den Verstärker wurden so Wechselströme von 0.05 nA bis 0.15 nA in die Zelle injiziert.

## 6.7 Datenaufnahme

Die abgeleiteten Signale wurden auf einem Speicheroszilloskop (Hameg, Frankfurt) und einem Y(t)-Schreiber (Gould Inc., Instruments Division, Cleveland, USA) dargestellt. Die durch einen A/D-Wandler (CED 1401, Cambridge Electronic Devices, UK) digitalisierten Daten wurden zur späteren Auswertung auf einem Laborcomputer gespeichert. Die Digitalisierungsraten für die Analysen der Membranpotentialoszillationen und der Impedanzresonanz hängen von der Aufnahmedauer ab. Die maximale Kapazität wurde von der Software des A/D-Wandlers auf 5000 Meßpunkte begrenzt. Bei einer maximalen Aufnahmedauer von 20 Sekunden bedeutet das eine maximale Digitalisierungsfrequenz von 250 Hz.

---

<sup>8</sup> $\varnothing$  : 100  $\mu\text{m}$

<sup>9</sup>Der Frequenzverlauf steigert sich digital in 1024 Schritten in maximal 20 Sekunden

## 6.8 Neuronenklassifizierung

Um zu gewährleisten, daß nur intakte Neuronen einer homogenen Population in die Auswertung eingingen, wurden die Zellen auf vier klassische Charakteristika hin untersucht:

- |  |                        |
|--|------------------------|
| 1. Passive elektrotonische Eigenschaften | 2. Entladungsverhalten |
| 3. Strom-Spannungs-Kennlinie             | 4. Morphologie         |

### 6.8.1 Passive elektrotonische Eigenschaften

Zu den passiven elektrotonischen Eigenschaften zählt der Eingangswiderstand  $R_n$ , die „passive“<sup>10</sup> Membranzeitkonstante  $\tau_M$ , sowie die daraus ableitbare elektrotonische Länge  $L$  [65, 112]. Zur Bestimmung der Werte wurde ein hyperpolarisierender Strompuls (0.1 nA für 300 ms) in die Zellen injiziert und der zeitliche Verlauf der Spannungsänderung bis zum Erreichen eines neuen Gleichgewichtszustands gemessen. Dabei sollte der Strompuls möglichst klein sein, um einen Einfluß von spannungsabhängigen Leitfähigkeiten ausschließen zu können. Grundlage der Berechnung der gesuchten Werte aus der Spannungsfunktion ist das einfache RC-Äquivalenzschaltkreismodell:

Der Eingangswiderstand wurde anhand des Ohmschen Gesetzes durch Division der Spannungsänderung am Ende des Strompulses mit der applizierten Stromstärke bestimmt.

Aus dem zeitlichen Verlauf der Spannungsänderung errechnet sich die Membranzeitkonstante. Für das kugelsymmetrische Ein-Kompartiment-Neuronenmodell wurde die notwendige Formel bereits in Gleichung 3.24 auf Seite 23 hergeleitet:

$$V(t) = V_0 \cdot e^{-\frac{t}{\tau_0}}$$

Will man die tatsächliche Gestalt der Neurone mit Soma, Dendritenbaum und Axon mehr berücksichtigen, so kann man dieses Modell auf beliebig viele Kompartimente erweitern [65]. Jedes Kompartiment stellt dabei im einfachsten Fall ein RC-Glied dar, mit der entsprechenden Lösung für die Differentialgleichung der Spannungsveränderung. Das Gesamtergebnis für ein solches Multi-Kompartiment-Modell ist eine Linearkombination aus den einzelnen Lösungen. Für  $i$ -Kompartimente gilt also:

$$V(t) = \sum_i V_i \cdot e^{-\frac{t}{\tau_i}} \quad (6.1)$$

Die Messungen zeigen, daß eine Auflösung jenseits des zweiten Kompartiments nicht ohne größere Fehler möglich ist<sup>11</sup>. Daher beschränkt man sich normalerweise auf die Angabe von zwei Zeitkonstanten für die ersten beiden Kompartimente (Soma und erste dendritische Verzweigung bzw. Axon):

$$V(t) = V_0 \cdot e^{-\frac{t}{\tau_0}} + V_1 \cdot e^{-\frac{t}{\tau_1}} \quad (6.2)$$

mit:  $\tau_0$  : Zeitkonstante für das Soma  
 $\tau_1$  : Zeitkonstante für das 1. Kompartiment

<sup>10</sup>auf die Problematik des Begriffs „passiv“ wurde z. B. in Kap. 3.3 bereits hingewiesen

<sup>11</sup>zum „space-clamp“ Problem siehe Spruston *et al.* [148]

Die mit der Längskonstanten  $\lambda$  normierte Gesamtlänge des Kompartiments  $l$  wird elektronische Länge  $L$  genannt:

$$L = \frac{l}{\lambda} \quad (6.3)$$

Dabei gibt die Längskonstante  $\lambda$  die Entfernung an, bei der eine Potentialveränderung auf den 1/e-ten Wert abgesunken ist<sup>12</sup>:

$$V_\lambda = V_0 \cdot e^{-\frac{x}{\lambda}} \quad (6.4)$$

Vergleicht man den zeitlichen Verlauf mit der räumlichen Verteilung der Spannung in einem Kabel (Kompartiment-Modell) der Länge  $l$ , so erhält man die folgende Gleichung<sup>13</sup> für die Zeitkonstante des  $n$ -ten Kompartiments [65]:

$$\tau_n = \frac{\tau_0}{1 + \frac{n^2 \cdot \pi^2}{L^2}} \quad (6.5)$$

mit:  $\tau_0$  : Zeitkonstante für 0-tes Kompartiment (Soma)

Daraus folgt für  $n = 1$  :

$$L = \pi \cdot \left( \frac{\tau_0}{\tau_1} - 1 \right)^{-\frac{1}{2}} \quad (6.6)$$

Somit können Werte für die elektronische Länge  $L$  aus den gemessenen Zeitkonstanten abgeschätzt werden.

Ein Wert  $L < 1$  bedeutet also, daß sich eine Potentialveränderung (z.B. EPSP) im Dendritenbaum (1. Kompartiment) mit weniger als 37 % Amplitudenverlust im Soma bemerkbar macht, da die Länge des Kompartiments kleiner ist als die Längskonstante. Man spricht von elektrotonisch kompakten Neuronen. Umgekehrt bezeichnet man Neuronen mit Werten  $L > 1$  als elektrotonisch nicht kompakt.

## 6.8.2 Entladungsverhalten

Seit Anfang der 80er Jahre werden neokortikale Neurone nach ihrem Antwortverhalten auf überschwellig depolarisierende Strompulse in vier Gruppen eingeteilt [150]:

Die größte und wichtigste Gruppe ist die der **regulär entladenden Neuronen**. Sie zeigen bei anhaltender Stimulation Salven von Aktionspotentialen, die schnell adaptieren und mit relativ konstanter, niedriger Frequenz ( $\sim 10$  Hz) bis zum Ende der Stimulation verbleiben. Bei sogenannten „**intrinsic burst**“ **Neuronen (IB)** führt anhaltende überschwellige Depolarisation zu rhythmischen Entladungen von Aktionspotentialclustern, die mit 5 - 10 Hz wiederkehren. Im Vergleich dazu entladen „**fast rhythmic bursting**“ **Neurone (FRB)** mit höherer Frequenz, sowohl was die Aktionspotentialrate (300 - 600 Hz), als auch was die Clusterfrequenz (30 - 50 Hz) betrifft. Schließlich zeigen **schnell entladende Neurone (FS)** anhaltend hohe Aktionspotentialfrequenzen ( $> 100$  Hz) mit schwacher oder keiner Frequenzadaptation.

<sup>12</sup>Die Längskonstante  $\lambda$  ist das räumliche Analogon zur Zeitkonstante  $\tau$

<sup>13</sup>Lösung der eindimensionalen nichtstationären Kabelgleichung (vgl. Jack *et al.* [65])

Regulär entladende und intrinsic burst Neurone konnten morphologisch meist als Pyramidenzellen identifiziert werden, wobei IB-Neurone praktisch ausschließlich in Schicht V vorkommen. FRB- und FS-Neurone sind zumeist GABAerge Interneurone. Da bekannt ist, daß Neurone verschiedene Aktionspotentialmuster je nach physiologischem Zustand zeigen können [150], sollte diese Klassifizierung allerdings nicht zu streng gesehen werden.

### 6.8.3 Strom-Spannungs-Kennlinie

Um auch die spannungsabhängigen Leitfähigkeiten in die Charakterisierung mit einzubeziehen, wurden mit Hilfe von Stromrampen<sup>14</sup> und der korrespondierenden Spannungsantwort sogenannte Strom-Spannungs-Kennlinien (I-V-Kurven) erstellt. Abweichungen vom linearen, Ohmschen Verlauf des Membranpotentials in de- oder hyperpolarisierender Richtung zeigen Rektifikationen aufgrund von spannungsabhängigen Leitfähigkeiten an, die insbesondere für neokortikale Neurone einen charakteristischen Verlauf besitzen.

### 6.8.4 Morphologie

Zur Überprüfung der Lage (Schicht II/III) und Form (Pyramidenzellen) der abgeleiteten Neurone wurden die Zellen mit dem Farbstoff Biocytin (Sigma, Deisenhofen) markiert. Hierzu wurde der Elektrolytlösung in der Ableitungselektrode 2 % Biocytin zugesetzt und durch Applikation von hyperpolarisierenden Strompulsen<sup>15</sup> für mindestens 15 Minuten in die Zelle injiziert. Anschließend wurde der so behandelte Hirnschnitt für 30 Minuten in begaster ACSF bei Raumtemperatur inkubiert, damit sich der Farbstoff auch in die apikalen Dendriten des Neurons ausbreiten konnte. Zur Fixierung wurden die Hirnschitte zunächst bei Raumtemperatur in 5 %-iger Paraformaldehydlösung<sup>16</sup> für eine Stunde eingelegt. Zur Konservierung wurden die Präparate dann in 30 %-iger Saccharoselösung (in PBS) verbracht und bei 4°C bis zur weiteren Bearbeitung aufbewahrt. Aus den 400 µm dicken Hirnschnitten wurden mittels eines Gefriermikrotoms histologische Präparate mit 50 µm Dicke hergestellt und für 30 Minuten bei Raumtemperatur in 3 %-iger Wasserstoffperoxidlösung inkubiert. Zur Vorbehandlung wurden die Schnitte in 10 % Normalserum und 0.1 % Triton-X, gelöst in PBS, übertragen. Nach dreimaligem kurzen Waschen in der PBS-Lösung eines Avidin-Biotin-Meerrettichperoxidase-Komplexes erfolgte die Sichtbarmachung des Biocytins durch Reaktion mit 0.005 %-igem Diaminobenzidin Tetrahydrochlorid und 3 %-igem Wasserstoffsuperoxid<sup>17</sup>. Zur dauerhaften Aufbewahrung wurden die Schnitte mit Entellan eingedeckelt. Analysiert und digitalisiert wurden die Färbungen mit einer, an ein aufrechtes Mikroskop (BX50; Olympus; Hamburg) angebrachten CCD-Kamera (HV20M; Hitachi; Japan) und mit dem Bildbearbeitungsprogramm Neurolucida (MicroBrightField; Colchester; USA).

<sup>14</sup>Dauer : 2 Sekunden; Amplitude :  $\pm 0.6$  nA

<sup>15</sup>Dauer : 850 ms; Frequenz : 1 Hz

<sup>16</sup>in Natrium/Kalium-Phosphatpuffer; pH 7.35; PBS

<sup>17</sup>gelöst in PBS; Dauer : 5 - 10 min

## 6.9 Fourier-Transformation

Erst die Frequenzanalyse der Spannungsveränderungen, ob spontan auftretend oder durch Wechselströme zur Impedanzuntersuchung induziert, macht eine quantitative Aussage über die Phänomene der Impedanzresonanz und der Membranpotentialoszillationen möglich. Die verwendete Fourier-Transformation ist daher von zentraler Bedeutung für diese Untersuchung. Deshalb soll im folgenden ein kurzer Überblick über die Theorie der Fourier-Analyse und deren Möglichkeiten und Einschränkungen gegeben werden [11, 19, 54, 75, 84, 89, 136, 183].

### 6.9.1 Grundlagen

Auf Jean-Baptiste Joseph Baron de Fourier<sup>18</sup> geht die Erkenntnis zurück, daß jede periodische Funktion in einer Reihe von Sinus- und Cosinus-Funktionen mit verschiedenen Frequenzen dargestellt werden kann. Die nach Fourier benannte Reihe hat die Form:

$$y(x) = a_0 + \sum_{k=1}^{\infty} [a_k \cdot \cos(k \cdot x) + b_k \cdot \sin(k \cdot x)] \quad (6.7)$$

mit den Fourierkoeffizienten  $a_k, b_k$  mit  $k = 1, 2, \dots, n$

oder in komplexer Form:

$$y(x) = \sum_{k \rightarrow -\infty}^{\infty} \underline{c}_k \cdot e^{ikx} \quad (6.8)$$

mit den komplexen Fourierkoeffizienten für  $2\pi$ -periodische Funktionen:

$$\underline{c}_k = \frac{1}{2\pi} \cdot \int_{-\pi}^{+\pi} y(x) \cdot e^{-ikx} dx \quad \text{also} \quad \underline{c}_k \in \mathbb{C} \quad (6.9)$$

Allgemein:

$$\underline{c}_k = \frac{1}{T} \cdot \int_{-\frac{T}{2}}^{+\frac{T}{2}} y(t) \cdot e^{-\frac{i \cdot k \cdot \pi}{T} \cdot t} dt \quad (6.10)$$

Will man auch nichtperiodische Funktionen beschreiben, d.h. die Fourierreihe auf allgemeine, zeitkontinuierliche Funktionen/Signale erweitern, so gelangt man zum Fourier-Integral, das die Fourier-Transformation definiert:

$$H(\omega) = a_1 \cdot \int_{-\infty}^{+\infty} h(t) \cdot e^{-i\omega t} dt \quad (6.11)$$

mit der Fourier-Rücktransformation:

$$h(t) = a_1 \cdot \int_{-\infty}^{+\infty} H(\omega) \cdot e^{i\omega t} d\omega \quad (6.12)$$

---

<sup>18</sup>1768 - 1830

Setzt man in den Gleichungen 6.11 und 6.12  $\omega = 2\pi \cdot f$ , so gilt für die Koeffizienten:

$$a_1 = a_2 = 1$$

Es gilt folgende Nomenklatur:

$$\begin{aligned} h(t) &: \text{ Ursprungsfunktion} \\ H(\omega) &: \text{ Fourier-Transformierte von } h(t) \text{ oder Spektralfunktion von } h(t) \end{aligned}$$

Die Fourier-Transformierte stellt sowohl die Frequenzen als auch die Amplituden der einzelnen Sinusfunktionen dar. Dabei geschieht eine Zerlegung in positive und negative Komponenten, was zur Folge hat, daß der Amplitudenbetrag halbiert wird<sup>19</sup>. Wichtig ist zu erkennen, daß auch das Fourier-Integral Periodizität der Zeitfunktion  $h(t)$  annimmt, allerdings mit einer Periode  $T \rightarrow \infty$ . Das führt in der realen Anwendung der Fourier-Transformation zu Problemen, da der Übergang  $T \rightarrow \infty$  nicht möglich ist. In der Fourier-Transformierten ist die gesamte Information der ursprünglichen Zeitfunktion enthalten, so daß die Auswertung im Zeit- bzw. Frequenzbereich gleichwertig ist<sup>20</sup>. Zur Auswertung der Membranpotentialoszillationen bzw. der Impedanzresonanz wird das Amplitudenspektrum der entsprechenden Fourier-Transformierten verwendet, das angibt, wie „stark“ jede Frequenz in der Zeitfunktion enthalten ist:

$$H(f) = \text{Re}(f) + i \cdot \text{Im}(f) \quad (6.13)$$

$$= |H(f)| \cdot e^{i\Theta(f)} \quad (6.14)$$

mit  $|H(f)|$  : Amplitudenspektrum von  $h(t)$

$$|H(f)| = \sqrt{\text{Re}^2(f) + \text{Im}^2(f)} \quad (6.15)$$

Für die physikalischen Einheiten von Zeit- und Spektralfunktion gilt:

$$\begin{aligned} \text{Bsp. :} \quad & \text{für} \quad f(t) \quad \rightarrow \quad [\text{V}] \\ & \Rightarrow \quad F(i\omega) \quad \rightarrow \quad [\text{Vs}] = \quad \left[ \frac{\text{V}}{\text{Hz}} \right] \\ & \text{ebenso} \quad |F(i\omega)| \quad \rightarrow \quad \left[ \frac{\text{V}}{\text{Hz}} \right] \\ & \text{analog für} \quad f(t) \quad \rightarrow \quad [\text{A}] \end{aligned}$$

<sup>19</sup>dies führt zum Gibbschen Phänomen bei der Rücktransformation

<sup>20</sup>Parsevalsches Theorem



### 6.9.2 Anwendung

In der realen Anwendung können zeitkontinuierliche, nichtperiodische Signale nicht komplett aufgenommen werden ( $T \rightarrow \infty$ ). Außerdem erfolgt die Aufnahme der Funktionswerte über einen Computer immer in diskreten Schritten (Digitalisierung). Diese Einschränkungen führen zur diskreten Fourier-Transformation, die häufig auf Computern mit einem schnellen Algorithmus, der sogenannten Fast-Fourier-Transformation (FFT), durchgeführt wird. Die Anpassung an die realen Bedingungen haben folgende Konsequenzen:

Aus  $N$  reellen Abtastwerten können Amplitude und Phase wegen der Zusammensetzung aus Imaginär- und Realteil nur für  $N/2$  diskrete Frequenzen bestimmt werden. Dabei liegt der darstellbare Frequenzbereich zwischen 0 Hz und  $f_a/2$ , wobei  $f_a$  der Abtastfrequenz<sup>21</sup> entspricht:

$$f_a = \frac{1}{T_a} \quad (6.16)$$

mit:  $T_a$  : Abtastintervall

Der kleinste Abstand<sup>22</sup> den zwei Frequenzlinien haben müssen um noch getrennt zu erscheinen ist:

$$\Delta f = \frac{1}{N \cdot T_A} = \frac{1}{T} \quad (6.17)$$

mit:  $N$  : Anzahl der Abtastintervalle  
 $T$  : Meßzeit/Aufnahmedauer

Die Trennschärfe ist also indirekt proportional zur Meßzeit, d.h. nicht die Digitalisierungsfrequenz, sondern die Aufnahmedauer ist für die spektrale Auflösung entscheidend:

Bsp. :	Dauer	→	Auflösung
	1 s	→	1 Hz
	10 s	→	0.1 Hz
	20 s	→	0.05 Hz

Allerdings führt eine zu geringe Abtastfrequenz zu Fehlern bei der Auswertung: der Bandüberlappung oder Aliasing. Dabei werden Frequenzen, die schneller sind als die Abtastfrequenz nicht erkannt beziehungsweise falsch interpretiert und führen so zu fehlerhaften, nicht mehr eindeutigen Amplitudenspektren. Um Aliasing zu verhindern, muß bei der Abtastung das Nyquist-Theorem eingehalten werden:

$$\text{Abtastfrequenz} \geq 2 \cdot f_c$$

$f_c$  : höchste, im Spektrum enthaltene, Frequenz

Zur Fehlervermeidung sollten daher die Signale tiefpassgefiltert werden, um Frequenzanteile, die im Bereich über  $2 \cdot f_c$  liegen, auszuschließen.

---

<sup>21</sup>Digitalisierungsfrequenz

<sup>22</sup>spektrale Auflösung

Da die Meßdauer nicht unendlich groß werden kann, muß die Aufnahme mit einer Fensterfunktion begrenzt werden. Jede Fensterfunktion führt zu Problemen, da die FFT immer von einer periodischen Fortsetzung des abgetasteten Signals ausgeht. Das führt zum sogenannten Leckeffekt<sup>23</sup> (Leakage), der eine Linienverbreiterung und somit eine Verringerung der spektralen Auflösung zur Folge hat. Bei transienten, also zeitlich abklingenden Signalen, darf nur das sog. Rechteckfenster<sup>24</sup> angewendet werden. Die Fourier-Transformation hat eine Reihe von Charakteristika, die bei der Anwendung in der Neurophysiologie bedeutsam sein können. Die Wichtigsten sind in Abbildung 6.1 skizziert:

- A:** Zeitkontinuierliche Funktionen führen zu einem nichtperiodischen Frequenzpeak bei 0 Hz, d.h. konstantes Rauschen in neurophysiologischen Ableitungen erhöht den Amplitudenwert bei 0 Hz im Spektrum.
- B:** Zeitdiskrete Einzelpulse (Dirac-Pulse) führen zu einer Konstanten im Frequenzbereich, d.h. idealisierte Aktionspotentiale erhöhen das Rauschen im Amplitudenspektrum bei allen Frequenzen.
- C:** Rechteckförmige Zeitfunktionen führen zu gedämpften Sinusschwingungen der Frequenzfunktion.
- D:** Rampenfunktionen im Zeitbereich (nichtperiodisch) führen zu abklingenden Schwingungen mit positiver Amplitude im Frequenzbereich (frequenzkontinuierlich) mit einem Maximum bei 0 Hz. Solche Funktionen nähern, kombiniert mit Punkt B<sup>25</sup>, reale Aktionspotentiale an. Die Folge von Entladungen in der Aufnahme ist also ein erhöhter Rauschteppich mit einer starken Welligkeit des Spektrums, welche die anderen Signalanteile überlagern.
- E:** Periodische Zeitfunktionen führen zu frequenzdiskreten Signalen im Amplitudenspektrum mit Peaks bei  $\pm f$ . Durch die Rechteckfensterung der Zeitfunktion<sup>26</sup> kommt es zum „Verschmieren“ der im Idealfall diskreten Frequenzpeaks und damit zu einer Verschlechterung der spektralen Auflösung (Leakage).
- F:** Grundsätzlich ist die Fourier-Transformation eine lineare Abbildung der Zeitfunktion:

$$\left. \begin{array}{l} y(t) \rightarrow Y(\omega) \\ x(t) \rightarrow X(\omega) \end{array} \right\} \Rightarrow K_1 \cdot y(t) + K_2 \cdot x(t) \rightarrow K_1 \cdot Y(\omega) + K_2 \cdot X(\omega) \quad (6.18)$$

<sup>23</sup>dem „Auslaufen“ von Energie aus den Spektrallinien

<sup>24</sup>Abbruch der Aufnahme nach der Zeit T (vgl. Abb. 6.1 C und E)

<sup>25</sup>geht die Spitze der Rampe gegen  $\infty$ , so erhält man einen Dirac-Puls

<sup>26</sup>mathematisch bedeutet dies eine Faltung von Rechteckfunktion mit der Signalfunktion

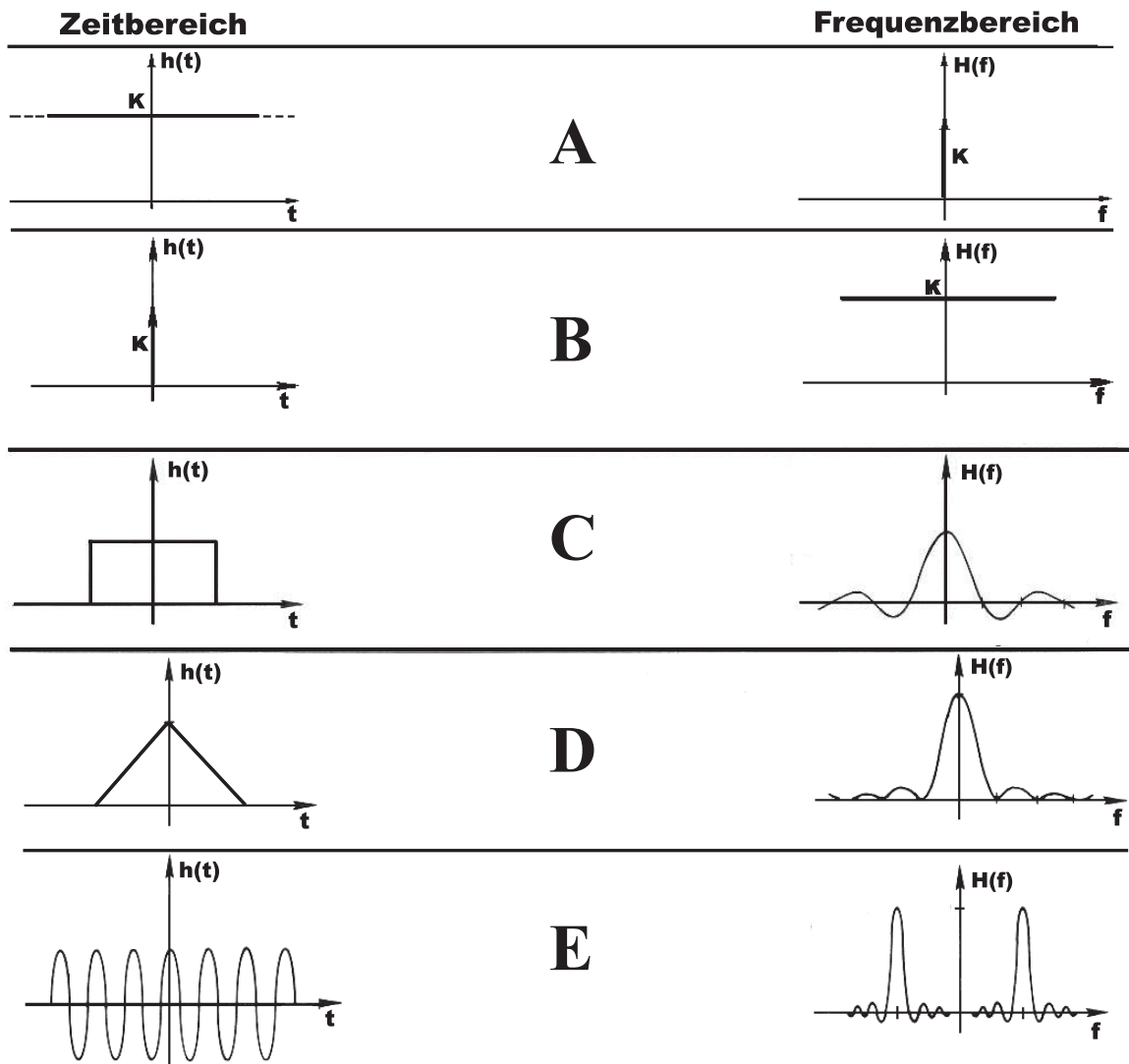


Abbildung 6.1: **FFT-Charakteristika.** Erklärungen im Text (nach [19]).

### 6.9.3 Ermittlung der Systemfunktion

Die Systemfunktion beschreibt das statische und dynamische Verhalten eines beliebigen Systems. In der technischen Anwendung, z.B. bei Schaltkreisanalysen, genügt die Angabe der sogenannten Übertragungsfunktion  $G(i\omega)$ .  $G(i\omega)$  eines Systems erhält man durch Stimulation mit einem definierten Signal (vorzugsweise sinusförmiger Strom) und der Messung des Antwortsignals (resultierende Spannung). Mit Hilfe der Fourier-Transformation erhält man einen einfachen Zusammenhang:

$$G(i\omega) = \frac{Y(i\omega)}{X(i\omega)} \tag{6.19}$$

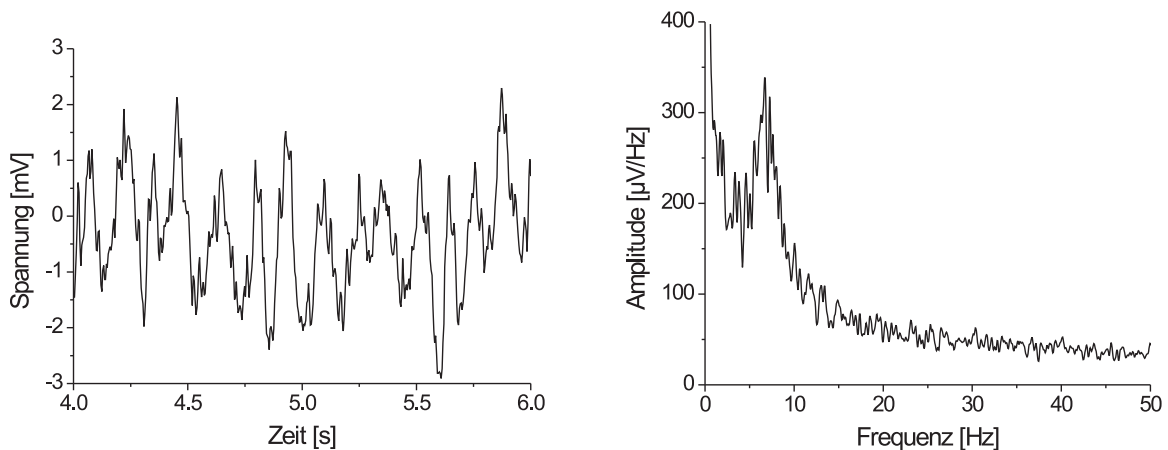
mit:  $X(i\omega)$  : F.-T. vom Eingangssignal  $x(t)$   
 $Y(i\omega)$  : F.-T. vom Antwortsignal  $y(t)$

Das ist exakt das Vorgehen bei der Analyse der Membranimpedanz, wenn man folgende Größen für die Gleichung verwendet :

$$\begin{aligned} x(t) &: \text{ Wechselstrominjektion} \\ y(t) &: \text{ resultierende Membranpotentialveränderung} \end{aligned}$$

Bei Kenntnis der Übertragungsfunktion kann allerdings auch das Antwortsignal für jedes beliebige Eingangssignal berechnet werden, was im neuronalen System eine Vorhersage des Verhaltens der Zelle bedeuten würde<sup>27</sup>.

### 6.9.4 Datenanalyse



**A.** MPO bei  $-58$  mV Haltepotential  
(Aufnahmedauer : 20 s - nur 2 s dargestellt).

**B.** Amplitudenspektrum von (A) mit einem  
Frequenzpeak bei ca. 6 Hz.

Abbildung 6.2: Fourieranalyse von spontanen Membranpotentialoszillationen

Den Ablauf der Frequenzanalyse von spontanen Membranpotentialoszillationen zeigt Abbildung 6.2. Die Fourier-Transformation einer Membranpotentialaufnahme (A) führt zu einem Amplitudenspektrum (B), das bei vorhandenen Membranpotentialoszillationen einen Peak bei der Oszillationsfrequenz hat. Durch die kleinen Amplituden der Oszillationen im Zeitbereich (max.  $\leq \pm 3$  mV) wächst der Frequenzpeak im Spektrum nicht allzu stark aus dem unterliegenden Rauschteppich heraus, was zu Schwierigkeiten bei der Auswertung, v.a. für Oszillationsfrequenzen unter 1 Hz führt<sup>28</sup>.

Zum Nachweis der Membranresonanz wurde die im letzten Abschnitt definierte Übertragungsfunktion des Systems ermittelt. Abbildung 6.3 zeigt das Vorgehen zur Gewinnung von Impedanzspektren eines Neurons, das zuerst von Puil *et al.* [123] angewendet wurde. Sowohl der Stimulationsstrom (A), als auch die resultierende Spannungsantwort der

<sup>27</sup>Aufgrund der Nichtlinearität des Systems ist eine solche Vorhersage auf Basis der Impedanzmessungen nur für den linearisierten Membranpotentialbereich des gültigen Äquivalenzschaltkreises des Neurons denkbar.

<sup>28</sup>vgl. Kap. 7

Zelle (**C**) werden fouriertransformiert und so aus der Zeitdomäne in die Frequenzdomäne übertragen (**B** und **D**). Das Impedanzspektrum (**E**) erhält man durch Division der beiden Spektralfunktionen miteinander:

$$Z = \frac{FFT(V)}{FFT(I)} \quad (6.20)$$

Die Resonanz zeigt sich im Impedanzspektrum durch den charakteristischen Resonanzhügel.

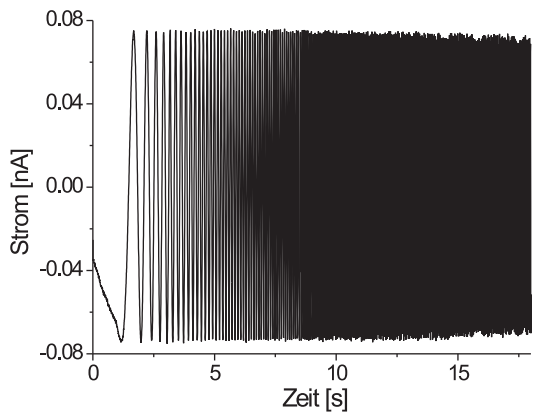
## 6.10 Graphische Darstellung und Statistik

Die Auswertung und graphische Darstellung wurde mit den Programmen Igor Pro (WaveMetrics. Inc.), Prism 2 (Graphpad Software) und Origin 6.0 Prof. (Microcal Software) durchgeführt. Für die statistischen Berechnungen stand das Programm SPSS 11.0 (SPSS GmbH) zur Verfügung. Alle angegebenen Werte entsprechen dem Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung. Für statistische Vergleiche wurden folgende Verfahren verwendet:

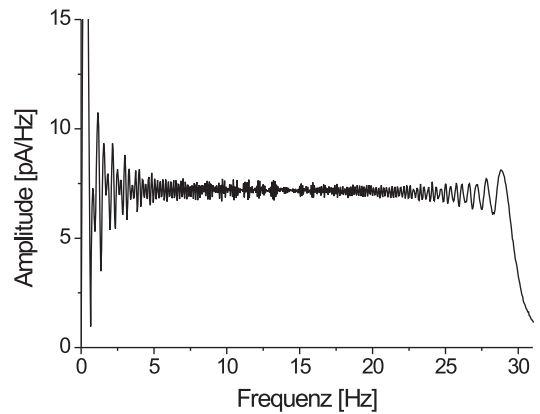
- Korrelationsanalyse
- Kolmogorov-Smirnov-Test mit Lilliefors-Korrektur zur Überprüfung der Normalverteilung der Werte
- McNemar-Signifikanztest für nichtparametrische, verbundene Stichproben
- t-Test (parametrisch) für zwei verbundene Stichproben
- Varianzanalyse mit wiederholten Messungen (parametrisch) für mehr als zwei verbundene Stichproben

Das Signifikanzniveau wurde auf 5 % ( $p < 0.05$ ) für alle Untersuchungen festgelegt, mit folgender Nomenklatur:

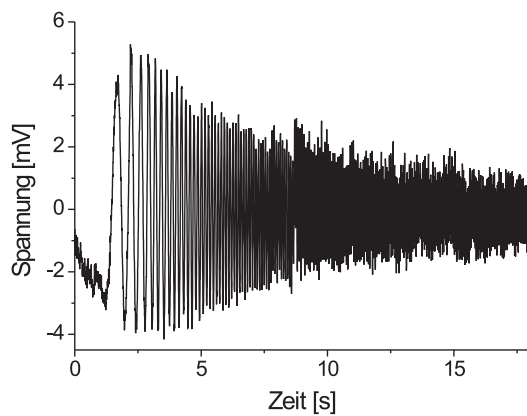
$p > 0.1$	: Die Stichproben unterscheiden sich nicht signifikant (n.s)
$p = 0.05 - 0.1$	: Die Stichproben unterscheiden sich tendenziell (t)
$p = 0.0001 - 0.05$	: Die Stichproben sind signifikant verschieden (*)
$p < 1 \cdot 10^{-4}$	: Die Stichproben sind stark- signifikant verschieden (**)



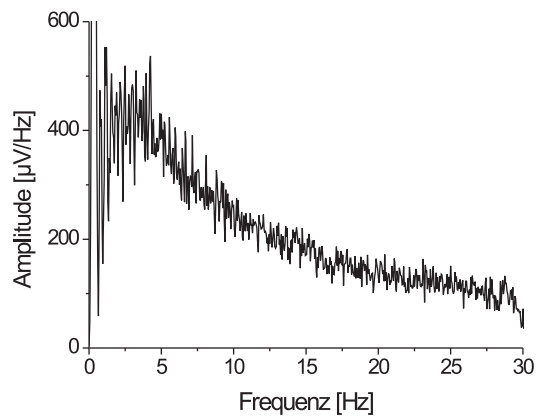
**A.** Wechselstromstimulation mit linear ansteigender Frequenz (0.1-30 Hz; 20 s).



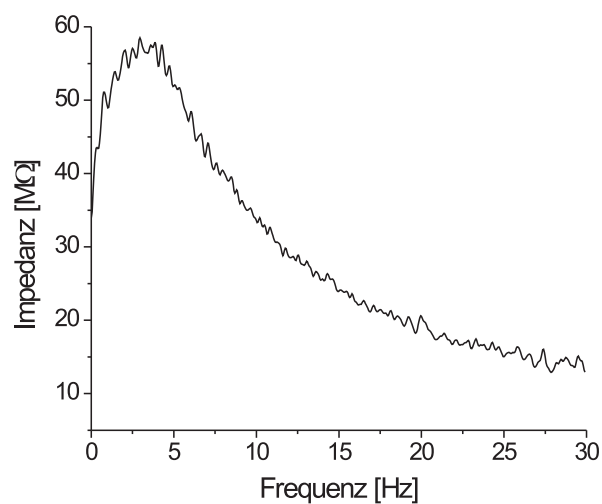
**B.** Fourier-Transformierte von (A).



**C.** Spannungsantwort der Zelle auf (A).



**D.** Fourier-Transformierte von (C).



**E.** Impedanzspektrum der Zelle mit charakteristischem Impedanzmaximum (Resonanz) bei ca. 3 Hz aus der Division von (D) mit (B).

Abbildung 6.3: Analyseverfahren zur Untersuchung der Membranimpedanz.

# Kapitel 7

## Ergebnisse

### 7.1 Klassische Neuronencharakterisierung

#### 7.1.1 Passive elektrotonische Eigenschaften

Die Ergebnisse beruhen auf intrazellulären Ableitungen aus 155 Neuronen des frontalen Kortex von adulten Wistar-Ratten beiderlei Geschlechts. Ein Neuron wurde nur dann untersucht, wenn die Ableitung nach Einstellung des Ruhemembranpotentials für mindestens 15 Minuten keine größeren Potentialschwankungen zeigte und somit als stabil gelten konnte. Dabei mußte das Ruhepotential negativer als -75 mV liegen. Bei Neuronen, die diese Bedingungen erfüllten, war das Ruhemembranpotential normalverteilt mit einem Durchschnittswert von  $-83 \pm 4$  mV (-75 mV bis -93 mV;  $n = 155$ ; Abb. 7.1 **A**).

Die elektrotonischen Eigenschaften wurden nach den in Kapitel 6 beschriebenen Methoden bestimmt. Der mittlere Eingangswiderstand der Zellen betrug  $33 \pm 10$  M $\Omega$  (16 - 62 M $\Omega$ ;  $n = 155$ ; Abb. 7.1 **B**). Da der genaue Wert erst bei der späteren Auswertung bestimmt werden konnte, wurde anhand des Spannungssignals auf dem Oszillographen der Eingangswiderstand zunächst abgeschätzt und die Messung von Neuronen mit deutlich weniger als 20 M $\Omega$  abgebrochen. Nach der genauen Auswertung wurden Zellen mit weniger als 15 M $\Omega$  nachträglich aussortiert. Für die Membranzeitkonstanten des ersten und zweiten Kompartiments ergaben sich folgende Werte:

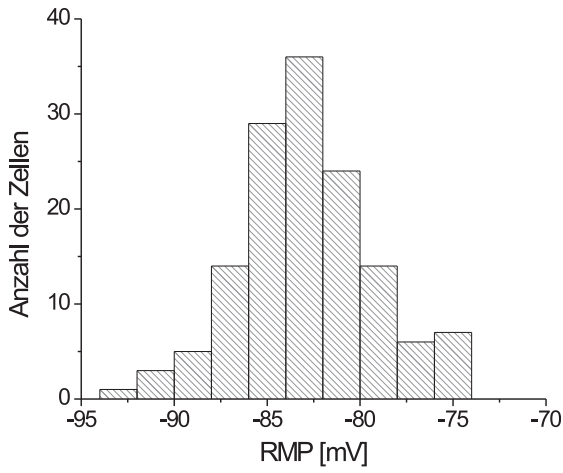
$$\tau_0 = 11 \pm 2 \text{ ms (7 bis 18 ms)}$$

$$\tau_1 = 2 \pm 1 \text{ ms (1 bis 4 ms)}$$

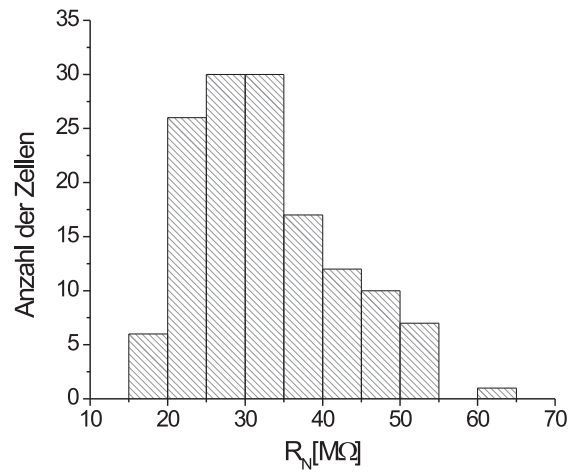
Und nach Gleichung 6.6 folgt daraus für die elektrotonische Länge L:

$$L = 1.49 \pm 0.31 \text{ ms (0.71 bis 2.34)}$$

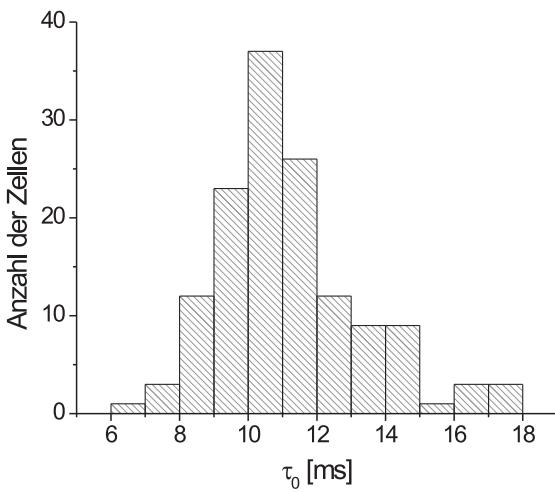
Die untersuchten Neurone waren also zumeist elektrotonisch nicht kompakt.



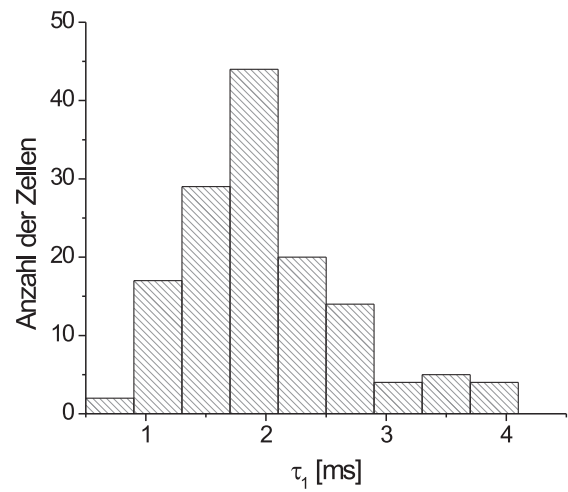
A. Ruhemembranpotential ( $RMP$ ).



B. Eingangswiderstand ( $R_N$ ).



C. erste Membranzeitkonstante ( $\tau_0$ ).



D. zweite Membranzeitkonstante ( $\tau_1$ ).

Abbildung 7.1: Die Werte der elektrotonischen Eigenschaften waren normalverteilt.



### 7.1.2 Strom-Spannungs-Kennlinie (I-V-Beziehung)

Die Strom-Spannungs-Kennlinie aller Zellen zeigte den für neokortikale Neurone typischen, nichtlinearen Verlauf. Dieses nicht-Ohmsche Verhalten der Leitfähigkeit bzw. des apparenten Widerstands der Zellen wird Gleichrichtung oder Rektifikation genannt und ist sowohl in de- wie in hyperpolarisierender Richtung zu beobachten (Abb. 7.2). Ursache hierfür sind spannungsabhängige Ionenkanäle<sup>1</sup>, die für das dynamische elektrische Verhalten der Neuronen verantwortlich sind.

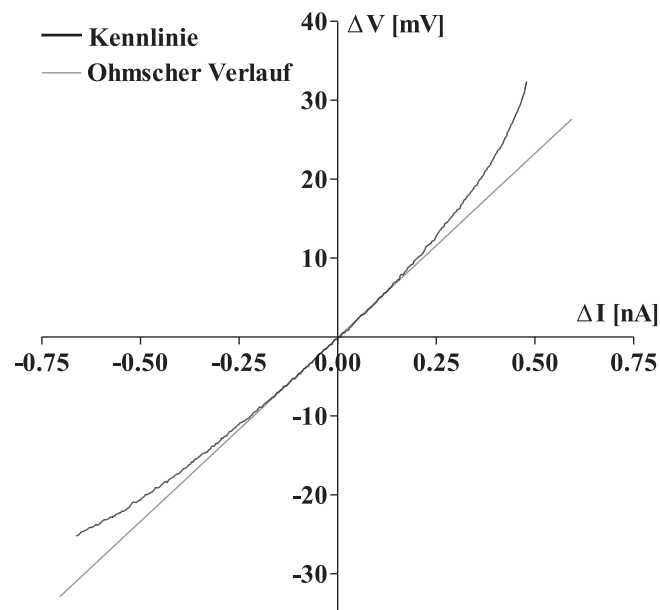


Abbildung 7.2: Die Strom-Spannungs-Kennlinie neokortikaler Neurone weicht in de- und hyperpolarisierender Richtung vom Ohmschen Verlauf ab.

### 7.1.3 Entladungsverhalten

Sehr einheitlich zeigte sich das Verhalten der Neurone auf überschwellige Stimulationen durch Strominjektion (Abb. 7.3 **A**). Die Entladungsfrequenz fiel von anfänglich hohen Werten (100 bis 150 Hz) rasch ab und erreichte einen deutlich niedrigeren, konstanten Wert von 3 - 18 Hz, der von der Stimulationsstärke abhing (Abb. 7.3 **B**). Dieses Verhalten wird Adaptation genannt und ist charakteristisch für regulär entladende Neurone, wie in Kapitel 6 beschrieben wurde.

<sup>1</sup>v.a. Natriumkanäle in depolarisierender und Kir-Kanäle in hyperpolarisierender Richtung [161].

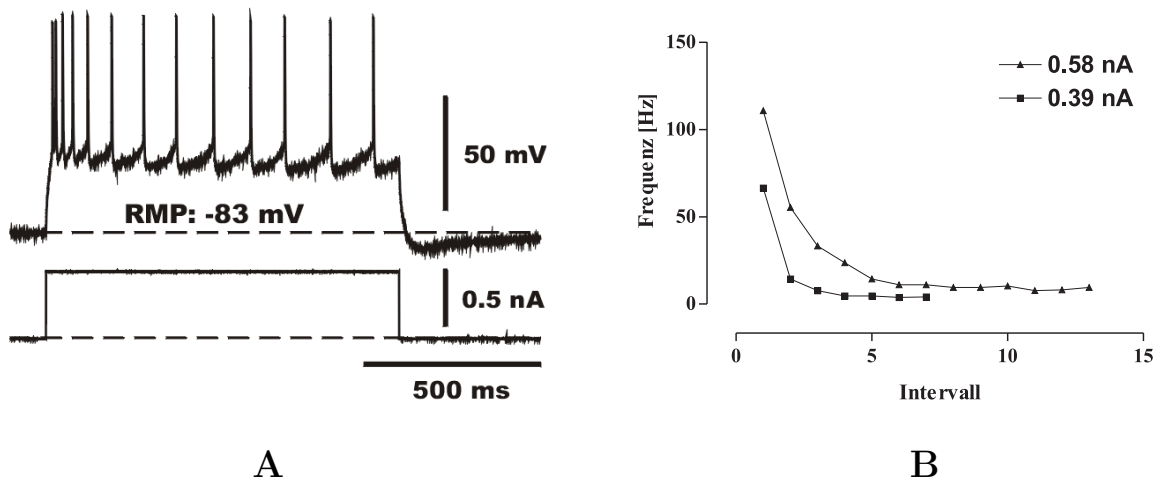


Abbildung 7.3: Das Entladungsverhalten neokortikaler Zellen (A) zeigte die für regulär entladende Neuronen typische Frequenzadaptation (B).

#### 7.1.4 Morphologie

Zur Untersuchung der Lage und Gestalt der Neurone im Schnittpräparat wurden 80 Zellen mit Biocytin, wie in Kapitel 6.8.4 beschrieben, gefärbt. Die so markierten Zellen zeigten die für Neurone der Schicht II/III des frontalen Kortex charakteristische Pyramidengestalt mit deutlichem apikalen Dendriten (Abb. 7.4).

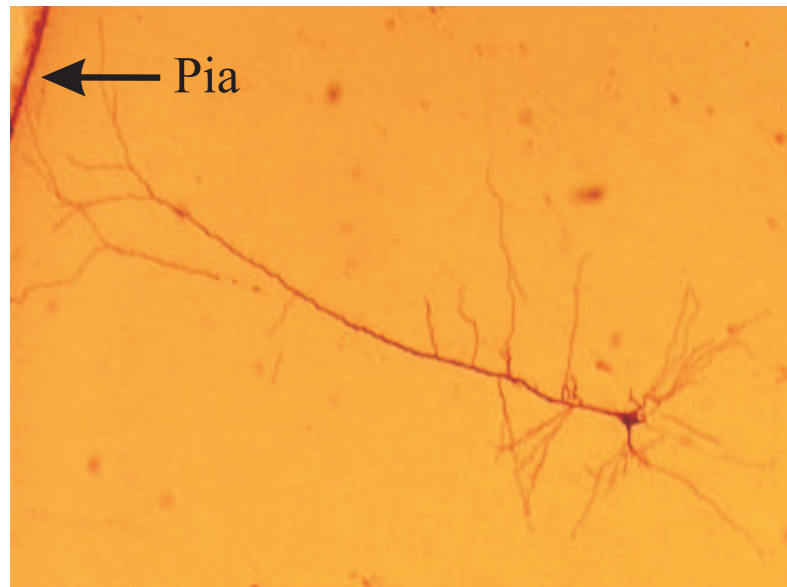


Abbildung 7.4: Mit Biocytin gefärbte Pyramidenzelle der Schicht II/III (frontaler Kortex).

## 7.2 Frequenzanalyse

### 7.2.1 Optimierung der Versuchsparameter

Die Datenanalyse wurde nach der in Kapitel 6.9.4 vorgestellten Methodik durchgeführt. Zur Optimierung der Auswertbarkeit der so gewonnenen Fourier-Spektren war zunächst die Bestimmung von geeigneten Versuchsparametern notwendig. Da für die Qualität der Quantifizierung das spektrale Auflösungsvermögen von entscheidender Bedeutung ist, mußte die Aufnahmedauer möglichst groß gewählt werden<sup>2</sup>. Abbildung 7.5 zeigt die Verbesserung der Auflösung eines Impedanzspektrums durch die Verdopplung der Aufnahmedauer von 10 Sekunden ( $\Delta f = 0.1$  Hz) auf 20 Sekunden ( $\Delta f = 0.05$  Hz).

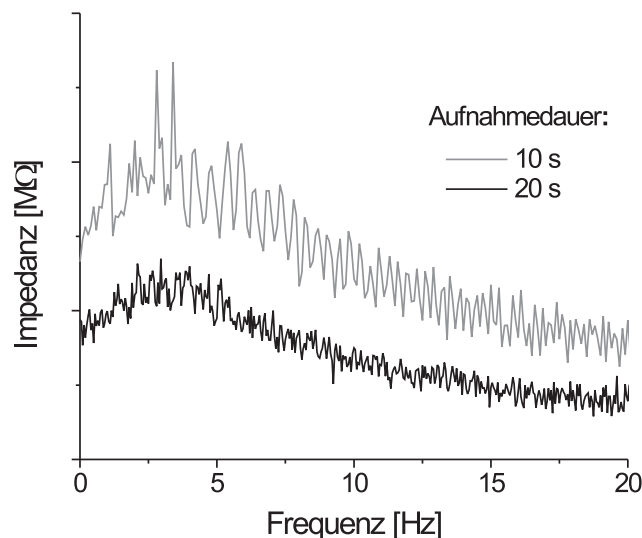


Abbildung 7.5: Verbesserung des Auflösungsvermögens durch Verlängerung der Aufnahmedauer. Dem 10 s-Spektrum wurde zur besseren Vergleichbarkeit eine Konstante hinzu addiert.

Da sich das tatsächliche Auflösungsvermögen durch Störungen (Rauschen, Fensterung etc.) normalerweise um den Faktor 2 - 10 zum theoretischen Auflösungsvermögen verschlechtert, mußte für eine gewünschte Genauigkeit von  $\pm 0.1$  Hz die Aufnahmedauer mindestens 20 Sekunden betragen. Eine Aufnahmedauer von 20 Sekunden war gleichzeitig das technische Limit<sup>3</sup> für unsere Messungen, da zusätzlich auch auf eine ausreichende Digitalisierungsfrequenz geachtet werden mußte, um Aliasing zu verhindern.

Auch die Art der Stimulation kann für die Qualität der Impedanzuntersuchungen wichtig sein. Theoretische Grenzen liefert dabei, wie bereits beschrieben, vor allem die Stimulationsamplitude, die auch bei depolarisierten Haltepotentialen im Bereich von  $\pm 5$  mV bleiben sollte. Abbildung 7.6 zeigt, daß die Stimulation mit einer möglichst großen Stromstärke, die diese Bedingung noch erfüllt, die Auswertbarkeit der Spektren verbessert.

<sup>2</sup>vgl. Kapitel 6.9

<sup>3</sup>Aufgrund der beschränkten Kapazität der A/D-Wandlersoftware (vgl. Kap. 6.7)

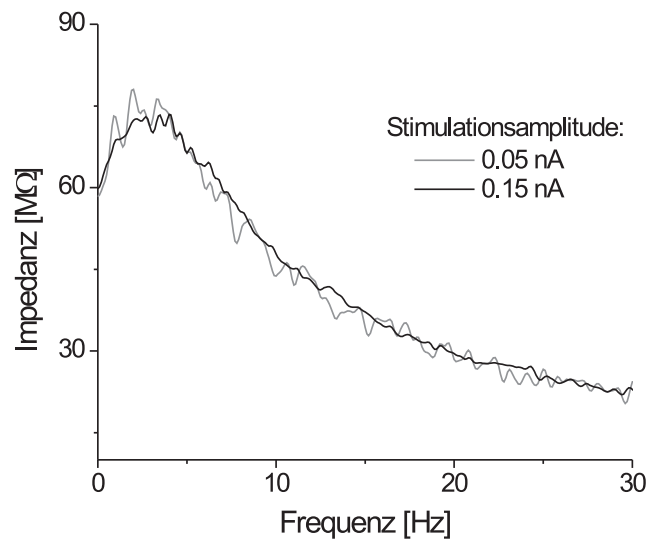


Abbildung 7.6: Die Qualität der Spektren nimmt mit der Stimulationsstromstärke zu.

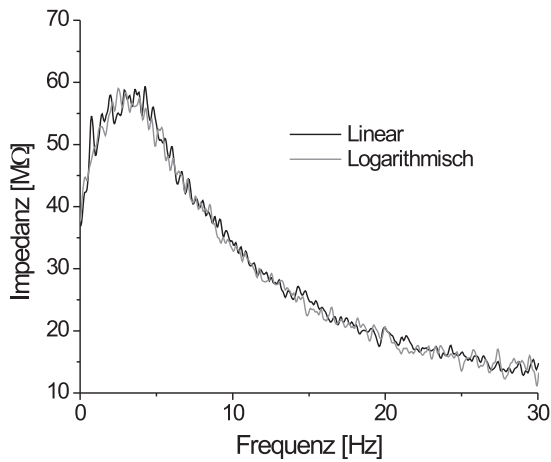
Bei der Durchführung der Versuche wurde daher für jede Zelle die maximale Stromstärke im Bereich von 0.05 bis 0.15 nA gewählt, so daß die Linearitätsbedingung noch erfüllt blieb. Es konnte dabei auch vorkommen, daß bei Haltepotentialen von -65 mV die Spannungsantwort mehr als 5 mV erreichte. Dies wurde toleriert, wenn gewährleistet blieb, daß das Membranpotential die Entladungsschwelle nicht überschritt.

Um den Einfluß der Form des Wechselstroms zu überprüfen, wurden Messungen mit linearem oder logarithmischem Anwachsen bzw. Abfallen der Stimulationsfrequenz durchgeführt. Dabei zeigte sich, daß die Form des Signals keinen Einfluß auf den Impedanzverlauf hatte (Abb. 7.7 **A**). Die technische Ungenauigkeit des Frequenzgenerators beim Ausschwingprozess führte allerdings bei Umkehrung der Frequenzrichtung zu Problemen bei Frequenzen unter 1 Hz (Abb. 7.7 **B**). Abbildung 7.8 zeigt, daß der Generator am Ende des Stimulationszyklus bereits etwas vor der eingestellten Endfrequenz das Signal ausblendet, wodurch es zu Ungenauigkeiten im Impedanzspektrum bei niedrigen Frequenzen kam (Pfeile in Abb. 7.7 und 7.8). Da dieser untere Frequenzbereich für die quantitative Analyse der Impedanzresonanz sehr wichtig ist, wurden zur Vermeidung des Problems die Untersuchungen mit ansteigender Stimulationsfrequenz durchgeführt.

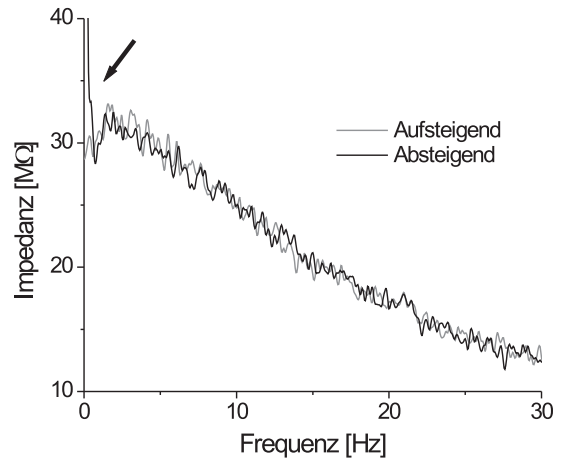
Aus den vorgestellten Untersuchungen wurden folgende Versuchsparameter als optimal bewertet und für die Messungen verwendet:

- Aufnahmedauer : 20 Sekunden
- Frequenzen : 0.1 - 30 Hz
- linearer Frequenzanstieg
- Stimulationsamplitude : 0.15 nA

Die analysierten Frequenzspektren der Membranpotentialoszillationen und der Impedanzresonanz setzen sich aus drei Einzelmessungen zusammen, die gemittelt und zur besseren graphischen Darstellung mit einer 5-Punkt-Binomialfilterung geglättet wurden.

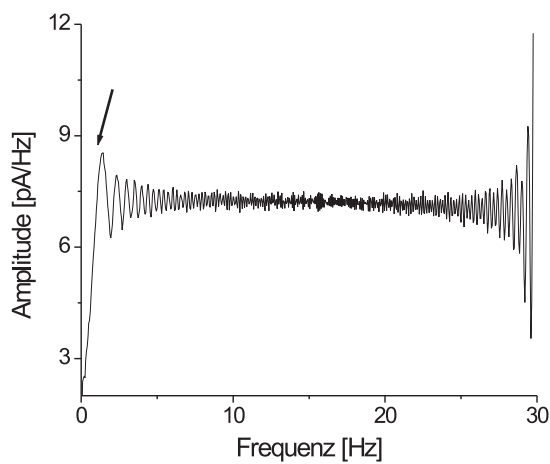


**A.** Frequenzanstieg

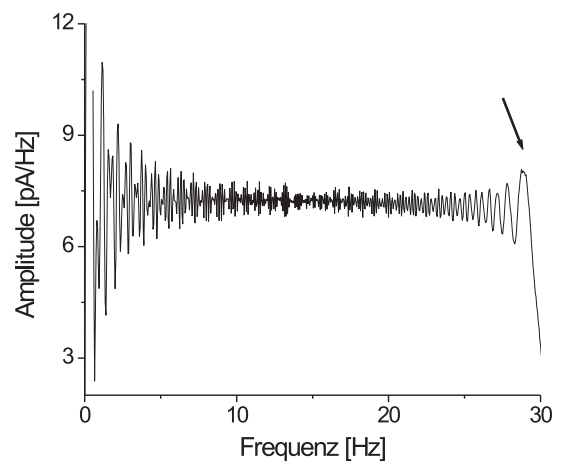


**B.** Frequenzrichtung

Abbildung 7.7: Die Form des Stimulationstroms hat prinzipiell keinen Einfluß auf die Membranimpedanz. Technische Einschränkungen bei der Frequenzgenerierung führten allerdings zu Problemen bei Frequenzen  $< 1$  Hz ( $\rightarrow$  in **B** und Abb. 7.8).



**A.** Frequenzrichtung absteigend



**B.** Frequenzrichtung aufsteigend

Abbildung 7.8: Der Funktionsgenerator konnte nicht alle Frequenzen gleichmäßig stark ausgeben. Vor allem der Ausschwingvorgang führt zu einer Unterrepräsentierung der eingestellten Endfrequenzen. Die Pfeile markieren das jeweilige Zyklusende.

## 7.2.2 Die Unterschwelligkeitsbedingung

Wiederholt wurde bereits die Notwendigkeit betont, daß die Analyse der Membranpotentialoszillationen und der Membranimpedanz im unterschwelligen Potentialbereich durchgeführt werden müssen. Abseits von theoretischen Überlegungen sollen im Folgenden die konkreten Schwierigkeiten und Probleme, die bis zur Verfälschung der Ergebnisse führen können, erörtert werden.

Das Auslösen eines Aktionspotentials während der Aufnahme von spontanen Membranpotentialoszillationen führte im Amplitudenspektrum der Fourier-Transformierten zu einer Welligkeit und einem verstärkten Rauschteppich bei allen Frequenzen (Abb. 7.9).

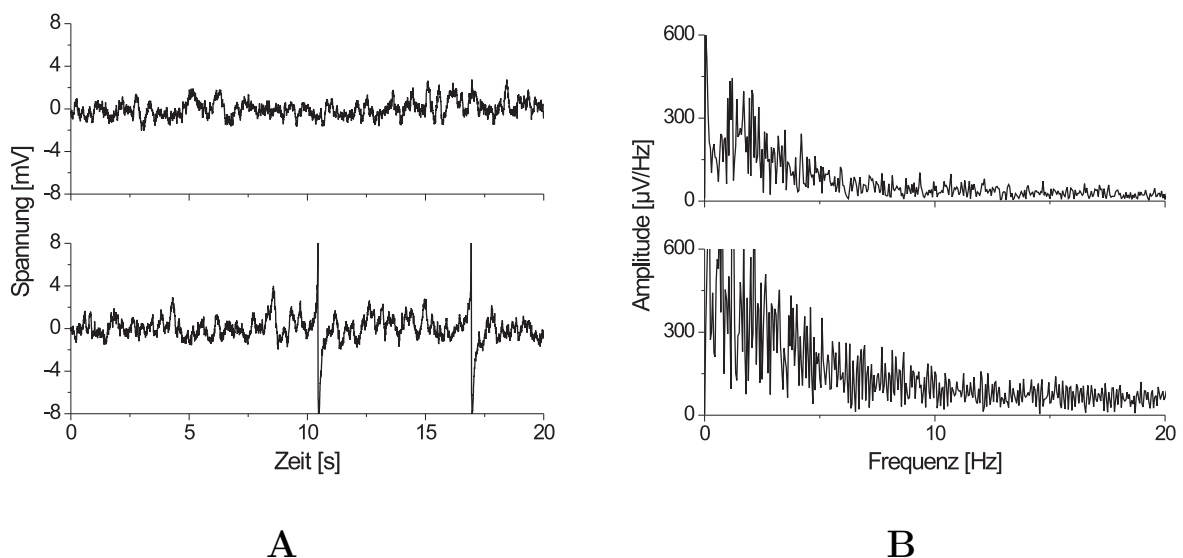


Abbildung 7.9: **A.** Aufnahmen von MPO in einer Zelle mit (unten) und ohne (oben) Aktionspotentiale. **B.** Entsprechende FFT- Spektren.

Diese Probleme gehen auf die Eigenschaften der Fourier-Transformation zurück. Vergleicht man die Aufnahmen mit und ohne Entladungen miteinander, wird deutlich, daß das Rauschen den Frequenzbereich der Oszillationen im Spektrum so überlagerte, daß eine Auswertung stark erschwert oder sogar verhindert wurde. Ähnliche Probleme gab es beim Auftreten von Aktionspotentialen während der Stimulation zur Impedanzuntersuchung der Zellen, wie in Abbildung 7.10 zu sehen ist. Auch hier hatten Entladungen eine Welligkeit und ein vergrößertes Rauschen im Impedanzspektrum zur Folge. Dramatische Auswirkungen, die letztendlich das Ergebnis einer Resonanzuntersuchung verfälschen würden, hatten nun aber die Nachhyperpolarisationen der Entladungen. Dadurch wurden die induzierten Potentialveränderungen der nachfolgenden Frequenzen<sup>4</sup> deutlich reduziert oder sogar unterdrückt. Im Impedanzspektrum äußerte sich dies in einem Einbruch der Amplituden der entsprechenden Frequenzen. So entstand der Eindruck einer Resonanz in einem, verglichen mit der Messung ohne störende Entladung, deutlich erhöhten Frequenzbereich (Abb. 7.10 **B**). Ohne Berücksichtigung dieser Problematik könnte leicht eine starke Spannungsabhängigkeit der Resonanzfrequenz festgestellt werden.

<sup>4</sup>Die Stimulationsfrequenz steigt ja linear mit der Zeit an

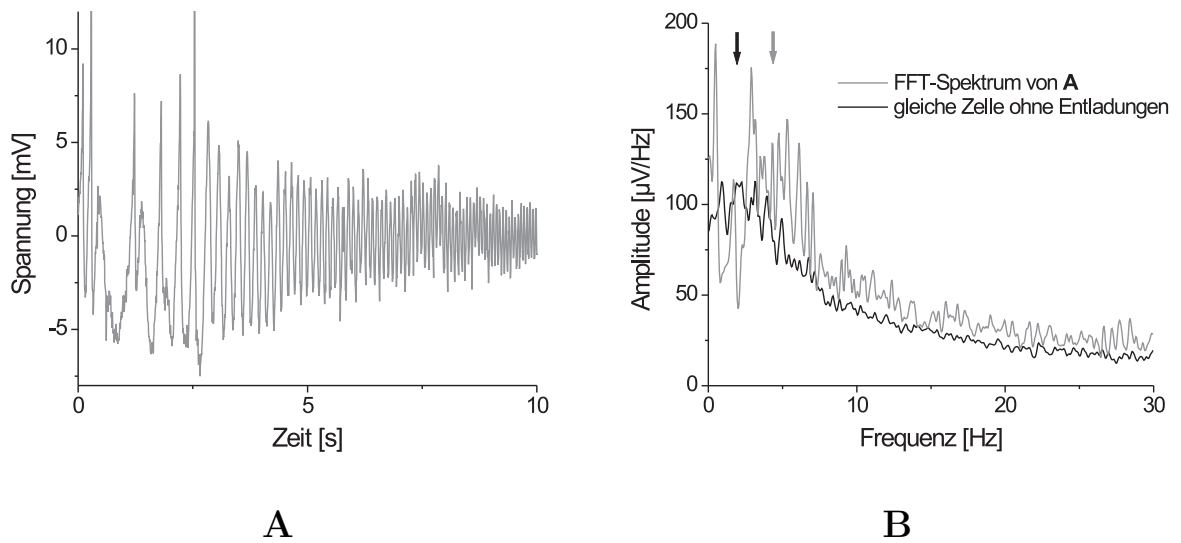


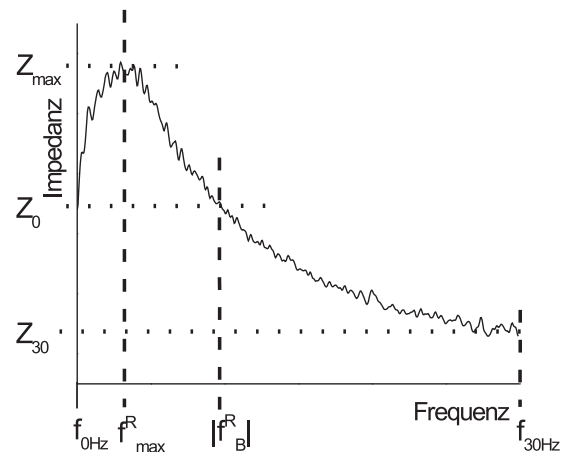
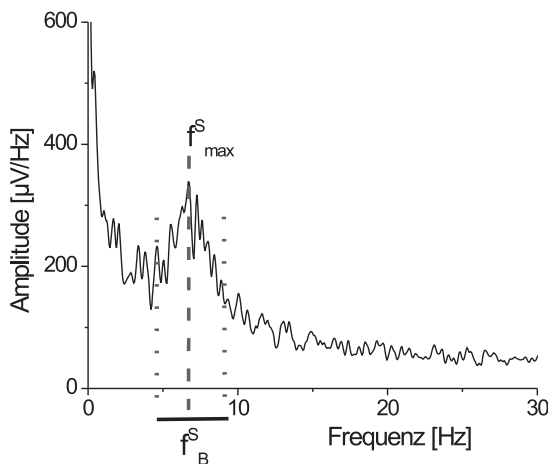
Abbildung 7.10: **A.** Aufnahme der induzierten Potentialveränderung mit Aktionspotentialen (MP:  $-65\text{ mV}$ ). **B.** Neben dem vergrößerten Rauschen erscheint die Resonanzfrequenz (Pfeile) der Aufnahme von (**A**) deutlich größer als in einer Aufnahme ohne Aktionspotentiale.

Diese Beispiele zeigen deutlich, wie wichtig gerade für quantitative Analysen von Membranpotentialoszillationen und der Impedanzresonanz das strenge Einhalten der Unterschwelligkeitsbedingung ist.

### 7.3 Methoden zur Quantifizierung

Zur Quantifizierung der Membranpotentialoszillationen und der Impedanzresonanz ist es notwendig charakteristische Werte, die beide Phänomene hinreichend gut beschreiben, zu definieren und diese aus den Amplituden- bzw. Impedanzspektren zu extrahieren. Für die Membranpotentialoszillationen stellen solche Werte die Oszillationsfrequenz  $f_{\max}^S$  und die Breite des Frequenzpeaks  $f_B^S$  (Abb. 7.11 A) dar. Die Impedanzresonanz wurde mit folgenden Punkten charakterisiert (Abb. 7.11 B):

Maximaler Impedanzwert	:	$Z_{\max}$
Resonanzfrequenz	:	$f(Z_{\max}) = f_{\max}^R$
Impedanzwert bei 0 Hz	:	$Z_0$
Impedanzwert bei 30 Hz	:	$Z_{30}$
Breite der Resonanz („Resonanzschärfe“)	:	$f_B^R =  f(Z = Z_0) $



A. Membranpotentialoszillationen

B. Impedanzresonanz

Abbildung 7.11: Definition der charakteristischen Werte.

Koch [80] gibt die Qualität der Resonanz durch den Quotienten von  $Z_{\max}/Z_0$  an. Zur besseren graphischen Darstellung soll für diese Arbeit folgende Modifikation des Qualitätsfaktors verwendet werden (Q-Wert):

$$Q = \left( \frac{Z_{\max}}{Z_0} - 1 \right) \cdot 100 \quad (7.1)$$

Der Q-Wert entspricht so dem Anstieg der Impedanz vom Gleichstromwert ( $Z_0$ ) auf den maximalen Wert ( $Z_{\max}$ ) in Prozent und somit der maximalen Impedanzzunahme aus der „Ruhelage“. Der Qualitätsfaktor und die Resonanzschärfe ( $f_B^R$ ) können als Maße für die Frequenzselektivität des Neurons für unterschwellige elektrische Signale betrachtet werden.



Beim Auslesen der genannten Daten aus den Spektren werden nun geeignete Modelle verwendet, die den theoretischen Vorstellungen der Membranpotentialoszillationen und der Impedanzresonanz entsprechen. Die Abbildung 7.11 zeigt, daß die Wertebestimmung ohne Modellanpassung recht willkürlich und dementsprechend ungenau verlaufen muß. Gerade die Amplitudenspektren der Membranpotentialoszillationen sind aufgrund ihres relativ großen Rauschhintergrunds schwer auswertbar. Zur Eliminierung dieses Rauschteppichs wurde folgende Methode angewendet:

Wie in Kapitel 5 beschrieben wurde, folgt das Membranrauschen theoretisch einem  $1/f^n$ -förmigen Verlauf. Die Überprüfung dieser Vorhersage anhand der gemessenen Spektren erbrachte eine ausgezeichnete Übereinstimmung mit dem theoretischen Verlauf (Abb. 7.12).

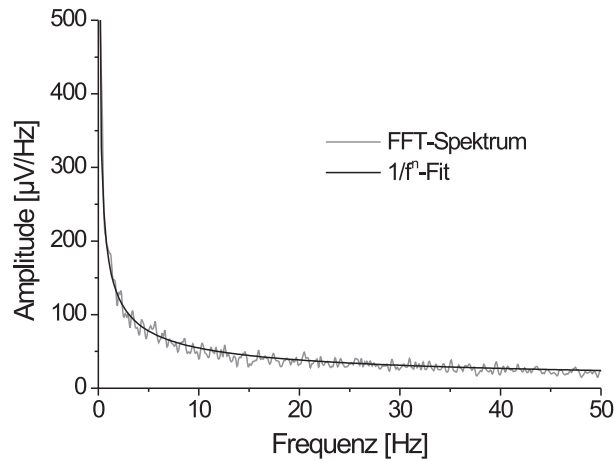


Abbildung 7.12: Das Amplitudenspektrum des Membranrauschens kann mit einer  $1/f^n$ -Funktion angenähert werden (MP : -65 mV).

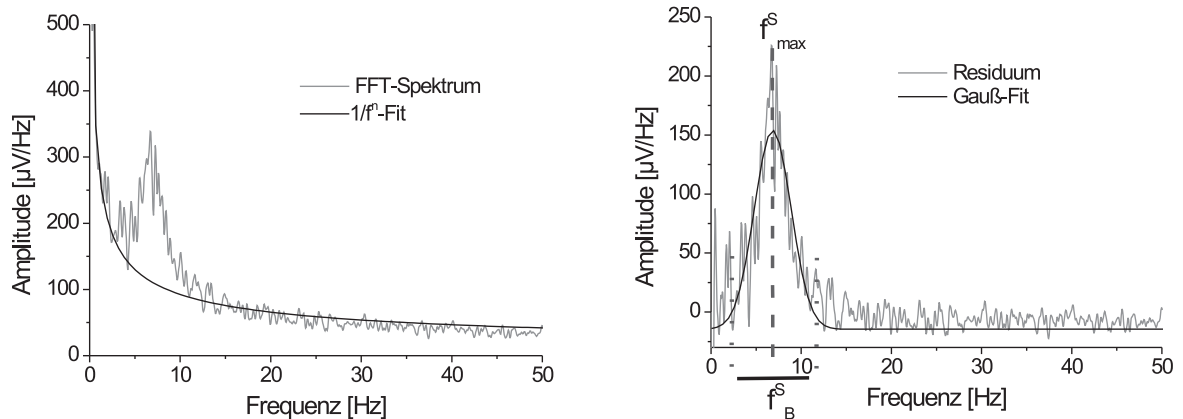
Die Einpassung einer  $1/f^n$ -förmigen Funktion in ein Spektrum, das Oszillationsamplituden enthält, führt zu einer ähnlich guten Übereinstimmung bei allen Frequenzen außer in dem Bereich, der die Membranpotentialoszillationen repräsentiert (Abb. 7.13 **A**). Die Differenz aus der Messung und dem eingepassten Graphen entspricht so hauptsächlich der Fourier-Transformierten der Oszillationen<sup>5</sup> ohne dem störendem Rauschhintergrund (Abb. 7.13 **B**). Da die Bedingungen während einer Messung konstant blieben, wurde die Verteilung der Oszillationsamplituden über die Frequenz als gaußförmig angenommen:

$$A(x) = K_0 + K_1 \cdot \exp\left(-\frac{(x - K_2)^2}{K_3}\right) \quad (7.2)$$

mit:  $K_0$  : Nullpunktausgleich  $K_2$  :  $f_{\max}^S$   
 $K_1$  : Amplitude  $K_3$  :  $\frac{f_B^S}{2}$

Mit Hilfe der Gleichungskonstanten konnten die gewünschten Datenpunkte unabhängig von willkürlicher Interpretation gewonnen werden.

<sup>5</sup>gilt aufgrund der Linearität der Fourier-Transformation



**A.** Amplitudenspektrum von MPO (MP: -56 mV) mit  $1/f^n$ -Fit.

**B.** Residuum der beiden Graphen in (A) mit stark reduziertem Rauschen.

Abbildung 7.13: Methode zur quantitativen Analyse der MPO.

Diese Methode der  $1/f^n$ -Anpassung war bis zu  $f_{\max}^S$ -Werten von circa 1 Hz sehr zuverlässig. Membranpotentialoszillationen von unter 1 Hz lassen sich aber auch mit dieser Methode nicht mehr sauber vom stark anwachsenden Rauschhintergrund trennen und wurden daher in den Auswertungen nicht berücksichtigt. In Kapitel 5 wurde für den Exponenten  $n$  der  $1/f^n$ -Funktion ein Wert von 0.5 theoretisch vorhergesagt. In Tabelle 7.1 sind die Exponenten für Aufnahmen bei verschiedenen Membranpotentialen zu sehen:

Membranpotential	Kontrolle	TTX	Neuronenzahl
RMP ( -83 mV ) :	$0.331 \pm 0.061$	$0.340 \pm 0.087$	56
-70 mV :	$0.438 \pm 0.082$	$0.443 \pm 0.109$	56
-65 mV :	$0.462 \pm 0.071$	$0.455 \pm 0.069$	56
Schwelle ( -54 mV ) :	$0.497 \pm 0.043$	$0.507 \pm 0.060$	56
Schwelle ( -56 mV ) :	$0.518 \pm 0.091$		115

Tabelle 7.1: Werte des Exponenten  $n$  für Messungen bei unterschiedlichem Membranpotential unter Kontrollbedingungen und nach Applikation von TTX.

Es zeigte sich eine Spannungsabhängigkeit der  $n$ -Werte, wobei Depolarisation des Membranpotentials zu einem Anstieg des Exponenten führte. Insbesondere bei stark depolarisierten Potentialen war der experimentell gefundene Wert praktisch identisch mit der theoretischen Vorhersage, was als weiteres Indiz für die Gültigkeit des elektrischen Äquivalenzschaltkreismodells gesehen werden kann. In den selben Zellen wurden die Membranpotentialoszillationen auch pharmakologisch unterdrückt<sup>6</sup>. Die Exponentenwerte der zugehörigen  $1/f^n$ -Funktionen sind nicht signifikant verschieden von den Kontrollmessungen (Tab. 7.1), was beweist, daß die Funktionsanpassung an die gemessenen Spektren nicht von den Oszillationsamplituden gestört wird.

<sup>6</sup>durch TTX-Applikation; vgl. Abbildung 7.25

Zur Bestimmung der Resonanzwerte aus den Impedanzspektren wurde in einem ersten Ansatz der RrLC-Äquivalenzschaltkreis als vereinfachtes Modell für die Übertragungsfunktion einer linearisierten Neuronenmembran zugrunde gelegt. Die Impedanzfunktion dieses Modells lautet<sup>7</sup>:

$$|Z(\omega)|^2 = R^2 \cdot \frac{r^2 + \omega^2 \cdot L^2}{(CRL)^2 \cdot \omega^4 + (L^2 + C^2R^2r^2 - 2CR^2L) \cdot \omega^2 + (R + r)^2} \quad (7.3)$$

Diese Funktion wurde allen gemessenen Impedanzspektren (ca. 1000) angepasst. Trotz der starken Reduktion der Komplexität durch dieses vereinfachende Modell zeigte sich bei etwa einem Drittel der Spektren mit Impedanzresonanz eine sehr gute Übereinstimmung (Abb. 7.14 **A**). In einer Reihe anderer Spektren führte die Modellanpassung zu unterschiedlich starken Abweichungen von den Meßdaten (Abb. 7.14 **B**). Dabei war die Qualität der Übereinstimmung hauptsächlich von der Resonanzfrequenz und -breite ( $f_{\max}^R$  und  $f_B^R$ ) abhängig<sup>8</sup>.

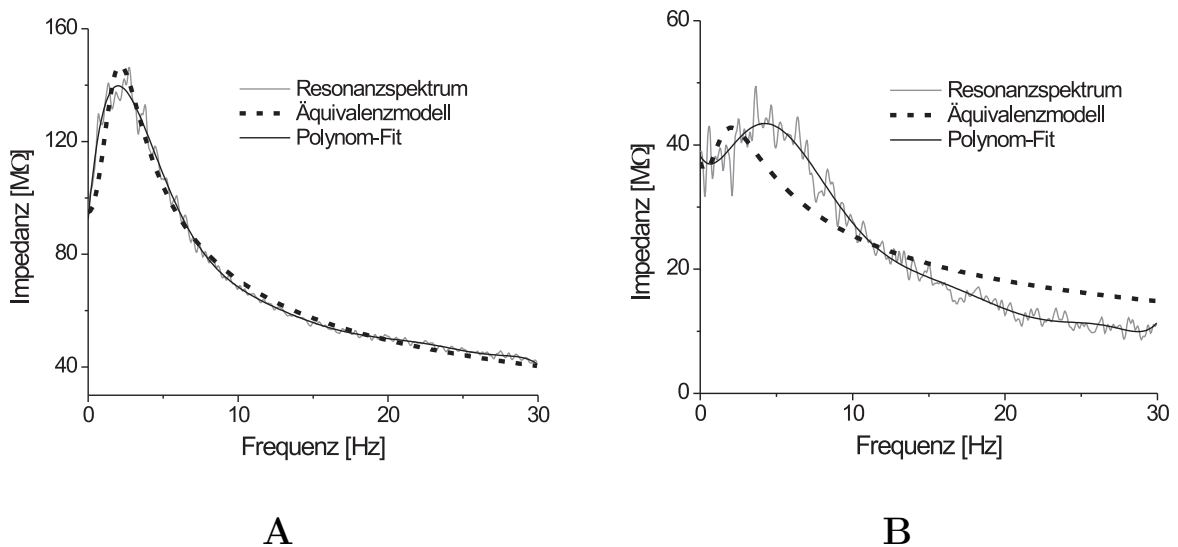


Abbildung 7.14: **A.** Der Impedanzverlauf wurde vom Äquivalenzmodell sehr gut beschrieben. **B.** Das Äquivalenzmodell beschrieb das Impedanzverhalten der Zelle nur ungenügend. Eine Polynomgleichung repräsentiert auch diese Spektren ausreichend genau.

Um nicht auf diese Werte für die Auswertung verzichten zu müssen, wurden die Spektren zusätzlich mit einer nicht-modellbasierten Funktion - einem Polynom 9ten Grades - gefittet (Abb. 7.14) und aus den resultierenden Funktionsgraphen die charakteristischen Resonanzwerte aus den Impedanzspektren entnommen.

<sup>7</sup>Herleitung und Definitionen in Kapitel 3.2.7 Gleichung 3.40

<sup>8</sup>je größer die Werte, umso schlechter die Übereinstimmung

## 7.4 Impedanzresonanz und Potentialoszillationen

### 7.4.1 Impedanzresonanz

Die Impedanzuntersuchungen wurden für jedes Neuron bei drei verschiedenen Membranpotentialen durchgeführt, um die charakteristischen Resonanzwerte auf eine mögliche Spannungsabhängigkeit zu überprüfen. Gemessen wurde beim jeweiligen Ruhemembranpotential des Neurons und bei depolarisierten Membranpotentialen von -70 mV und -65 mV. Insgesamt gelangten die Resonanzwerte von 145 Neuronen, die die geschilderten Bedingungen erfüllten, in die Auswertung. Abbildung 7.15 zeigt die Impedanzspektren eines Neurons bei den drei Meßpotentialen.

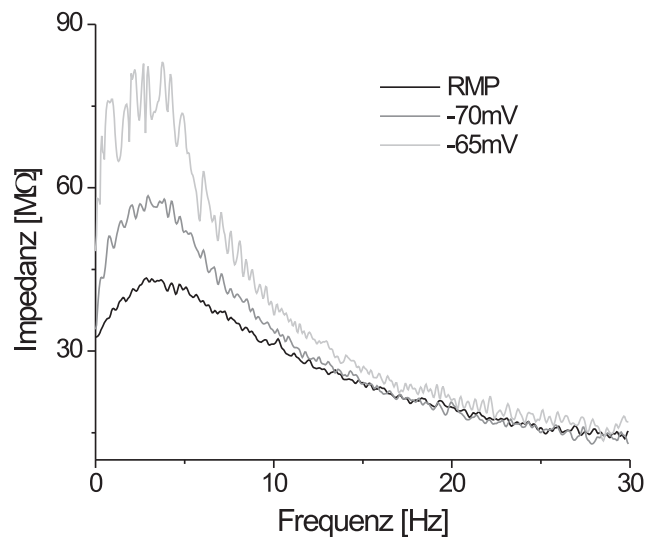


Abbildung 7.15: Die Impedanzspektren waren bei Frequenzen  $< 15$  Hz spannungsabhängig.

Tatsächlich sind die Impedanzwerte bei 30 Hz ( $Z_{30}$ ) nicht signifikant spannungsabhängig:

RMP	: $17 \pm 7$ MΩ	
-70mV	: $18 \pm 10$ MΩ	(p=0.218)
-65mV	: $19 \pm 11$ MΩ	

Die Konvergenz der Impedanz gegen einen konstanten Wert ergibt sich aus dem passiven RC-Modell<sup>9</sup>. Allerdings konnte keine signifikante Korrelation zwischen der passiven Membranzeitkonstanten ( $\tau_0$ ) und  $Z_{30}^{RMP}$  festgestellt werden (p = 0.108). Dagegen bestätigte sich der Zusammenhang zwischen Eingangswiderstand ( $R_n$ ) und  $Z_{30}^{RMP}$  (Abb. 7.18).

Als Kriterium für das Auftreten von Resonanz in den Impedanzspektren gilt ein Q-Wert von  $> 0$ . Die Häufigkeit des Auftretens von Impedanzresonanz in den Zellen war signifikant spannungsabhängig (Abb. 7.16). Depolarisation vom Ruhepotential auf -70 mV führte in mehr als doppelt so vielen Neuronen zu resonantem Impedanzverhalten, so daß sich nur 7 % der untersuchten Zellen als nicht-resonant erwiesen haben.

<sup>9</sup>nach Hutcheon *et al.* [60, 59]

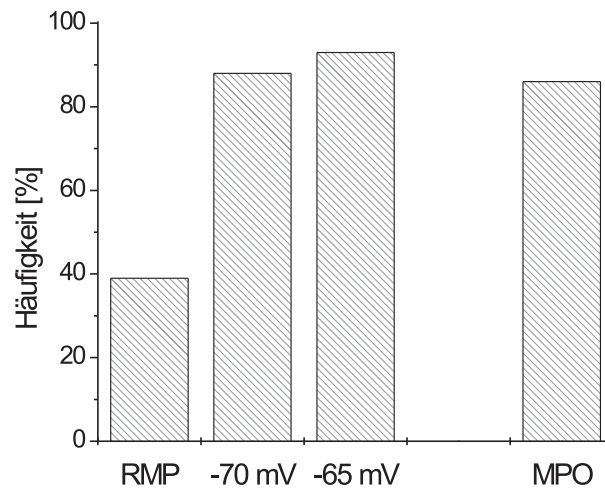


Abbildung 7.16: Die Nachweisbarkeit von Impedanzresonanz nimmt durch Depolarisation zu (39 % der Zellen bei RMP; 93 % bei -65 mV). Spontane Membranpotentialoszillationen konnten in 86 % der Zellen gefunden werden.

Dabei nahm die Qualität der Resonanz (Q-Wert) sukzessive mit Depolarisation zu, wie bereits in Abbildung 7.15 qualitativ zu sehen ist. Diese Zunahme ist statistisch signifikant und beruht nicht nur auf der geringeren Anzahl nicht-resonanter Spektren (d.h.  $Q = 0$ ) bei höheren Membranpotentialen. In Tabelle 7.2 werden die Qualitätsfaktoren aller Spektren mit einem Q-Wert  $> 0$  miteinander verglichen.

	Q gesamt (n=145)	Q > 0 (n=56)	Signifikanz p
RMP:	$4 \pm 6$	$9 \pm 8$	
-70mV:	$12 \pm 11$	$14 \pm 11$	$p < 1 \cdot 10^{-4}$
-65mV:	$19 \pm 16$	$21 \pm 15$	

Tabelle 7.2: Spannungsabhängigkeit des Qualitätsfaktors.

Die Werte dieser Auswahl ( $Q > 0$ ) sind parametrisch verteilt und belegen die spannungsabhängige Steigerung der Resonanzqualität. Offensichtlich wirken sich die nichtresonanten Spektren zwar im absoluten Betrag des Q-Werts aus, die grundsätzliche Abhängigkeit vom Membranpotential ist aber ein inhärentes Merkmal der Resonanzqualität. Bemerkenswert war die signifikante Steigerung des Qualitätsfaktors um ca. 50 % nach Depolarisation von -70 mV auf -65 mV.

Da sich der Qualitätsfaktor aus den Impedanzwerten  $Z_0$  und  $Z_{max}$  berechnet, müssen diese Werte in unterschiedlicher Weise vom Membranpotential abhängig sein. Sowohl  $Z_0$  als auch  $Z_{max}$  nahmen mit Depolarisation zu. Abbildung 7.17 zeigt, daß beide Werte bei Ruhemembranpotential noch fast identisch waren. Dann aber stieg die maximale Impedanz stärker mit dem Membranpotential an als der Impedanzwert bei 0 Hz, wodurch die Spannungsabhängigkeit des Qualitätsfaktors zustande kam.

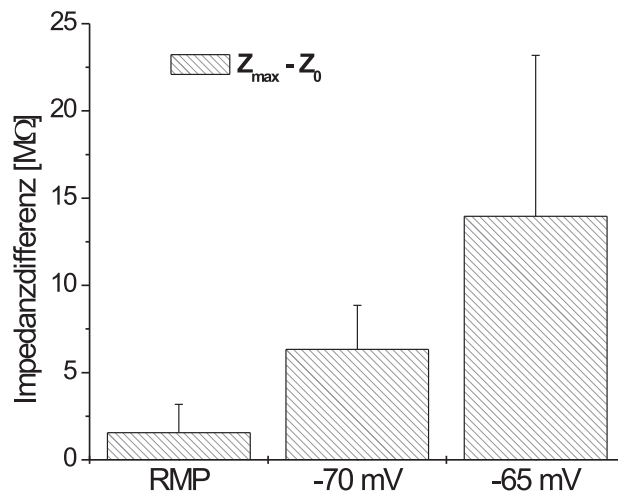


Abbildung 7.17: Die Differenz zwischen  $Z_{max}$  und  $Z_0$  nahm mit Depolarisation zu.

Theoretisch sollte der  $Z_0$ -Wert bei Ruhemembranpotential mit dem Eingangswiderstand  $R_n$  identisch sein. Tatsächlich korrelierten die Werte stark miteinander, unterschieden sich aber signifikant in ihrem Betrag (Abb. 7.18):

$R_n$ [MΩ]	$Z_0^{RMP}$ [MΩ]	Korrelationsfaktor	gepaarter t-Test	n
$34 \pm 13$	$36 \pm 14$	$p \ll 1 \cdot 10^{-4}$	$p \ll 1 \cdot 10^{-4}$	145

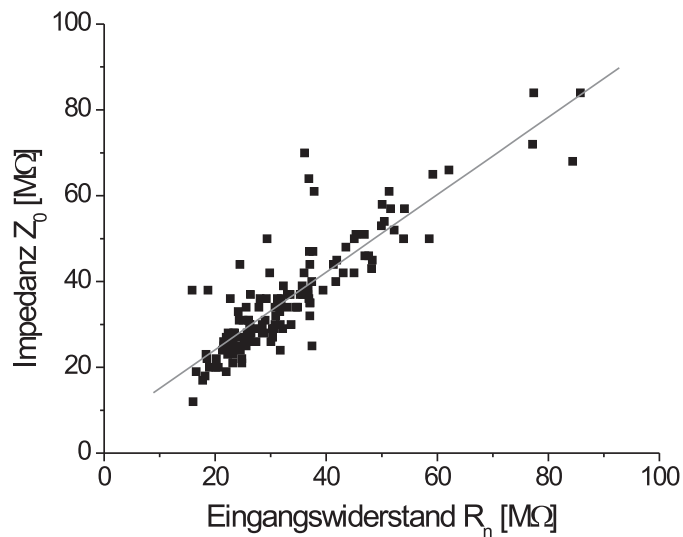


Abbildung 7.18: Der Eingangswiderstand korreliert stark mit dem  $Z_0^{RMP}$ -Wert.

Die Ursache für diese Abweichung liegt in der Meßtechnik zur Bestimmung des Eingangswiderstands  $R_n$ . Beim Kapazitätsabgleich wird systematisch ein etwas zu großer Teil der Strompuls-induzierten Spannungsveränderung<sup>10</sup> dem kapazitiven Verhalten der Membran zugesprochen („Überkompensation“). Dadurch reduziert sich der Spannungsbetrag, der in die Ohmsche Gleichung zur Eingangswiderstandsbestimmung eingeht, was dann zu einer Unterschätzung des tatsächlichen Wertes führt. An diesem Ergebnis zeigt sich die hohe Zuverlässigkeit und Qualität der verwendeten Methode zur Impedanzbestimmung.

Ein sehr wichtiges Charakteristikum der Impedanzresonanz von Neuronen ist die Resonanzfrequenz  $f_{\max}^R$ . Die Werte sind normalverteilt und liegen im Bereich von 0.5 bis 6.5 Hz. Die Durchschnittswerte sind in Tabelle 7.3 angegeben und in Abbildung 7.19 aufgetragen.

	$f_{\max}^R$ [Hz]	$f_B^R$ [Hz]
RMP:	$2.0 \pm 0.8$	$5.3 \pm 2.4$
-70mV:	$1.9 \pm 0.7$	$5.0 \pm 2.4$
-65mV:	$2.2 \pm 1.0$	$5.4 \pm 2.6$

Tabelle 7.3: Resonanzfrequenz und Resonanzbreite bei allen Meßpotentialen.

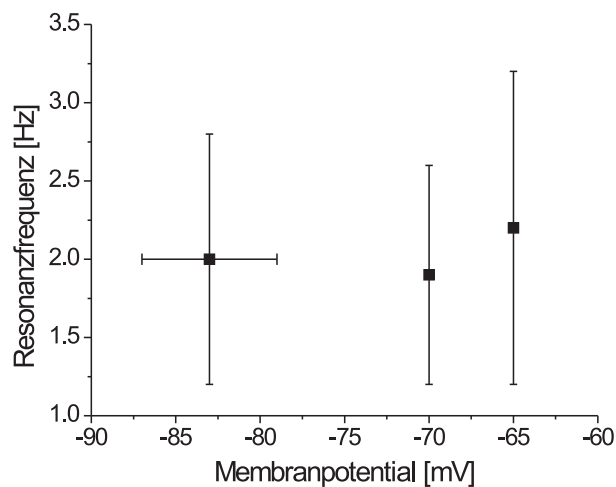


Abbildung 7.19: Resonanzfrequenzen bei den drei Meßpotentialen.

Die Spannungsabhängigkeit der Resonanzfrequenz ist ein kontrovers diskutiertes Problem. Einige experimentelle Untersuchungen sehen eine lineare Abhängigkeit der Resonanzfrequenz vom Membranpotential, obwohl der Zusammenhang nach theoretischen Überlegungen sehr viel komplizierter sein mußte<sup>11</sup>. Eine Varianzanalyse der gemessenen Resonanzfrequenzen ergab keinen signifikanten Unterschied zwischen den drei Meßpotentialen. Das schließt jedoch eine evtl. kompliziertere Spannungsabhängigkeit der Werte nicht aus, da

<sup>10</sup>vgl. Kap. 6

<sup>11</sup>vgl. Kap. 3.2.7

ein Vergleich von jeweils nur zwei Meßpunkten einen signifikanten Anstieg der Resonanzfrequenz zwischen -70 mV und -65 mV feststellte. Für die Resonanzbreite ergaben sich die gleichen Zusammenhänge wie für die Resonanzfrequenz (vgl. Tabelle 7.4).

Signifikanztests		$f_{max}^R$	$f_B^R$
t-Tests:	RMP $\longleftrightarrow$ -70mV:	p>0.1	p>0.1
	RMP $\longleftrightarrow$ -65mV:	p>0.1	p>0.1
	-70mV $\longleftrightarrow$ -65mV:	p<1·10 <sup>-4</sup>	p=0.008
Varianzanalyse für 3 Meßpunkte:		p>0.1	p>0.1

Tabelle 7.4: *Spannungsabhängigkeit der Resonanzfrequenz und Resonanzbreite.*

Aus dem in Kapitel 3 diskutierten Äquivalenzschaltkreismodell (RrLC-Modell) gehen weitere Zusammenhänge hervor, die anhand der Messungen überprüft werden konnten: Die Resonanzfrequenz folgte dem Eingangswiderstand und mit ihm dem  $Z_0$ -Wert in indirekter Proportionalität (Abb. 7.20), was den theoretischen Vorhersagen entspricht. Dagegen konnte keine Korrelation zwischen der Resonanzfrequenz und der Membranzeitkonstanten nachgewiesen werden.

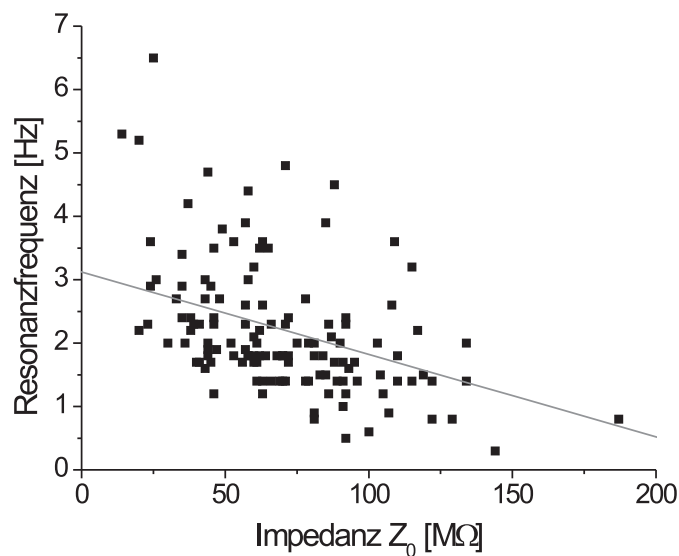
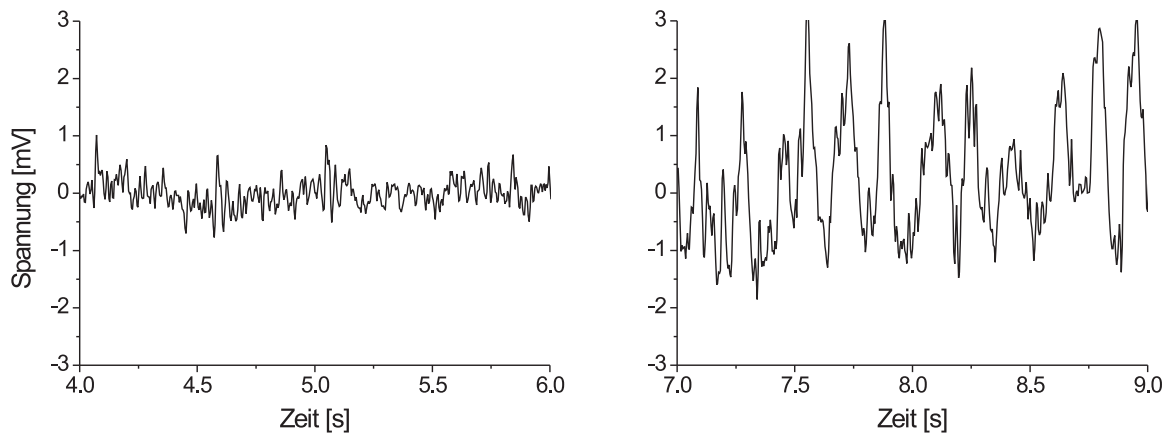


Abbildung 7.20: *Die Resonanzfrequenz ist indirekt proportional zum Eingangswiderstand.*



### 7.4.2 Spontane unterschwellige Membranpotentialoszillationen

Spontane Membranpotentialoszillationen konnten nur nach Depolarisation des Membranpotentials bis unmittelbar an die Entladungsschwelle der Neurone beobachtet werden. Die Oszillationen setzen dabei in einem sehr engen Membranpotentialbereich ein, wobei die Oszillationsamplitude nicht mit zunehmender Depolarisation anwuchs, sondern sehr konstant  $\leq \pm 3$  mV war (Abb. 7.21). Nur die Häufigkeit, mit der Membranpotentialoszillationen im Verlauf der Aufnahme beobachtet werden konnten, stieg innerhalb eines geringen Spannungsbereiches (3 - 4 mV) bis zum Erreichen der Entladungsschwelle an.



**A.** Aufnahme des Membranpotentials bei  $-65$  mV.

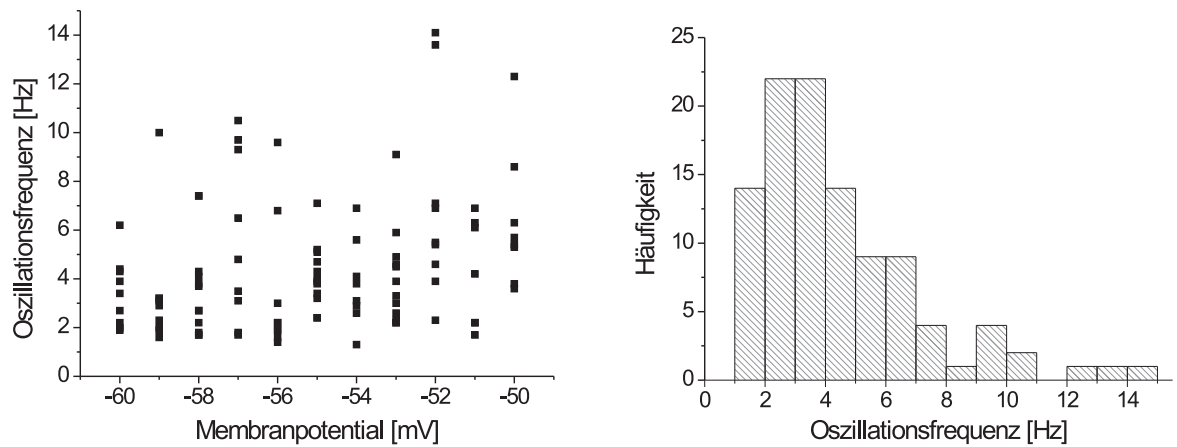
**B.** Aufnahme des Membranpotentials bei  $-59$  mV.

Abbildung 7.21: **Entstehung von Membranpotentialoszillationen innerhalb weniger Millivolt Spannungsdifferenz.** (A) Das Membranpotential zeigte nur zufällige Spannungsfuktuationen. (B) Die Membranpotentialoszillationen sind deutlich zu erkennen.

Von 115 Zellen, die bis an die Aktionspotentialschwelle depolarisiert wurden, zeigten 99 spontane Spannungszosillationen (86 %; siehe Abb. 7.16). Das Membranpotential, bei dem Oszillationen auftraten, lag zwischen  $-60$  mV und  $-50$  mV ( $-56 \pm 3$  mV ;  $n = 99$ ). Da also das Potentialfenster, in dem die Oszillationen beobachtet werden konnten, nur wenige Millivolt betrug, war keine Untersuchung einer Spannungsabhängigkeit der charakteristischen Werte in einzelnen Zellen möglich.

Beim Vergleich zwischen verschiedenen Neuronen war keine Abhängigkeit der Oszillationsfrequenz vom Membranpotential zu finden (Abb. 7.22). Die Werte lagen normalverteilt zwischen 1.3 Hz und 14.1 Hz mit einer durchschnittlichen Frequenz von  $4.3 \pm 2.8$  Hz. Auch die Oszillationsbreite zeigte keine Spannungsabhängigkeit und hatte einen Durchschnittswert von  $5.8 \pm 3.4$  Hz (1.2 Hz bis 21.2 Hz). Da der Eingangswiderstand nicht explizit an der Entladungsschwelle gemessen worden ist, soll nur erwähnt werden, daß eine Korrelation zwischen dem  $Z_0$ -Wert<sup>12</sup> und der Oszillationsfrequenz bzw. -breite bestand, die, genauso wie bei der Resonanzfrequenz, eine indirekte Proportionalität aufwies.

<sup>12</sup>v.a. bei  $-65$  mV



**A.** Die Oszillationsfrequenzen aller Messungen.

**B.** Die Frequenzwerte waren normalverteilt mit einem Mittelwert von  $4.3 \pm 2.8$  Hz.

Abbildung 7.22: Frequenzen der Membranpotentialoszillationen.

In einer Versuchsreihe mit 14 Neuronen wurden die Zellen für mehr als 20 Sekunden stark überschwellig depolarisiert, so daß sie repetitive Entladungen zeigten. Anschließend wurden sie wieder unter das Schwellenpotential repolarisiert. Dieses Vorgehen hatte keinen Einfluß auf das unterschwellige Oszillationsverhalten oder die charakteristischen Oszillationswerte dieser Zellen.

### 7.4.3 Vergleich beider Phänomene

Da sowohl die spontanen Membranpotentialoszillationen als auch die Impedanzresonanz in den Neuronen gemeinsam gemessen wurden, können nun die Charakteristika beider Phänomene miteinander verglichen werden.

Wegen der Spannungsabhängigkeit des Auftretens der Impedanzresonanz hatten Zellen mit Membranpotentialoszillationen oft keine resonanten Impedanzspektren bei Ruhemembranpotential. Allerdings ergab auch ein Vergleich zwischen den Resonanzmessungen bei -65 mV und dem Oszillationsverhalten dieser Neurone in 13 von 115 Zellen ein unterschiedliches Verhalten. 7 Zellen waren resonant, ohne daß bei ihnen unterschwellige Oszillationen des Membranpotentials gefunden werden konnten und in 6 Zellen wurden Membranpotentialoszillationen gemessen, ohne Resonanz im Impedanzspektrum zu zeigen. Dennoch blieb dieser Unterschied knapp über der Signifikanzgrenze (McNemar-Test :  $p = 0.052$ ), kann aber als tendentiell verschieden bezeichnet werden<sup>13</sup>.

Dagegen war das Ergebnis beim Vergleich der Frequenzwerte beider Phänomene eindeutig: Sowohl die Resonanzfrequenz  $f_{\max}^R$ , als auch die Resonanzschärfe  $f_B^R$  waren bei allen Meßpotentialen signifikant verschieden (t-Test :  $p > 0.1$ ) von den Oszillationsfrequenzen  $f_{\max}^S$  und  $f_B^S$ , wengleich die Resonanz- und Oszillationsfrequenzen miteinander direkt proportional korrelieren (Korrelationsfaktor :  $p = 0.022$ ; Abb. 7.23).

<sup>13</sup>vgl. Kap. 6.10

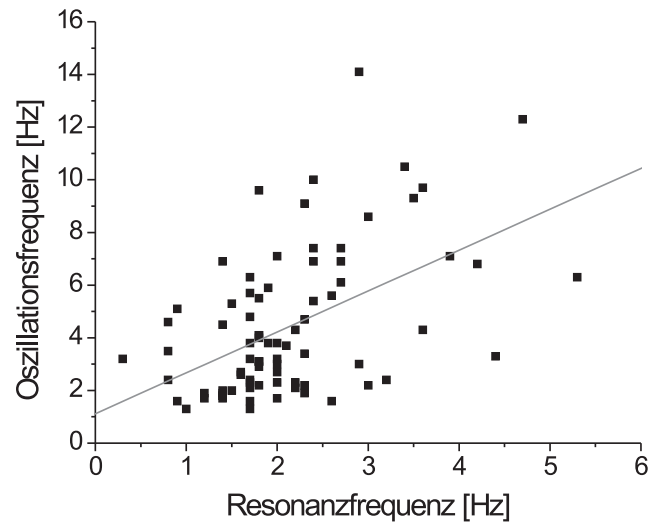


Abbildung 7.23: Die Oszillationsfrequenz verhält sich proportional zur Resonanzfrequenz.

## 7.5 Generierungsmechanismen und Modulation

### 7.5.1 Blockierung der synaptischen Transmission

Zur Überprüfung des Netzwerkeinflusses auf die Membranpotentialoszillationen und der Impedanzresonanz von Neuronen wurde in 34 Zellen die GABAerge und glutamaterge synaptische Transmission mit Hilfe von spezifischen Rezeptorantagonisten (CNQX; APV; Bicucullin; CGP35348) unterbunden. In 5 Zellen wurde außerdem der  $A_1$ -Adenosin-Rezeptor pharmakologisch durch DPCPX blockiert. Die elektrotonischen Charakteristika der insgesamt 39 Neurone wurden durch diesen Substanzcocktail nicht beeinflusst. Es konnte auch keine veränderte Häufigkeit beim Auftreten von Resonanz oder Oszillationen festgestellt werden und auch die Impedanzspektren blieben praktisch unverändert. So waren schließlich keine signifikanten Unterschiede der wichtigsten Parameter beider Phänomene zu beobachten (Abb. 7.24 und Tab. 7.5).

(n=39)		Kontrolle	Syn. Block	Signifikanz
$f_{max}^R$	RMP	$2.3 \pm 1.0$ Hz	$2.2 \pm 1.0$ Hz	p>0.1
	-70mV	$2.1 \pm 0.8$ Hz	$2.1 \pm 0.8$ Hz	
	-65mV	$2.2 \pm 1.1$ Hz	$2.4 \pm 1.0$ Hz	
$f_{max}^S$		$3.5 \pm 1.2$ Hz	$4.1 \pm 1.1$ Hz	p>0.1

Tabelle 7.5: **Applikation synaptischer Rezeptorantagonisten.** Weder die Resonanz- noch die Oszillationsfrequenzen wurden signifikant verändert.

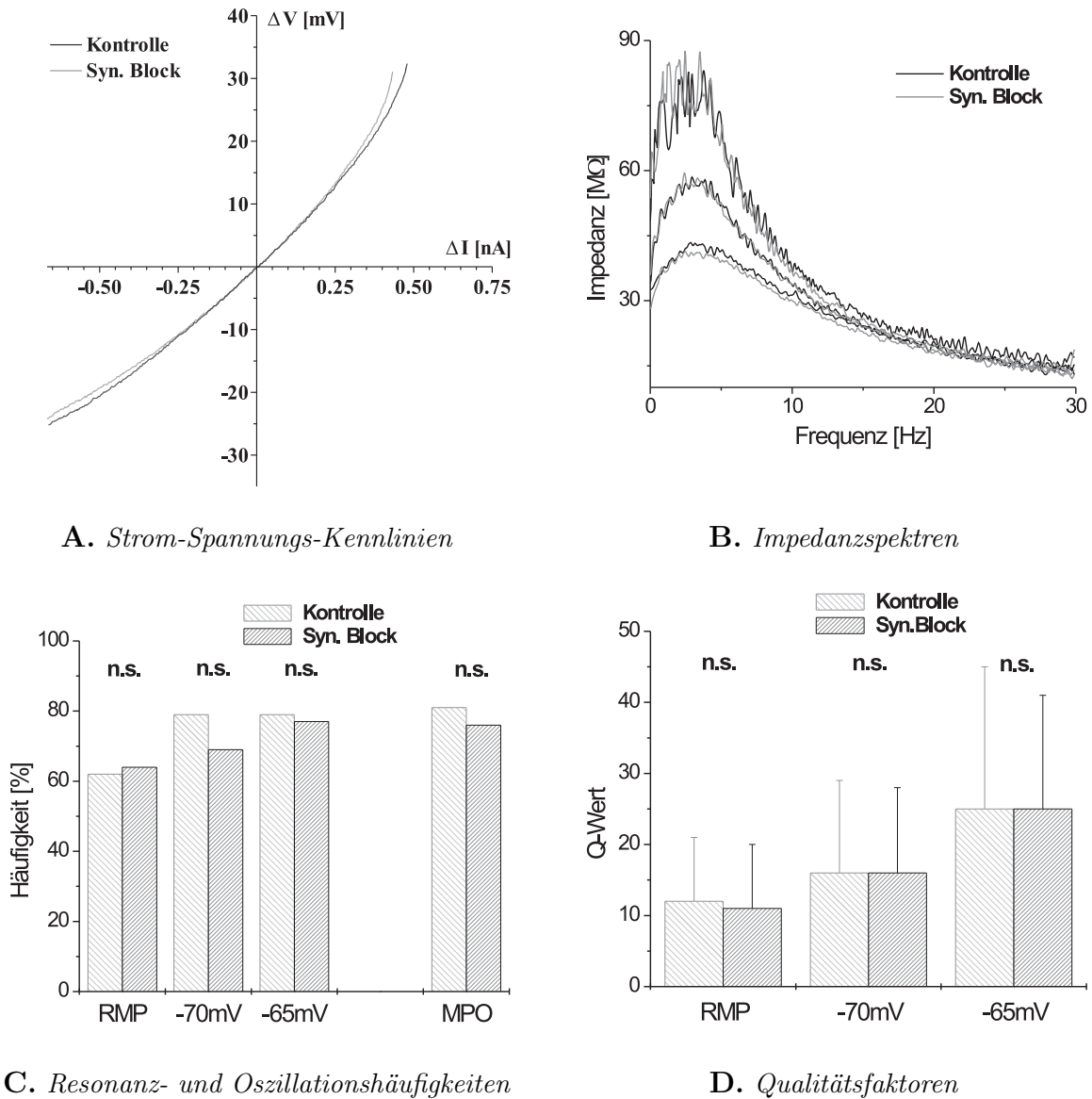
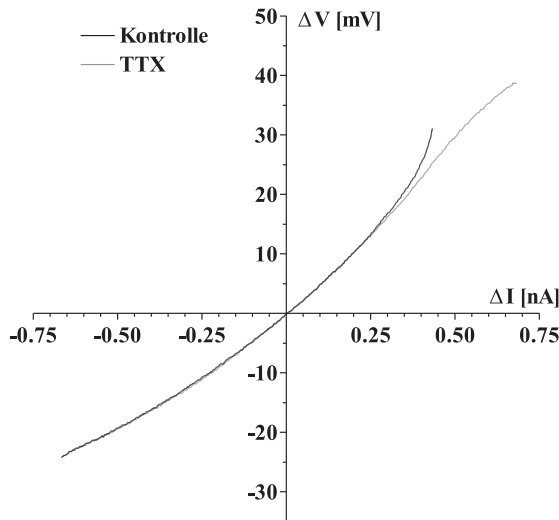


Abbildung 7.24: Applikation synaptischer Rezeptorantagonisten.

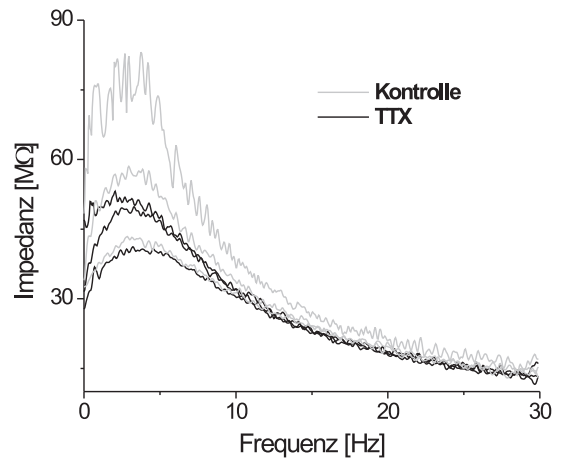
### 7.5.2 Spannungsabhängige Natriumkanäle

Der Einfluß von spannungsabhängigen Natriumkanälen wurde in 88 Neuronen durch Applikation von Tetrodotoxin untersucht, wobei in 49 Zellen TTX als erste Substanz oder nach Zugabe der Rezeptorantagonisten auf seine Wirkung hin analysiert wurde.

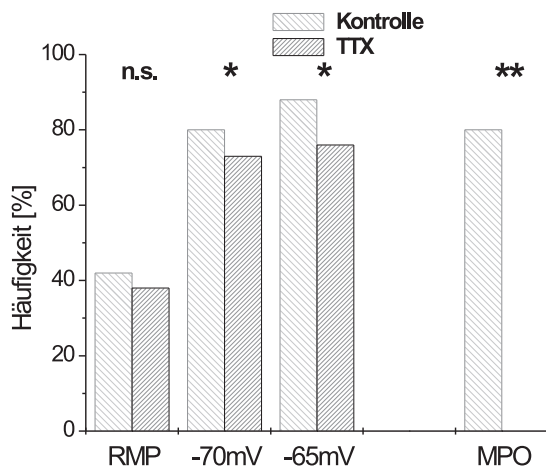
TTX führte zu einem Ausbleiben von Aktionspotentialen auf zuvor überschwellige Strompulse und machte sich in einer charakteristischen Veränderung des Rektifikationsverhaltens der Zellen bei Depolarisation in der Strom-Spannungs-Kennlinie bemerkbar (Abb. 7.25 A). Außerdem kam es zu einer geringfügigen Zunahme des Eingangswiderstands von  $39 \pm 14 \text{ M}\Omega$  auf  $43 \pm 17 \text{ M}\Omega$  (t-Test :  $p = 0.008$ ;  $n = 49$ ) und einer leichten Hyperpolarisation des Ruhemembranpotentials von  $-82 \pm 5 \text{ mV}$  auf  $-84 \pm 6 \text{ mV}$  (t-Test :  $p = 0.001$ ;  $n = 49$ ). Die anderen elektrotonischen Eigenschaften blieben unverändert.



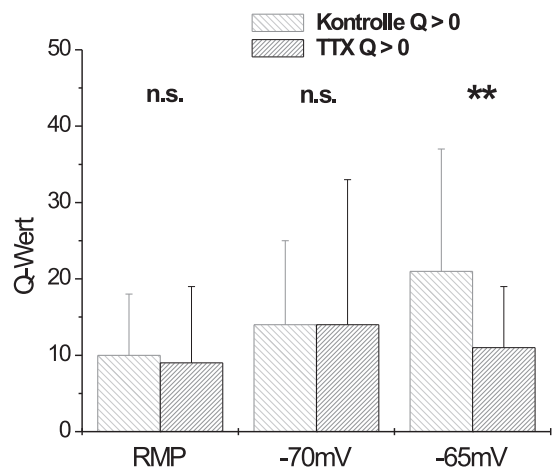
A. Strom-Spannungs-Kennlinien



B. Impedanzspektren



C. Resonanz- und Oszillationshäufigkeiten



D. Qualitätsfaktoren

Abbildung 7.25: Applikation von Tetrodotoxin (TTX).

Die Impedanzuntersuchungen in Gegenwart von TTX ergaben vor allem Veränderungen bei Membranpotentialen positiv von -70 mV. Sowohl die Häufigkeit des Auftretens als auch die Qualität der Resonanz nahmen erst bei einem Meßpotential von -65 mV deutlich ab (Abb. 7.25 C und D). Nach der Varianzanalyse des Qualitätsfaktors verlor der Q-Wert durch diese Reduktion bei depolarisierten Membranpotentialen sogar seine ursprüngliche Spannungsabhängigkeit ( $p > 0.01$ ) und blieb bei einem Wert von ca. 10 konstant bei allen Meßpotentialen. Die Unterdrückung der Spannungsabhängigkeit der Impedanzwerte ist bereits qualitativ in den Impedanzspektren zu sehen (Abb. 7.25 B). Nur die Impedanz bei 30 Hz ( $Z_{30}$ -Wert) wurde bei keinem Meßpotential, im Vergleich zu den Kontrollmessungen signifikant verändert.

Die Resonanzfrequenz und Resonanzbreite blieben ähnlich wie die Impedanzwerte bei negativeren Meßpotentialen unverändert. Erst die Depolarisation auf  $-65$  mV führten zu einer signifikanten Reduktion der Resonanzfrequenz um  $-6 \pm 24$  %, so daß die zuvor unter Kontrollbedingungen beobachtete Frequenzerhöhung zwischen  $-70$  mV und  $-65$  mV aufgehoben wurde. Die Resonanzbreite zeigte nur tendentiell eine Reduktion ihres Wertes bei depolarisierten Meßpotentialen. In Tabelle 7.6 werden die wichtigsten Ergebnisse der Impedanzmessungen noch einmal zusammengefaßt.

(n=49)		Kontrolle	TTX	Signifikanz
$Z_0$	RMP	$41 \pm 14$ M $\Omega$	$45 \pm 17$ M $\Omega$	p=0.025
	-70mV	$61 \pm 22$ M $\Omega$	$61 \pm 22$ M $\Omega$	p>0.1
	-65mV	$77 \pm 28$ M $\Omega$	$68 \pm 26$ M $\Omega$	p<1·10 <sup>-4</sup>
$Z_{max}$	RMP	$43 \pm 16$ M $\Omega$	$47 \pm 20$ M $\Omega$	p=0.018
	-70mV	$68 \pm 24$ M $\Omega$	$67 \pm 25$ M $\Omega$	p>0.1
	-65mV	$90 \pm 33$ M $\Omega$	$73 \pm 28$ M $\Omega$	p<1·10 <sup>-4</sup>
$f_{max}^R$	RMP	$2.0 \pm 0.9$ Hz	$1.9 \pm 0.9$ Hz	p>0.1
	-70mV	$1.9 \pm 0.7$ Hz	$1.9 \pm 0.7$ Hz	p>0.1
	-65mV	$2.2 \pm 1.0$ Hz	$2.0 \pm 0.9$ Hz	p=0.040
$f_B^R$	RMP	$5.3 \pm 2.4$ Hz	$4.8 \pm 2.5$ Hz	p>0.1
	-70mV	$4.9 \pm 1.9$ Hz	$4.7 \pm 2.0$ Hz	p>0.1
	-65mV	$5.3 \pm 2.5$ Hz	$4.7 \pm 2.2$ Hz	p=0.052

Tabelle 7.6: **Applikation von TTX.** Nach Depolarisation auf  $-65$ mV waren die charakteristischen Resonanzwerte im Vergleich zu den Kontrollwerten reduziert.

Obwohl das Resonanzverhalten der Neurone allgemein abgeschwächt wurde, konnte die Blockierung der spannungsabhängigen Natriumkanäle die Impedanzresonanz nicht unterdrücken. Dagegen konnten in allen 88 Zellen nach TTX-Applikation keine Membranpotentialoszillationen am ursprünglichen Schwellenpotential mehr beobachtet werden (Abb. 7.26). TTX hatte also eine 100 % Wirkung auf diese Oszillationen. Da nun aufgrund des Ausbleibens von Aktionspotentialen eine weitere Depolarisation des Membranpotentials möglich war, wurden 36 Zellen noch bis auf Potentiale von  $-42$  mV bis  $-22$  mV depolarisiert. Frequenzanalysen des Membranpotentials bei solch hohen Haltepotentialen identifizierten in 9 Zellen (25 %) erneute Oszillationen, die offensichtlich TTX-insensitiv waren. Die Oszillationsfrequenzen lagen zwischen  $1.7$  und  $7.4$  Hz, also im gleichen Bereich wie die tiefschweligen, TTX-sensitiven Oszillationen. Die durchschnittliche Frequenz dieser hochschweligen Oszillationen betrug  $4.8 \pm 1.4$  Hz ( $n = 9$ ) mit einer Oszillationsbreite von  $5.6 \pm 2.6$  Hz.

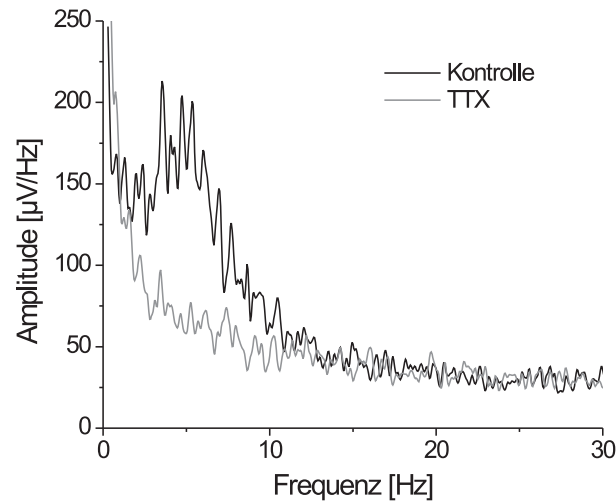


Abbildung 7.26: Applikation von TTX unterdrückt die Membranpotentialoszillationen.

### 7.5.3 Spannungsabhängige Calciumkanäle

Der einzige, bei unterschwelligen Membranpotentialen potentiell aktivierte, Calciumkanal ist der T-  $Ca^{2+}$ -Kanal, der durch Applikation von Nickel blockiert werden kann. 10 Neurone wurden daher unter Einfluß von Nickel auf ihr unterschwelliges elektrisches Verhalten untersucht.

Weder in den elektrotonischen Eigenschaften noch im Impedanzverhalten der Zellen zeigten sich unter Einfluß von Nickel wesentliche Veränderungen der Werte. Das Auftreten von Resonanz im Impedanzspektrum, genauso wie das der Membranpotentialoszillationen, wurde von der Blockierung des T-  $Ca^{2+}$ -Kanals nicht beeinflusst, so daß alle charakteristischen Oszillations- und Resonanzwerte konstant blieben (Tab. 7.7).

(n=10)		Kontrolle	Nickel	Signifikanz
Q-Wert	RMP	$6 \pm 8$	$4 \pm 3$	p>0.1
	-70mV	$22 \pm 13$	$17 \pm 9$	
	-65mV	$28 \pm 20$	$27 \pm 20$	
$f_{max}^R$	RMP	$1.8 \pm 0.6$ Hz	$1.9 \pm 0.8$ Hz	p>0.1
	-70mV	$2.0 \pm 0.4$ Hz	$1.9 \pm 0.4$ Hz	
	-65mV	$2.1 \pm 0.8$ Hz	$2.3 \pm 0.8$ Hz	
$f_{max}^S$	Schwelle	$5.4 \pm 3.9$ Hz	$4.3 \pm 1.8$ Hz	p>0.1

Tabelle 7.7: **Applikation von Nickel.** Alle charakteristischen Werte der Impedanzresonanz und der Membranpotentialoszillationen bleiben unverändert.

### 7.5.4 Spannungsabhängige Kaliumkanäle

#### Wirkung von TEA

Tetraethylammonium (TEA) gilt als unspezifischer  $K^+$ -Kanalblocker, mit dessen Hilfe zunächst grob der Einfluß von Kaliumströmen auf das unterschwellige, elektrische Verhalten der Neurone untersucht werden sollte.

Es zeigte sich, daß unter der Wirkung von TEA nur sehr instabile Messungen, insbesondere in der Nähe der Entladungsschwelle durchgeführt werden konnten. Die Auslösung eines Aktionspotentials führte dabei zu großen und langanhaltenden Nachhyperpolarisationen (Abb. 7.27).

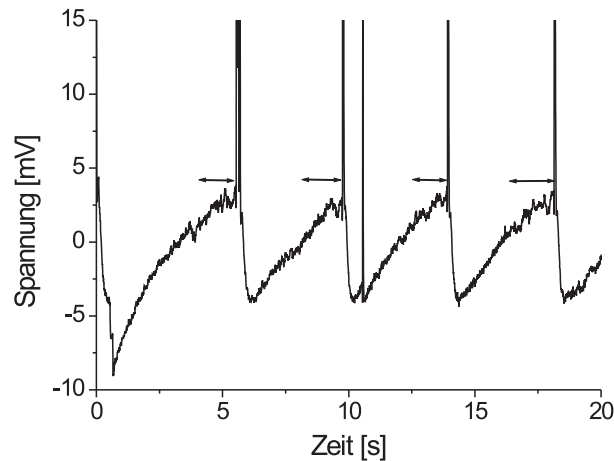
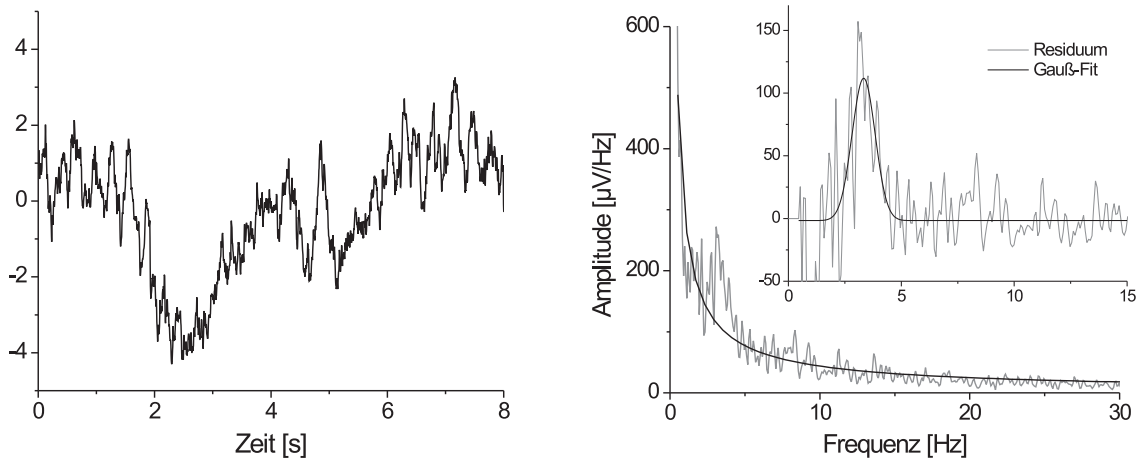


Abbildung 7.27: TEA-Applikation führte bei Entladungen zu starken Nachhyperpolarisationen. Die Pfeile markieren kurze Bereiche mit konstantem Membranpotential.

Dies verhinderte eine vollständige Auswertung, wenngleich durch die Aneinanderreihung von kleinen Ausschnitten aus den Aufnahmen mit nahezu konstantem Membranpotential (Pfeile in Abb. 7.27 und Abb. 7.28 **A**) mit der  $1/f^n$ -Methode dennoch zumindest die Existenz von Membranpotentialoszillationen im Bereich der Entladungsschwelle nachgewiesen werden konnte (Abb. 7.28 **B**). Auch die Impedanzresonanz wurde durch TEA nicht wesentlich beeinflusst. Hauptsächlich kam es zu einer Erhöhung der Impedanzgröße bei Frequenzen unterhalb von 15 Hz bei allen Meßpotentialen.

Allerdings wurden aufgrund der genannten Schwierigkeiten nur bei zwei Zellen TEA appliziert, weshalb hier auch keine quantitativen Aussagen über die Resultate gemacht werden können. Zur Untersuchung des Kaliumstrombeitrags zu den Membranpotentialoszillationen und der Impedanzresonanz wurde daher die Wirkung weiterer Kaliumkanalantagonisten analysiert.





A. Markierte Ausschnitte aus Abb. 7.27.

B. FFT-Spektrum von (A) mit  $1/f^n$ -Fit.

Abbildung 7.28: Membranpotentialoszillationen bestehen unter TEA-Einfluss weiter.

### Wirkung von Barium

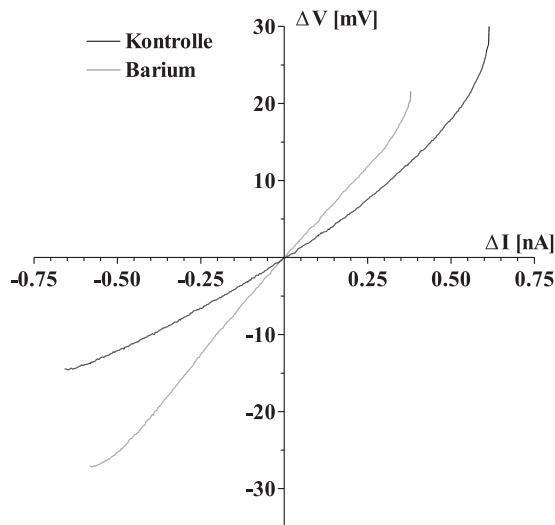
Barium gilt ebenfalls als unspezifischer Kaliumkanalblocker, der allerdings nicht auf die Calcium-abhängigen Kaliumkanäle wirkt. Bei der verwendeten Konzentration ( $100 \mu\text{M}$ ) sind vor allem die einwärtsgerichteten Kaliumkanäle ( $K_{ir}$ ) betroffen, wodurch die Rektifikation in der Strom-Spannungs-Kennlinie in hyperpolarisierender Richtung aufgehoben wurde (Abb. 7.29 A).

Unter Barium-Einfluss konnten in 50 Neuronen stabile intrazelluläre Ableitungen durchgeführt werden. Bei den untersuchten Zellen bewirkte Barium eine deutliche Depolarisation des Ruhemembranpotentials und eine signifikante Erhöhung des Eingangswiderstands und der Membranzeitkonstanten, was dazu führte, daß die Neuronen elektrotonisch kompakter wurden<sup>14</sup> (Tab. 7.8).

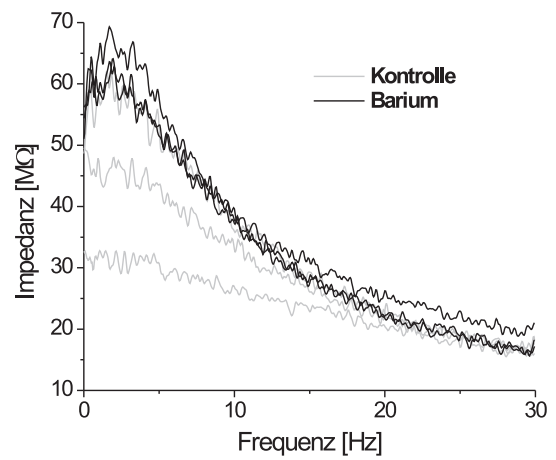
(n=34)	Kontrolle	Barium	Signifikanz
RMP	$-83 \pm 4 \text{ mV}$	$-74 \pm 6 \text{ mV}$	$p < 1 \cdot 10^{-4}$
$R_n$	$31 \pm 8 \text{ M}\Omega$	$67 \pm 13 \text{ M}\Omega$	
$\tau_0$	$11 \pm 2 \text{ ms}$	$22 \pm 4 \text{ ms}$	
L	$1.51 \pm 0.24$	$1.13 \pm 0.21$	

Tabelle 7.8: Applikation von Barium. Veränderungen der elektrotonischen Eigenschaften der Neurone durch Barium-Applikation.

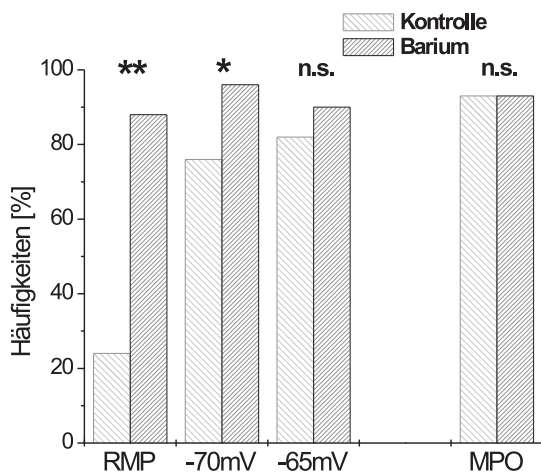
<sup>14</sup>Die elektrotonische Länge L nahm ab



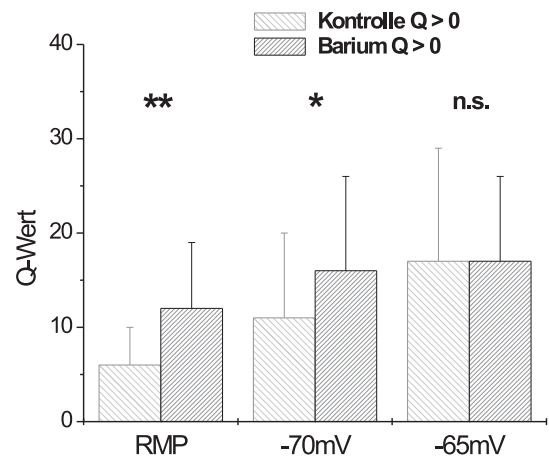
A. Strom-Spannungs-Kennlinien



B. Impedanzspektren



C. Resonanz- und Oszillationshäufigkeiten



D. Qualitätsfaktoren

Abbildung 7.29: Applikation von Barium.

Die Impedanzuntersuchungen in 34 Zellen, bei denen Barium als erste Substanz appliziert wurde, zeigten eine, mit Depolarisation des Meßpotentials deutlich abnehmende Wirkung von Barium für alle charakteristischen Werte. Bei Ruhemembranpotential steigerte sich sowohl die Häufigkeit von Impedanzresonanz als auch deren Qualität dramatisch. Da sich diese Steigerung mit Depolarisation verringerte, bis sie bei einem Meßpotential von -65 mV nicht mehr signifikant war, kam es zum Teil sogar zu einer Aufhebung der unter Kontrollbedingungen charakteristischen Spannungsabhängigkeit des Resonanzverhaltens (vgl. Abb. 7.29 C und D). Die Impedanzwerte nahmen insbesondere bei Ruhemembranpotential unter Barium-Einfluß stark zu und führten auch hier zu einer deutlichen Verringerung der Spannungsabhängigkeit (Abb. 7.29 B und Tab. 7.9). Keine Veränderungen konnten dagegen bei den Werten für die Resonanzfrequenzen  $f_{\max}^R$  und Resonanzbreite  $f_B^R$  festgestellt werden.

(n=34)		Kontrolle	Barium	Signifikanz
$Z_0$	RMP	$36 \pm 2 \text{ M}\Omega$	$66 \pm 3 \text{ M}\Omega$	$p < 1 \cdot 10^{-4}$
	-70mV	$56 \pm 3 \text{ M}\Omega$	$63 \pm 3 \text{ M}\Omega$	$p = 0.009$
	-65mV	$72 \pm 4 \text{ M}\Omega$	$70 \pm 3 \text{ M}\Omega$	$p > 0.1$
$Z_{max}$	RMP	$37 \pm 2 \text{ M}\Omega$	$72 \pm 3 \text{ M}\Omega$	$p < 1 \cdot 10^{-4}$
	-70mV	$62 \pm 3 \text{ M}\Omega$	$73 \pm 3 \text{ M}\Omega$	$p = 0.001$
	-65mV	$83 \pm 4 \text{ M}\Omega$	$79 \pm 3 \text{ M}\Omega$	$p > 0.1$
$Z_{30}$	RMP	$16 \pm 1 \text{ M}\Omega$	$21 \pm 1 \text{ M}\Omega$	$p < 1 \cdot 10^{-4}$
	-70mV	$17 \pm 1 \text{ M}\Omega$	$19 \pm 1 \text{ M}\Omega$	$p = 0.010$
	-65mV	$18 \pm 1 \text{ M}\Omega$	$19 \pm 1 \text{ M}\Omega$	$p > 0.1$

Tabelle 7.9: **Applikation von Barium.** *Die Wirkung von Barium auf alle Impedanzwerte nahm mit Depolarisation ab.*

(n=34)		Kontrolle	Barium	Signifikanz
$f_{max}^R$	RMP	$1.7 \pm 0.3 \text{ Hz}$	$1.7 \pm 0.3 \text{ Hz}$	$p > 0.1$
	-70mV	$1.9 \pm 0.6 \text{ Hz}$	$1.9 \pm 0.4 \text{ Hz}$	
	-65mV	$2.1 \pm 0.9 \text{ Hz}$	$2.0 \pm 0.4 \text{ Hz}$	
$f_B^R$	RMP	$4.3 \pm 1.0 \text{ Hz}$	$4.2 \pm 1.1 \text{ Hz}$	$p > 0.1$
	-70mV	$4.7 \pm 2.1 \text{ Hz}$	$4.8 \pm 1.3 \text{ Hz}$	
	-65mV	$4.8 \pm 2.1 \text{ Hz}$	$4.6 \pm 1.6 \text{ Hz}$	

Tabelle 7.10: **Applikation von Barium.** *Die Resonanzfrequenz und -breite blieben konstant.*

Die Wirkung von Barium auf spontane Membranpotentialoszillationen wurde in 20 Neuronen untersucht. Hier konnte keine Veränderung bei der Häufigkeit des Auftretens beobachtet werden (Abb. 7.29 C). Allerdings reduzierte sich im Vergleich zu den Kontrollmessungen die Oszillationsfrequenz signifikant um durchschnittlich  $29 \pm 20 \%$  nach der Applikation von Barium. Im Gegensatz zur Modulation der Oszillationsfrequenz blieb die Oszillationsbreite unverändert (Tab. 7.11).

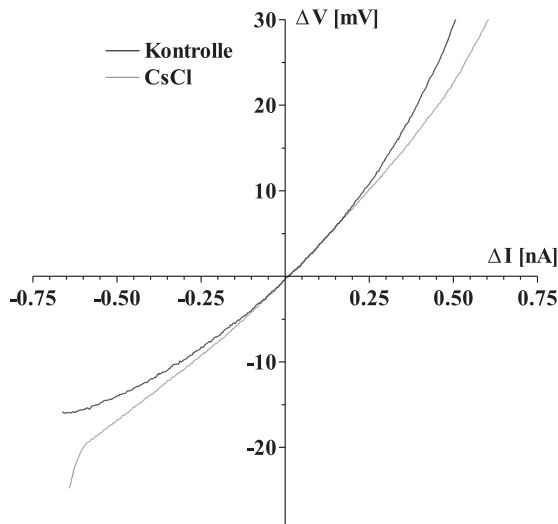
(n=20)		Kontrolle	Barium	Signifikanz
$f_{max}^S$	Schwelle	$5.3 \pm 3.1 \text{ Hz}$	$3.9 \pm 3.1 \text{ Hz}$	$p = 0.010$
$f_B^S$	Schwelle	$6.6 \pm 4.4 \text{ Hz}$	$6.0 \pm 4.8 \text{ Hz}$	$p > 0.1$

Tabelle 7.11: **Applikation von Barium.** *Die Oszillationsfrequenz, aber nicht deren Breite, nahm unter Wirkung von Barium ab.*

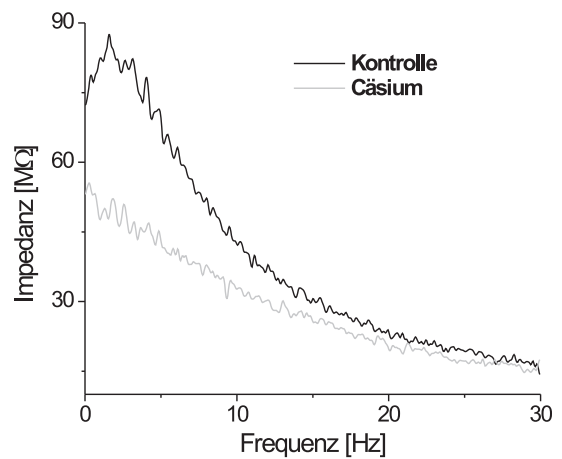
### Wirkung von Cäsium

Wie Barium wirkt auch Cäsium recht unspezifisch auf Kaliumkanäle. Allerdings blockiert Cäsium zusätzlich den H-Kationenkanal.

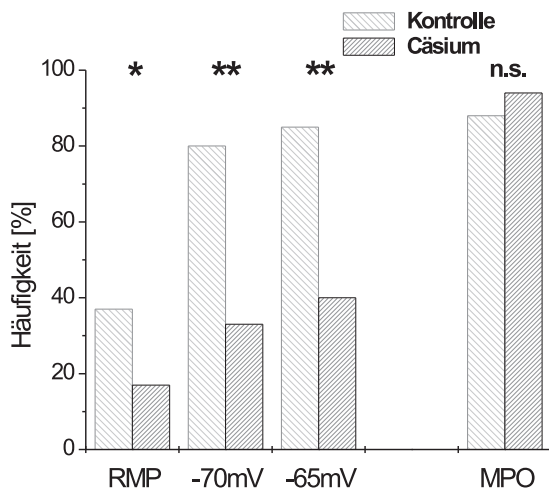
Die Applikation von Cäsium in 21 Zellen als Ersts substanz bewirkte, ähnlich wie Barium, eine signifikante Depolarisation des Ruhemembranpotentials und eine leichte Erhöhung des Eingangswiderstandes und der Membranzeitkonstanten, was wieder zu elektrotonisch kompakteren Neuronen führte (Tab. 7.12). Allerdings waren die Veränderungen deutlich geringer als zuvor unter Barium-Einfluß, was sich auch an der weniger stark veränderten I-V-Kurve zeigt (Abb. 7.30 A). Insgesamt wurden Impedanzmessungen an 62 Neuronen nach  $Cs^+$ -Applikation durchgeführt.



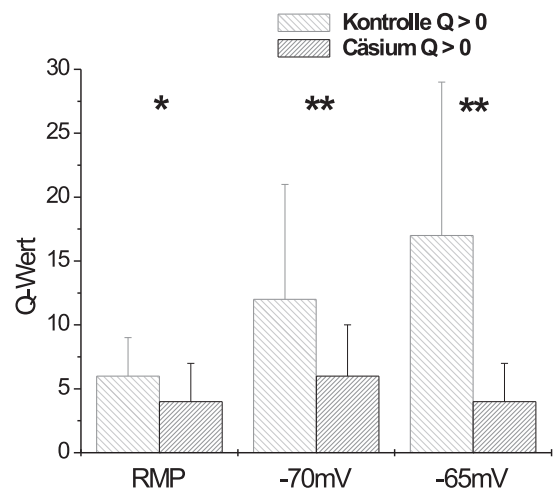
A. Strom-Spannungs-Kennlinien



B. Impedanzspektren



C. Resonanz- und Oszillationshäufigkeiten



D. Qualitätsfaktoren

Abbildung 7.30: Applikation von Cäsium.

(n=21)	Kontrolle	Cäsium	Signifikanz
RMP	$-83 \pm 4$ mV	$-78 \pm 6$ mV	$p < 1 \cdot 10^{-4}$
$R_n$	$29 \pm 9$ M $\Omega$	$32 \pm 5$ M $\Omega$	$p = 0.039$
$\tau_0$	$11 \pm 1$ ms	$14 \pm 2$ ms	$p = 0.022$
L	$1.48 \pm 0.25$	$1.26 \pm 0.31$	$p < 1 \cdot 10^{-4}$

Tabelle 7.12: **Applikation von Cäsium.** *Veränderungen der elektrotonischen Eigenschaften der Neurone durch Cäsium-Applikation.*

Eine Resonanz im Impedanzspektrum konnte nur noch in einem Bruchteil ( $< 40$  % siehe Abb. 7.30 C.) der ursprünglich resonanten Zellen gefunden werden. Die verbleibenden Resonanzspektren hatten einen stark reduzierten Qualitätsfaktor bei allen Membranpotentialen (Abb. 7.30 D). Die charakteristischen Impedanzwerte  $Z_{max}$  und  $Z_0$  nahmen im Vergleich zu den Kontrollmessungen bei depolarisierten Meßpotentialen ab, so daß der Verlauf der Impedanzspektren nach Cäsium-Applikation vor allem bei Frequenzen  $< 15$  Hz immer unter dem Kontrollspektrum blieb (Abb. 7.30 B; Tab. 7.13). Die scheinbar stärkere Reduktion des  $Z_{max}$ -Wertes, verglichen mit dem  $Z_0$ -Wert, ist hauptsächlich auf die Unterdrückung des Resonanzverhaltens in vielen Neuronen zurückzuführen<sup>15</sup>. Mit der Qualität der noch feststellbaren Resonanzen nahmen auch deren Frequenzen um durchschnittlich  $48 \pm 36$  % ( $f_{max}^R$ ) beziehungsweise  $41 \pm 40$  % ( $f_B^R$ ) ab (Tab. 7.13).

(n=21)		Kontrolle	Cäsium	Signifikanz
$Z_0$	RMP	$31 \pm 5$ M $\Omega$	$33 \pm 5$ M $\Omega$	$p > 0.1$
	-70mV	$50 \pm 17$ M $\Omega$	$42 \pm 11$ M $\Omega$	$p = 0.074$
	-65mV	$59 \pm 21$ M $\Omega$	$48 \pm 16$ M $\Omega$	$p = 0.015$
$Z_{max}$	RMP	$32 \pm 5$ M $\Omega$	$33 \pm 7$ M $\Omega$	$p > 0.1$
	-70mV	$55 \pm 19$ M $\Omega$	$42 \pm 12$ M $\Omega$	$p = 0.019$
	-65mV	$70 \pm 16$ M $\Omega$	$48 \pm 17$ M $\Omega$	$p = 0.003$
$f_{max}^R$	RMP	$1.9 \pm 0.1$ Hz	$0.9 \pm 0.1$ Hz	$p = 0.007$
	-70mV	$1.8 \pm 0.8$ Hz	$1.2 \pm 0.1$ Hz	$p < 1 \cdot 10^{-4}$
	-65mV	$2.1 \pm 0.2$ Hz	$1.1 \pm 0.1$ Hz	$p < 1 \cdot 10^{-4}$
$f_B^R$	RMP	$4.0 \pm 0.3$ Hz	$2.1 \pm 0.2$ Hz	$p = 0.006$
	-70mV	$4.6 \pm 0.3$ Hz	$2.8 \pm 0.3$ Hz	$p < 1 \cdot 10^{-4}$
	-65mV	$5.0 \pm 0.3$ Hz	$2.6 \pm 0.2$ Hz	$p < 1 \cdot 10^{-4}$

Tabelle 7.13: **Applikation von Cäsium.** *Die starke Abschwächung des Resonanzverhaltens durch Cäsium zeigte sich sowohl in den Impedanzwerten, als auch bei der Resonanzfrequenz und -breite.*

<sup>15</sup>bei nichtresonanten Zellen ist der  $Z_{max}$ -Wert gleich dem  $Z_0$ -Wert

Erwähnenswert ist, daß auch eine, der Cäsium-Applikation vorausgehende ( $n = 31$ ) oder anschließende ( $n = 6$ ), Barium-Applikation zu keiner Erhöhung der Resonanzhäufigkeit oder einer Verbesserung der Resonanzqualität führte.

Im Gegensatz zur Impedanzresonanz konnten keine wesentlichen Veränderungen bei der Untersuchung von Membranpotentialoszillationen unter Cäsium-Einfluß festgestellt werden. Sowohl die Häufigkeit (Abb. 7.30 **C**) als auch die Frequenz der Oszillationen blieben in den 17 untersuchten Neuronen relativ konstant (Tab. 7.14). Die tendentielle Reduktion der Oszillationsfrequenz hängt mit den 5 oszillierenden Zellen zusammen, bei denen zuvor Barium appliziert wurde.

(n=17)	Kontrolle	Cäsium	Signifikanz
$f_{max}^S$	$5.9 \pm 4.1$ Hz	$4.7 \pm 3.0$ Hz	$p = 0.084$
$f_B^S$	$7.0 \pm 5.0$ Hz	$7.4 \pm 4.8$ Hz	$p > 0.1$

Tabelle 7.14: **Applikation von Cäsium.** *Cäsium hat keinen Einfluß auf die MPO.*

## 7.5.5 H-Typ Kationenkanal

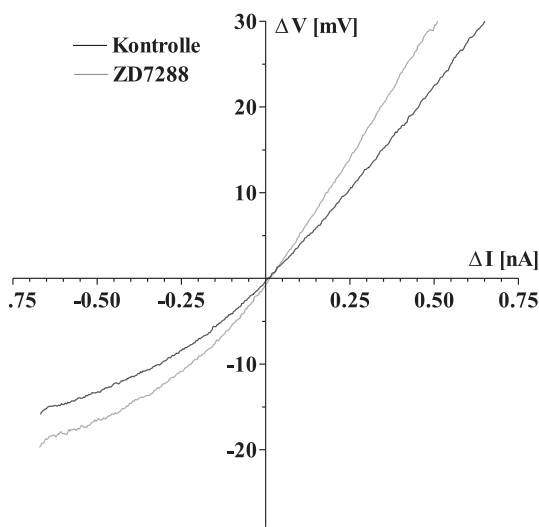
### Wirkung von ZD7288

Zur Untersuchung der Funktion des H-Typ Kationenkanals steht der selektive Antagonist ZD7288 zur Verfügung. Die 12 Neurone, die ZD7288 ausgesetzt wurden, zeigten eine signifikante Eingangswiderstandserhöhung, was sich auch in einer größeren Steigung der Strom-Spannungs-Kennlinie äußerte (Abb. 7.31 **A**). Die in der Literatur [43, 99, 180] zu den ZD7288-Eigenschaften angegebene Hyperpolarisation des Ruhemembranpotentials und die Zunahme der Membranzeitkonstanten war zwar nicht im strengen Sinne signifikant ( $p < 0.05$ ), aber tendentiell ( $p < 0.1$ ) festzustellen. Dies schlägt sich erneut in einer signifikanten Abnahme der elektrotonischen Länge  $L$  nieder (Tab. 7.15).

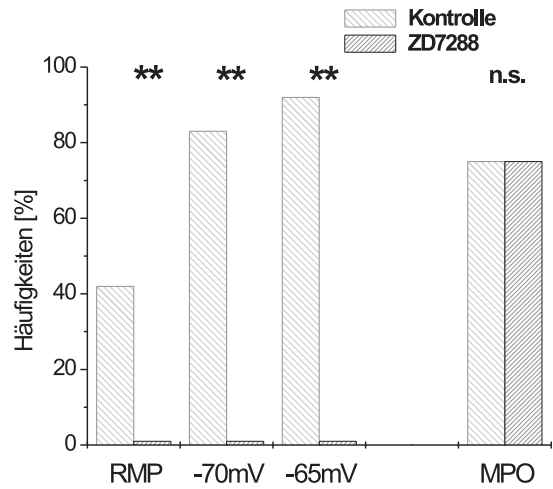
(n=12)	Kontrolle	ZD7288	Signifikanz
RMP	$-85 \pm 3$ mV	$-87 \pm 3$ mV	$p=0.077$
$R_n$	$28 \pm 7$ M $\Omega$	$36 \pm 12$ M $\Omega$	$p=0.028$
$\tau_0$	$10 \pm 2$ ms	$13 \pm 4$ ms	$p=0.065$
$L$	$1.60 \pm 0.24$	$1.40 \pm 0.21$	$p=0.048$

Tabelle 7.15: **Applikation von ZD7288.** *Veränderungen der elektrotonischen Eigenschaften der Neurone durch Applikation von ZD7288.*

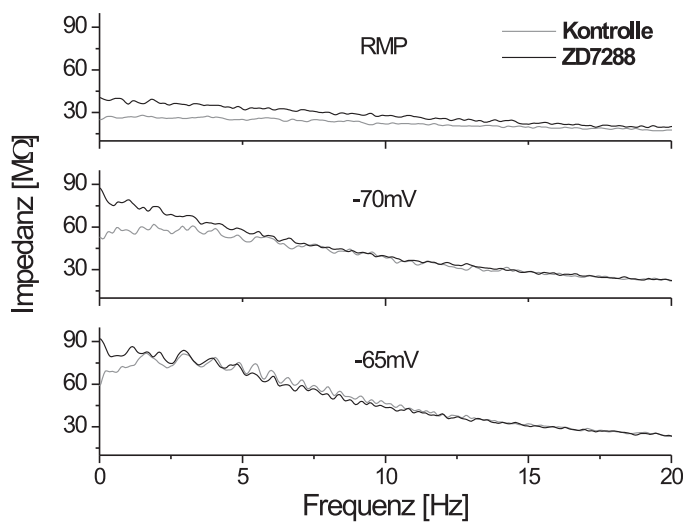
Bei der Untersuchung des Impedanzverhaltens nach ZD7288-Applikation konnten in keiner Zelle mehr Resonanzen im Impedanzspektrum beobachtet werden (Abb. 7.31 **B**), wodurch natürlich die Resonanzqualität auf Null zurückging. Die Impedanzspektren (Abb. 7.31 **C**) weisen nach selektiver H-Kanalblockierung, im Gegensatz zu den Messungen nach Cäsium-Applikation, eine Erhöhung der Impedanzwerte im unteren Frequenzbereich bei allen Meß-



A. Strom-Spannungs-Kennlinien



B. Resonanz- und Oszillationshäufigkeiten



C. Impedanzspektren

Abbildung 7.31: Applikation von ZD7288.

potentialen auf. Dabei zeigte sich eine, mit Depolarisation einsetzende, spannungsabhängige Abnahme des Frequenzbereichs, in dem dieser Impedanzanstieg zu beobachten war: Bei Ruhemembranpotential waren die Impedanzen bei Frequenzen unter ca. 15 Hz erhöht. Depolarisation auf -70 mV reduzierte diesen Bereich auf unter ca. 5 Hz und bei -65 mV lag die Impedanz nur noch bei Frequenzen unterhalb 2 - 3 Hz über den Kontrollwerten.

Die Frequenzanalyse der Membranpotentialoszillationen unter ZD7288-Einfluß erbrachte eine 100 %ige Übereinstimmung mit den Kontrollmessungen. Weder bei der Häufigkeit des Auftretens von Oszillationen (Abb. 7.31 **B**), noch in der Oszillationsfrequenz oder -breite traten Veränderungen auf (Tab. 7.16).

(n=12)	Kontrolle	ZD7288	Signifikanz
$f_{max}^S$	4.1 ± 2.4 Hz	4.7 ± 2.0 Hz	p>0.1
$f_B^S$	6.2 ± 5.8 Hz	6.2 ± 5.0 Hz	p>0.1

Tabelle 7.16: **Applikation von ZD7288.** *ZD7288 hatte keinen Einfluß auf die MPO.*

### Wirkung von Isoproterenol

Der H-Strom wird durch Veränderungen der intrazellulären cAMP-Konzentration, wie sie z.B. durch Aktivierung von  $\beta_1$ - adrenergen Rezeptoren bewirkt wird, moduliert. Daher sollte zum Abschluß der pharmakologischen Untersuchungen der Einfluß des  $\beta_1$ - Rezeptoragonisten Isoproterenol auf die Impedanzresonanz analysiert werden.

Die 17 mit Isoproterenol behandelten Neurone zeigten eine leichte Erhöhung des Eingangswiderstands und der Membranzeitkonstanten (Tab. 7.17).

(n=17)	Kontrolle	Isoproterenol	Signifikanz
RMP	-81 ± 5 mV	-80 ± 4 mV	p>0.1
$R_n$	25 ± 6 M $\Omega$	28 ± 7 M $\Omega$	p=0.002
$\tau_0$	11 ± 2 ms	12 ± 2 ms	p=0.037
L	1.65 ± 0.33	1.54 ± 0.30	p>0.1

Tabelle 7.17: **Applikation von Isoproterenol.** *Veränderungen der elektrotonischen Eigenschaften der Neurone durch Applikation von Isoproterenol.*

Die Analyse der Impedanzmessungen offenbarte keine Veränderung der Resonanzhäufigkeit und auch der Q-Wert blieb nach Isoproterenol-Applikation konstant (Abb. 7.32 **C** und **D**). Allerdings war der  $Z_0$ -Wert, wie schon der Eingangswiderstand, leicht, aber signifikant bei allen Meßpotentialen erhöht (Tab. 7.18). Dies ließ sich auch an der in depolarisierender Richtung etwas steileren Strom-Spannungs-Kurve erkennen (Abb. 7.32 **A**). Alle anderen Impedanzwerte blieben unverändert.

(n=17)		Kontrolle	Isoproterenol	Signifikanz
	RMP	28 ± 8 M $\Omega$	31 ± 8 M $\Omega$	p=0.005
$Z_0$	-70mV	42 ± 18 M $\Omega$	46 ± 16 M $\Omega$	p=0.037
	-65mV	50 ± 22 M $\Omega$	60 ± 25 M $\Omega$	p=0.001

Tabelle 7.18: **Applikation von Isoproterenol.** *Die Impedanzwerte bei 0 Hz waren nach Isoproterenol-Anwendung bei allen Meßpotentialen signifikant erhöht.*



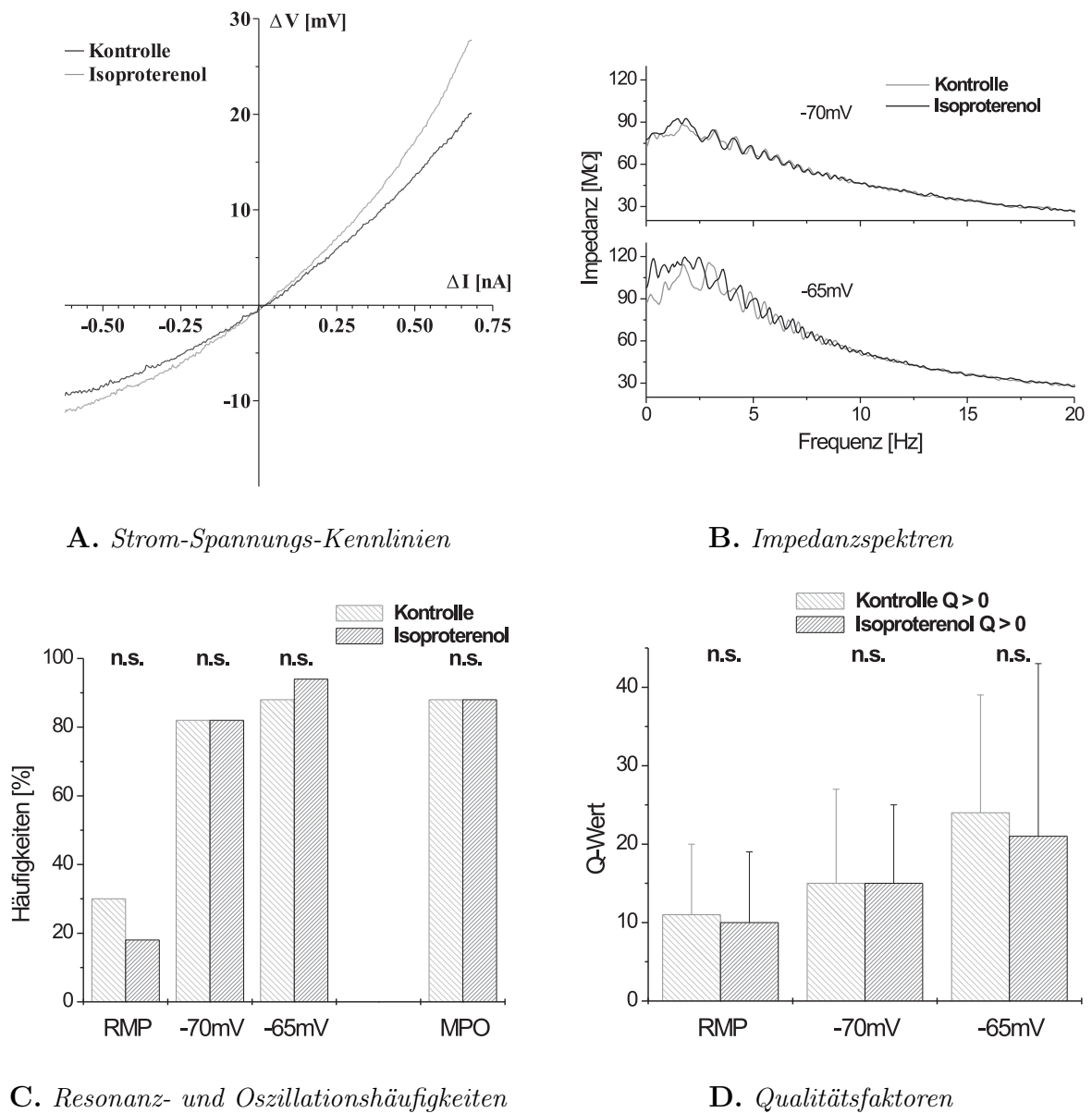


Abbildung 7.32: Applikation von Isoproterenol.

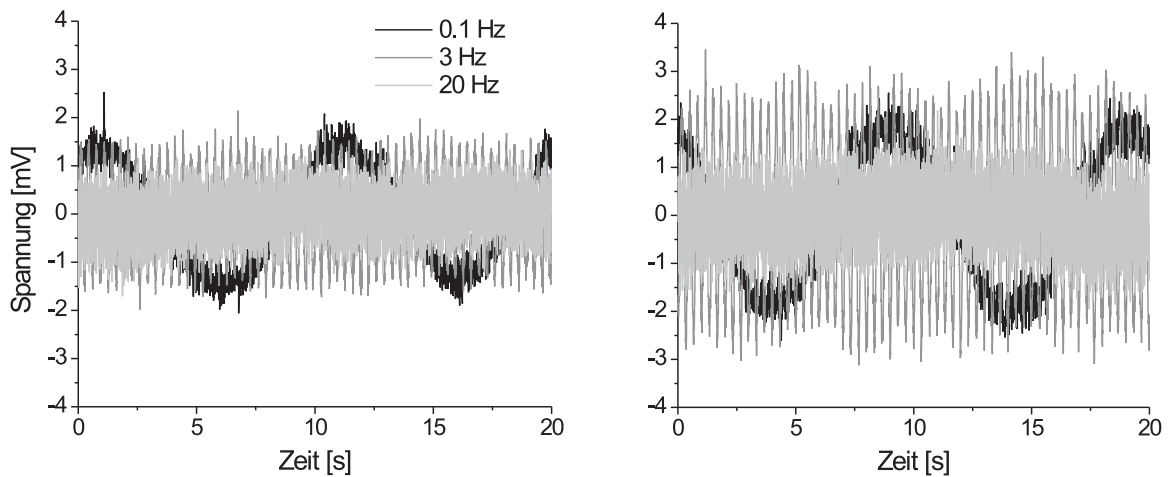
Bei Ruhemembranpotential und -70 mV blieben die Resonanzfrequenz und -breite nach Isoproterenol-Applikation im Vergleich zu den Kontrollwerten ebenfalls unverändert. Erst bei einem Meßpotential von -65 mV führte die  $\beta_1$ - Rezeptoraktivierung zu einer leichten Reduktion der Resonanzfrequenz um durchschnittlich  $17 \pm 12 \%$  bzw. um  $21 \pm 15 \%$  bei der Resonanzbreite (Abb. 7.32 B und Tab. 7.19). Die Membranpotentialoszillationen blieben von der Isoproterenol-Applikation, sowohl was die Häufigkeit der Oszillationen als auch was deren Frequenzen betrifft, unbeeinflusst (Abb. 7.32 C).

(n=17)		Kontrolle	Isoproterenol	Signifikanz
$f_{max}^R$	RMP	$2.3 \pm 0.9$ Hz	$2.1 \pm 0.9$ Hz	p>0.1
	-70mV	$1.8 \pm 0.9$ Hz	$1.9 \pm 0.8$ Hz	p>0.1
	-65mV	$2.3 \pm 1.1$ Hz	$1.8 \pm 0.8$ Hz	p=0.027
$f_B^R$	RMP	$13.8 \pm 3.6$ Hz	$13.0 \pm 5.2$ Hz	p>0.1
	-70mV	$11.0 \pm 2.4$ Hz	$10.0 \pm 1.4$ Hz	p>0.1
	-65mV	$11.8 \pm 1.6$ Hz	$9.8 \pm 1.6$ Hz	p=0.019

Tabelle 7.19: **Applikation von Isoproterenol.** Nur bei Meßpotentialen von -65mV verringerte Isoproterenol die Resonanzfrequenz und -breite .

## 7.6 Untersuchungen zur physiologischen Bedeutung

Im letzten Teil dieser Arbeit wurde das Zusammenwirken von künstlich erzeugten unter-schweligen Membranpotentialoszillationen mit synaptischen Potentialen untersucht. Die Oszillationen wurden durch Injektion eines sinusförmigen, monofrequenten Stroms mit konstanter Amplitude (0.1 nA) generiert. Als Frequenzen wurden 0.1 Hz, 3 Hz und 20 Hz ausgewählt, um möglichst alle Bereiche des beschriebenen Impedanzverhaltens abzudecken. Die Messungen wurden in 22 Neuronen bei zwei Meßpotentialen (Ruhemembranpotential und -65 mV) durchgeführt. Abbildung 7.33 zeigt, daß, wie die Resonanzuntersuchungen vermuten ließen, der Impedanzunterschied der drei Frequenzen vor allem bei depolarisierten Potentialen (**B**) zu deutlichen Unterschieden in der Stärke der Spannungsantwort bei gleicher Stimulationsamplitude führt.



**A.** *Messung bei Ruhemembranpotential*

**B.** *Messung bei -65 mV Haltepotential*

Abbildung 7.33: **Künstliche MPO mit verschiedenen Frequenzen.**

Über eine im umgebenden Gewebe plazierte Reizelektrode konnten synaptische Potentiale ausgelöst werden. Die Reizstärke wurde so gewählt, daß in einem Neuron die Amplitude der resultierenden EPSPs auch bei -65 mV kleiner als 10 mV blieb und zu keiner Aktionspotentialauslösung führte. So wurden jeweils 30 EPSPs bei jedem Meßpotential und verschiedenen Phasen der unterliegenden Oszillationen evoziert. Das Intervall zwischen zwei Stimulationen wurde auf 11.1 Sekunden festgesetzt, um zu gewährleisten, daß das EPSP auch tatsächlich in verschiedenen Phasen der Oszillationen auftritt. Zunächst wurden die gemittelten Aufnahmen der EPSPs bei den verschiedenen Oszillationsfrequenzen für jedes Meßpotential miteinander verglichen. Der Unterschied zwischen den einzelnen Frequenzen war nie signifikant und lag, bezogen auf die Kontroll-EPSP-Amplitude, meist deutlich unter 10 %. Dabei war auch keine systematische Abhängigkeit von der unterliegenden Oszillationsfrequenz zu beobachten.

Um den Einfluß der Lage eines EPSPs zur Schwingungsphase der Membranpotentialoszillationen zu untersuchen, wurde bei allen Aufnahmen zunächst diese Phasenlage ermittelt (Abb. 7.34). Dafür wurde die Schwingung mit einer geeigneten Sinusfunktion angepasst und vier charakteristische Phasenlagen des EPSP-Maximums ausgewählt:

- A. EPSP-Maximum  $\leftrightarrow$  Schwingungsmaximum
- B. EPSP-Maximum  $\leftrightarrow$  Schwingungsminimum
- C. EPSP-Maximum  $\leftrightarrow$  Mitte der Repolarisationsflanke
- D. EPSP-Maximum  $\leftrightarrow$  Mitte der Depolarisationsflanke

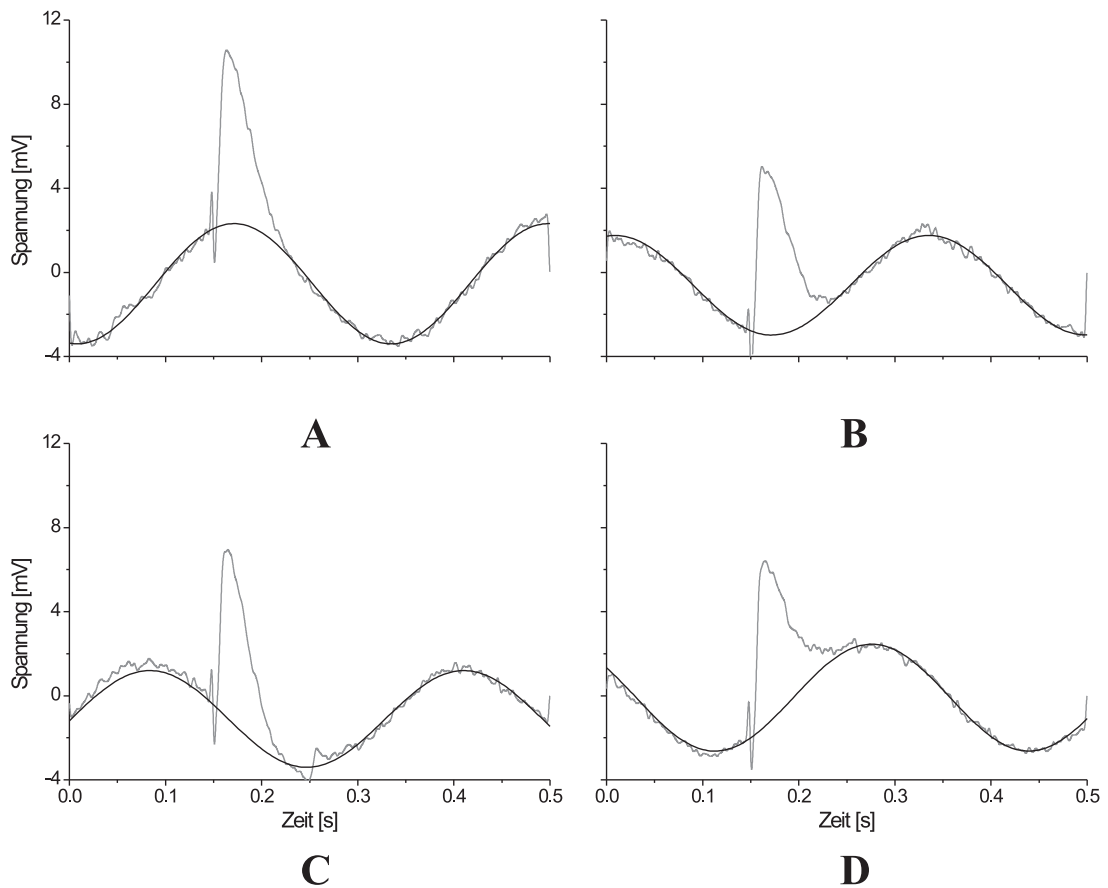
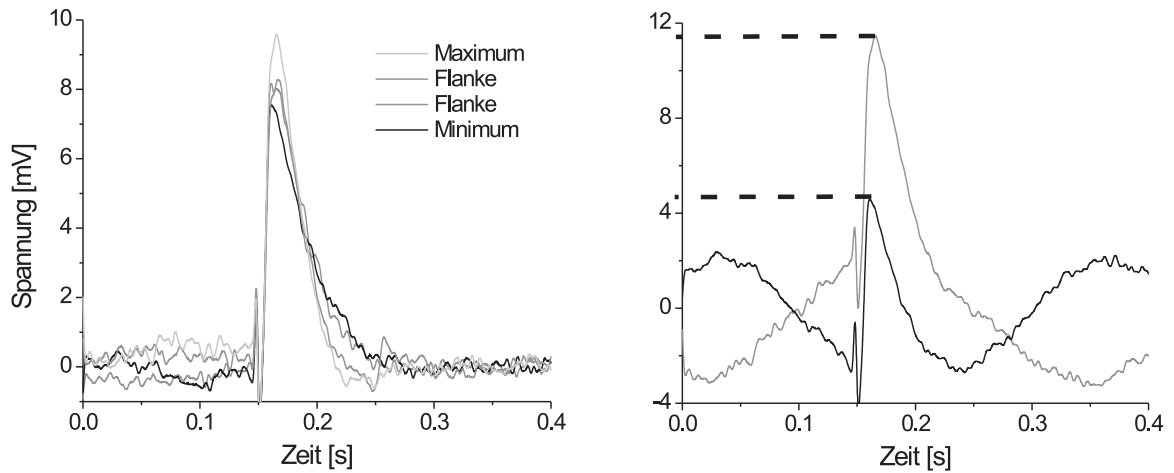


Abbildung 7.34: Phasenlagen A, B, C und D der EPSPs zur Schwingungsamplitude.

Je nach Frequenz der künstlichen Membranpotentialoszillationen konnten bei einem Reizintervall von 11.1 Sekunden zwischen 2 und 4 EPSPs mit gleicher Phasenlage gemittelt werden. Die Residuen aus angepasster Sinusfunktion und Aufnahme des EPSPs mit unterlegten, künstlichen Membranpotentialoszillationen zeigten, daß die Amplituden der synaptischen Potentiale geringfügig, aber systematisch, bei maximaler Schwingungsphase den größten Betrag annahmen (Abb. 7.35 A).

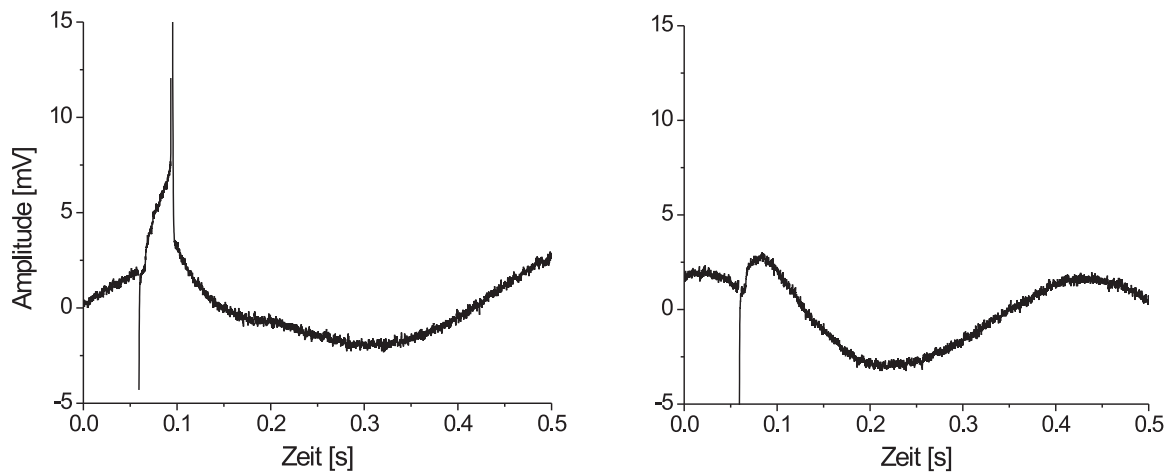


**A.** Amplitudendifferenzen der EPSPs bei unterschiedlicher Phasenlage.

**B.** Gesamtdepolarisation bei unterschiedlichen Phasenlagen der EPSPs.

Abbildung 7.35: Die effektive Depolarisation durch die EPSPs hängt hauptsächlich von deren Phasenlage zur unterlegten Potentialoszillation ab.

Allerdings konnten wiederum keine signifikanten Unterschiede zwischen den Resultaten bei verschiedenen Oszillationsfrequenzen festgestellt werden. Betrachtet man jedoch nicht die Beträge der EPSP-Amplituden bei verschiedenen Phasenlagen, sondern die Gesamtdepolarisation, die durch die Überlagerung von EPSP und Oszillation entsteht, so zeigt sich eine deutliche Differenz zwischen den einzelnen Phasenlagen und bei gleicher Phasenlage zwischen den verschiedenen Oszillationsfrequenzen aufgrund der frequenzabhängigen Impedanz (Abb. 7.35 B). Dies führte dazu, daß bei 8 Neuronen, trotz unterschwelliger Reizstärke für die EPSP-Auslösung unter Kontrollbedingungen, Aktionspotentiale in Verbindung mit künstlichen Membranpotentialoszillationen bei -65 mV auftraten. Ausgelöst wurden die Aktionspotentiale immer während der depolarisierenden Phase der Oszillationen. Ein etwas späteres Eintreffen des EPSPs verhinderte bereits die Entladung (Abb. 7.36). In allen 8 Zellen wurden die Aktionspotentiale bei einer Oszillationsfrequenz von 3 Hz ausgelöst. In 7 Zellen traten Entladungen auch bei 0.1 Hz und nur in 2 Zellen bei 20 Hz auf. Auch wenn dieses, scheinbar frequenzabhängige Entladungsverhalten nicht systematisch untersucht wurde, läßt sich hierin doch der Resonanzverlauf der Impedanz zumindest vermuten.



**A.** *Auslösung eines APs bei optimaler Phasenlage zur Schwingung.*

**B.** *Bei geringfügig späterem Eintreffen des EPSPs wird kein AP ausgelöst.*

**Abbildung 7.36: Die Phasenlage der EPSPs zur Oszillation des Membranpotentials entscheidet über deren Effektivität.**

# Kapitel 8

## Diskussion

Wie aus Kapitel 2 hervorgeht, sind spontane, unter-schwellige Membranpotentialoszillationen und Impedanzresonanz zwei, insbesondere im Neokortex, wenig untersuchte Phänomene des unter-schweligen elektrischen Verhaltens von Neuronen. Die vorliegende Arbeit soll dazu beitragen, diese Lücke unter Anwendung einer neuen, zuverlässigen Methodik zur Quantifizierung der Ergebnisse, zu schließen.

### 8.1 Allgemeines

Bei den untersuchten Zellen handelte es sich um eine homogene Population von regulär entladenden Pyramidenzellen der Schicht II/III des frontalen Kortex der Ratte. Diese Homogenität spiegelt sich wieder in den einheitlichen Ergebnissen, sowohl bezüglich der klassischen Neuronencharakterisierung, als auch bezüglich der Frequenzanalyse des unter-schweligen elektrischen Verhaltens dieser Neurone.

Die Versuchsparameter zur Frequenzanalyse konnten bis an die technischen Grenzen optimiert werden. Dabei wurde gezeigt, daß, in Einklang mit theoretischen Überlegungen, vor allem die Aufnahmedauer und das Einhalten der Unterschwelligkeitsbedingung für die Qualität und Auswertbarkeit der Fourier-Spektren bedeutsam ist.

### 8.2 Impedanzresonanz und Potentialoszillationen

Durch die gleichzeitige Untersuchung des Impedanzverhaltens und der spontanen Membranpotentialoszillationen in den Neuronen konnten beide Phänomene unmittelbar miteinander verglichen werden. Dabei zeigte sich, daß die Frequenzen der Oszillationen bzw. der Resonanz mit  $\sim 4$  Hz ( $f_{\max}^S$ ) bzw.  $\sim 2$  Hz ( $f_{\max}^R$ ) zwar in einem ähnlichen Bereich liegen und sich auch proportional zueinander verhalten, aber doch signifikant verschieden sind. Ob dieser relativ geringe Unterschied eine physiologische Relevanz besitzt, ist anhand der hier vorgestellten Ergebnisse nicht zu entscheiden. Man muß vor allem berücksichtigen, daß durch die Resonanz- und Oszillationsbreite die bevorzugten Frequenzen beider Phänomene in einem weiten Bereich überlappen. Außerdem muß bedacht werden, daß die Resonanz und die Oszillationen bei unterschiedlichen Membranpotentialen untersucht wurden. Das positivste Meßpotential der Impedanzuntersuchungen lag bei -65 mV, wo-

hingegen die Oszillationen erst bei Potentialen positiv von -60 mV auftraten. Da sich die Beurteilung einer Spannungsabhängigkeit der Resonanzfrequenz als nicht eindeutig zu beantworten erwiesen hat, ist es möglich, daß sich der geringe, aber signifikante Anstieg der Frequenz zwischen -70 mV und -65 mV in nichtlinearer Weise fortsetzt und so bei weiterer Depolarisation um 5 bis 10 mV einen Wert erreicht, der dem der Oszillationen entspricht. Für diese Hypothese spricht auch, daß die Applikation von TTX die Resonanzfrequenz bei -65 mV reduzierte und die unter Kontrollbedingungen beobachtete Spannungsabhängigkeit zwischen den Messungen bei -70 mV und -65 mV wieder aufhob. Es könnte also der spannungsabhängige Natriumstrom, der in diesem Potentialbereich zu aktivieren beginnt, bei zunehmender Depolarisation verstärkt Einfluß auf die Resonanzfrequenz nehmen. Da allerdings Impedanzmessungen ohne TTX-Applikation, die positiv von -65 mV durchgeführt wurden, häufig die Unterschwelligkeitsbedingung verletzen, konnten keine solchen Untersuchungen systematisch durchgeführt werden. Die Proportionalität von Resonanz- und Oszillationsfrequenz muß allerdings nicht notwendigerweise für diese Hypothese der gleichen Frequenzen sprechen, sondern ist auch als Ausdruck des Einflusses der „passiven“ elektrotonischen Eigenschaften auf beide Phänomene interpretierbar.

Beim Vergleich meiner Ergebnisse mit der einzig weiteren, mir bekannten Impedanzuntersuchung von Neuronen im frontalen Kortex von Gutfreund *et al.* [47] sind eine Reihe, zum Teil wichtiger Unterschiede feststellbar: Neben einer etwas höheren Resonanzfrequenz ( $\sim 3$  Hz) wird dort ein linearer Anstieg der Frequenzen mit Depolarisation (0.2 Hz/mV) auf bis zu 12 Hz festgestellt. Der Befund geht auf eine Studie von 10 untersuchten Neuronen zurück, die dabei auf Membranpotentiale bis zu -47 mV depolarisiert wurden, was sicherlich bei intakten Zellen ohne TTX-Anwendung die Unterschwelligkeitsbedingung verletzt. Ob eine Angabe von genauen Proportionalitäten bis hin zu linearen Steigungskoeffizienten im Zusammenhang mit dem Impedanzverhalten der Neurone sinnvoll und machbar ist, muß sowohl aus theoretischen Überlegungen, als auch anhand der experimentellen Ergebnisse stark bezweifelt werden und wird deshalb in der vorliegenden Arbeit bewußt unterlassen. Auch die von Gutfreund *et al.* [47] beschriebene, durch Depolarisation herbeigeführte Erniedrigung des Impedanzwertes bei 0 Hz ( $Z_0$ -Wert) widerspricht sowohl meinen Ergebnissen als auch der Tatsache, daß der Eingangswiderstand<sup>1</sup> mit Depolarisation zunimmt. Dieses Verhalten ist nicht zuletzt auch an der Rektifikation in depolarisierender Richtung in der Strom-Spannungs-Kennlinie zu erkennen.

Untersuchungen von spontanen Membranpotentialoszillationen wurden von Gutfreund *et al.* [47] und Llinas *et al.* [94] in Neuronen des frontalen Kortex durchgeführt. In beiden Studien wurde die Unterschwelligkeitsbedingung nicht systematisch eingehalten, so daß die Spannungsabhängigkeit der Oszillationsfrequenz, ähnlich wie zuvor bei den Impedanzuntersuchungen, kritisch betrachtet werden muß. Allein die bei überschwelligem Messungen notwendige Interspike-Analyse der Membranpotentialoszillationen reduziert die Aufnahmedauer und damit die Frequenzauflösung auf einige 100 ms. Betrachtet man nur die Ergebnisse bis zu Meßpotentialen von -55 mV, so ergaben sich ähnliche Frequenzen für die Membranpotentialoszillationen<sup>2</sup> wie bei den in Kapitel 7 vorgestellten Messungen.

<sup>1</sup>der dem  $Z_0$ -Wert entspricht

<sup>2</sup> $\sim 4$  Hz; T : 34°C; [47];  $\sim 10$  Hz T : 37°C; [94]



### 8.3 Generierungsmechanismen und Modulation

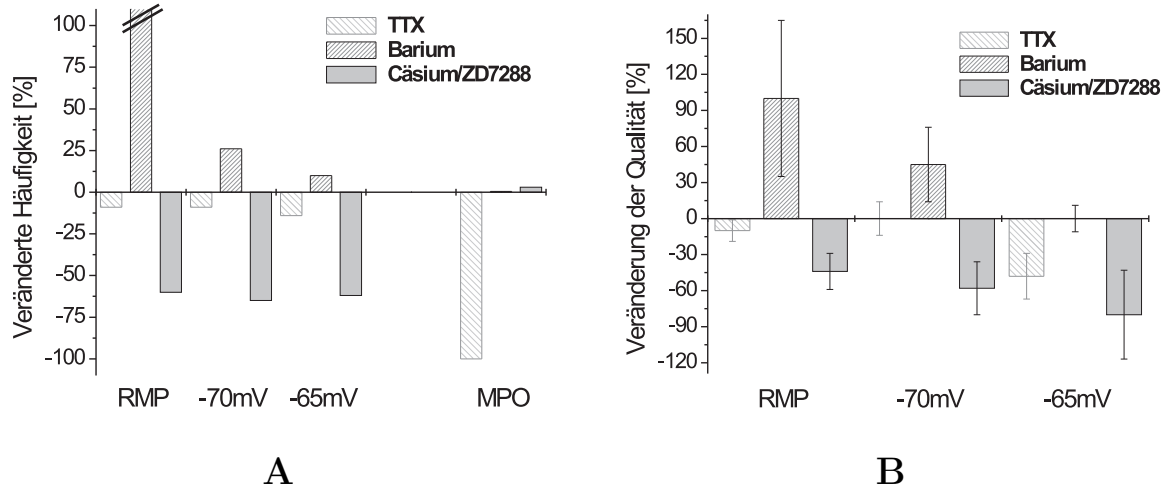


Abbildung 8.1: **Analyse der Resonanzgenerierungsmechanismen.** Veränderung der Häufigkeit (A) und der Qualität (B) nach Applikation von Ionenkanalantagonisten.

Die ionalen Mechanismen, die für das Entstehen der Membranpotentialoszillationen und der Impedanzresonanz verantwortlich sind, konnten eindeutig mit Hilfe der Applikation von Rezeptor- und Ionenkanalantagonisten bestimmt werden.

Das Fortbestehen der Impedanzresonanz und der Membranpotentialoszillationen trotz pharmakologischer Unterbindung der synaptischen Transmission beweist, daß beide Phänomene intrinsisch durch zellinhärente Mechanismen generiert werden und nicht netzwerkverursacht sind. Der Einfluß von Gap Junctions, wie er z.B. bei Membranpotentialoszillationen von Neuronen des Olivenkernkomplexes vorhanden ist<sup>3</sup>, kann ausgeschlossen werden, da im Neokortex der Ratte die Kopplungsrate ab der 3. postnatalen Woche praktisch auf Null zurückgeht [129, 130, 158].

Der direkte Vergleich der Wirkung verschiedener Ionenkanalblocker auf die Membranpotentialoszillationen und die Impedanzresonanz der Neurone zeigt, daß beiden Phänomenen unterschiedliche Entstehungsmechanismen zugrunde liegen. Dabei konnte für die Oszillationen, genauso wie für die Resonanz, jeweils ein Membranstrom als Ursache des jeweiligen unterschwellig elektrischen Verhaltens der Zelle identifiziert werden.

Die Membranpotentialoszillationen können, aufgrund der vollständigen Unterdrückung nach Applikation von TTX, auf die Wirkung von spannungsabhängigen Natriumkanälen zurückgeführt werden (Abb. 8.1 A). Da der Natriumkanal eigentlich transient aktiviert und damit für anhaltende Oszillationen des Membranpotentials nicht in Frage zu kommen scheint, muß eine nicht-inaktivierende Komponente des Natriumstroms verantwortlich sein. Die zwei möglichen, nicht-inaktivierenden Natriumströme, der persistierende  $Na^+$ -Strom  $I_{NaP}$  und der Natrium-Fenster-Strom  $I_{NaW}$ , sind allgemein schwer zu unterscheiden und werden daher beide als Grundlage für die Generierung der spontanen unterschwellig Membranpotentialoszillationen der Neurone des frontalen Kortex in Betracht gezogen.

<sup>3</sup>vgl. [95]

Die in anderen Gehirnbereichen für Potentialoszillationen verantwortlichen Calcium- und Kaliumströme,  $I_T$ ,  $I_{DR}$  und  $I_M$  konnten durch Applikation von Nickel ( $I_T$ ), Cäsium und Barium beziehungsweise TEA ( $I_{DR}$  und  $I_M$ ) von einer Beteiligung an der Generierung der Membranpotentialoszillationen in Neuronen des frontalen Kortex ausgeschlossen werden. Der A-Typ Kaliumkanal kommt aufgrund seiner Kinetik<sup>4</sup> für die Oszillationsgenerierung ebenfalls nicht in Frage, da die Oszillationen über viele Sekunden im unterschwelligen Potentialbereich beobachtbar waren. Zudem ist der A-Strom auch TEA-sensitiv.

Die frequenzmodulierende Wirkung von Barium ist möglicherweise auf die Blockierung von Barium-sensitiven Leckleitfähigkeiten [33] zurückzuführen. Dadurch werden die „passiven“ Membraneigenschaften, vor allem die Membranzeitkonstante, und so auch die in Kapitel 3 definierten Bedingungen zur Entstehung der Membranpotentialoszillationen verändert. Dies ist ein gutes Indiz für die Hypothese, daß die Membranzeitkonstante nicht als passive Größe, sondern als dynamischer Bestandteil der zellinhärenten Eigenschaften betrachtet werden sollte.

Komplizierter sind die Zusammenhänge bei der Erzeugung und Modulation der Impedanzresonanz. Auch hier konnte mit dem H-Strom eine einzelne Membranleitfähigkeit als Ursache für dieses Phänomen identifiziert werden. Allerdings schienen zunächst auch andere Leitfähigkeiten einen Einfluß auf das Auftreten der Impedanzresonanz zu haben (Abb. 8.1 **A**). Die spannungsabhängige Erhöhung der Resonanzhäufigkeit nach Barium-Applikation, vor allem bei Ruhemembranpotential, und die durch TTX verursachte Erniedrigung dieser Häufigkeit bei depolarisierten Meßpotentialen konnten aber auf die Veränderung der Resonanzqualität durch diese Substanzen zurückgeführt werden (Abb. 8.1 **B**). Die Vergrößerung des Qualitätsfaktors durch Barium beziehungsweise dessen Minderung durch TTX führen also nur zu einer veränderten Nachweisbarkeit der Impedanzresonanz. Generiert wird die Resonanz aber allein durch den Cäsium- und vor allem ZD7288-sensitiven H-Strom. Die den Modulationen zugrundeliegenden, einwärtsgerichteten Barium-sensitiven Kaliumkanäle und spannungsabhängigen TTX-sensitiven Natriumkanäle wirken also dämpfend beziehungsweise verstärkend auf das Impedanzverhalten der Zellen. Daher kann von Attenuatorstrom ( $I_{KIR}$ ) und Amplifikatorstrom ( $I_{Na}$ ) gesprochen werden, die in Abhängigkeit von ihren Aktivierungsbereichen bei unterschiedlichen Membranpotentialen das Impedanzverhalten der Zellen modifizieren (Abb. 8.2).

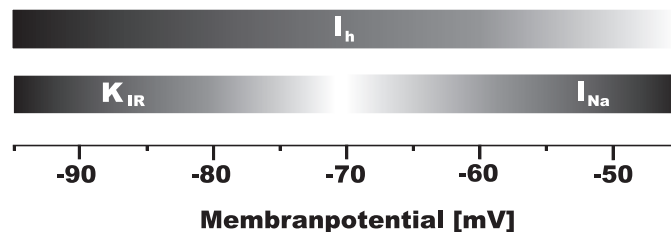


Abbildung 8.2: Die Überschneidung der Aktivierungsbereiche von Resonanz-, Attenuator- und Amplifikatorstrom führt zum spannungsabhängigen Verhalten der Impedanzresonanz.

<sup>4</sup>transiente Aktivierung nach vorausgehender Hyperpolarisation; vgl. Kapitel 4.3

Über den physiologischen Sinn einer Schwächung der Resonanz bei Membranpotentialen negativ von -70 mV kann nur spekuliert werden. Auf den ersten Blick scheint eine solche Dämpfung, weit von der Entladungsschwelle entfernt, wenig sinnvoll zu sein. Denkbar wäre, daß im Kontext der Netzwerkaktivität ein solches unterschwelliges Verhalten zu einer Kontrastverstärkung zwischen verschiedenen Aktivitätszuständen beiträgt.

Im Zusammenhang mit dem frequenzabhängigen Impedanzverhalten der Neurone sollen fünf Ergebnisse nocheinmal genauer betrachtet werden:

1. Die Spannungsabhängigkeit der Resonanzfrequenz ab -70 mV ist ein, von theoretischer und experimenteller Seite, häufig hinterfragtes Problem. Der Einfluß des Amplifikatorstroms auf die Resonanzfrequenz könnte als Indiz für die Hypothese gelten, daß sich Resonanz und Oszillationen die gleichen Vorzugsfrequenzen teilen und sich die gemessene Differenz nur aufgrund der unterschiedlichen Meßpotentiale ergeben hat, so daß beide Phänomene zum gleichen Netzwerkrythmus beitragen.
2. Der Einfluß des Verstärkerstroms  $I_{Na}$  auf die Resonanzfrequenz bei depolarisierten Membranpotentialen widerspricht zunächst dem theoretischen Modell (Kap. 3.2.3), nachdem die Modulationsströme nur die Größe der Resonanz verändern, aber keinen Einfluß auf deren Frequenz haben. Eine der Voraussetzungen, die theoretisch an die Modulationsströme gestellt wurden, war die möglichst instantane Aktivierung der modulierenden Leitfähigkeit. Da auch der Natriumkanal keine unendlich schnelle Kinetik besitzt und außerdem zwei nicht-inaktivierende Komponenten des Natriumstroms ( $I_{NaP}$  und  $I_{NaW}$ ) existieren, kann so der TTX-sensitive Beitrag zur Resonanzfrequenz erklärt werden.
3. Die Cäsium-induzierte Reduktion der Resonanzfrequenz kann sehr wahrscheinlich auf die, im Gegensatz zu ZD7288, nicht vollständige Blockierung des H-Stroms zurückgeführt werden, wie Dickson *et al.* [33] feststellen. Die dadurch nur verringerte Zahl aktivierbarer H-Kanäle führt zu einer scheinbar geringeren Kanaldichte, die wiederum, auch entsprechend theoretischer Überlegungen, eine Reduktion der Resonanzfrequenz zur Folge haben kann.
4. Es wurde ein unterschiedlicher Impedanzverlauf nach  $Cs^+$ - bzw. ZD7288-Applikation festgestellt. Im unteren Frequenzbereich ( $< 15$  Hz) verlaufen die Impedanzwerte unter Cäsium-Einfluß, vor allem bei depolarisierten Meßpotentialen, unterhalb der Kontrollmessungen, dagegen liegen die Werte nach selektiver Ausschaltung des H-Stroms durch ZD7288 darüber. Dieser Unterschied muß also auf die zusätzliche Wirkung von Cäsium auf einen oder mehrere andere, mit Depolarisation aktivierende, Leitfähigkeiten, die offensichtlich eine impedanzverstärkende Wirkung haben und nicht Barium-sensitiv sind<sup>5</sup>, zurückzuführen sein. Die durchgeführten Untersuchungen können allerdings keinen genaueren Aufschluß über diese Leitfähigkeit(en) geben. Ebenso schwierig ist die Interpretation des mit Depolarisation abnehmenden

---

<sup>5</sup>Dieser Impedanzverlauf bleibt auch nach zusätzlicher Barium-Applikation bei depolarisierten Meßpotentialen erhalten

Frequenzbereichs, in dem nach ZD7288-Applikation die Impedanzwerte die Kontrollmessungen übersteigen. Hierin könnten sich die spannungsabhängigen Kinetiken<sup>6</sup> des H-Stroms oder dessen mit Depolarisation abnehmende Amplitude widerspiegeln.

5. Die Applikation von Isoproterenol führte zu einer Reduktion der Resonanzfrequenz und -breite, die sich vor allem bei einem Meßpotential von -65 mV signifikant bemerkbar machte. Dagegen blieb die Resonanzqualität unbeeinflusst. Für eine mögliche Erklärung dieses Befundes muß bedacht werden, daß eine Veränderung der intrazellulären cAMP-Konzentration die Aktivierungskinetik verschiebt, nicht aber die maximale Leitfähigkeit der H-Kanäle beeinflusst. Dadurch verändern sich vor allem die für die Resonanzfrequenz entscheidenden Zeitkonstanten. Die Resonanzgröße bleibt dabei unverändert.

Bei der pharmakologischen Wirkung von TTX auf die spontanen Membranpotentialoszillationen im Neokortex ist sich die Literatur einig (vgl. Kap. 2). Allerdings behaupten Gutfreund *et al.* [47], daß die Oszillationen, genau wie die Impedanzresonanz, auch sensitiv auf TEA und Cäsium reagieren und somit beiden Phänomenen der gleiche ionale Generierungsmechanismus zugrunde liegt, der sich aus dem Zusammenspiel des  $I_{NaP}$  und eines langsam-aktivierenden, nicht-inaktivierenden Kaliumstroms, den sie als  $I_M$  identifizierten, ergibt. Diese Hypothese steht im klaren Widerspruch nicht nur zu den hier vorgestellten Ergebnissen<sup>7</sup>, sondern auch gegenüber einer weiteren Impedanzstudie an neokortikalen Neuronen (somatosensorischer Kortex) von Hutcheon *et al.* [59, 60], die meine Befunde zur Resonanzentstehung durch den H-Strom bestätigt.

## 8.4 Modell und Realität

Im Zuge der Quantifizierung sowohl der Membranpotentialoszillationen als auch der Impedanzresonanz konnte die Übereinstimmung der Messungen mit theoretischen Modellen überprüft werden. Dabei zeigte sich, daß für die Beschreibung des Resonanzverhaltens der Membranimpedanz bereits ein stark vereinfachtes Äquivalenzschaltkreismodell mit nur einer phänomenologischen Induktivität (RrLC-Modell), die sich aus der Analogiebetrachtung zur linearisierten Hodgkin-Huxley-Gleichung einer spannungs- und zeitabhängigen Membranleitfähigkeit ergibt (vgl. Kap. 3), in vielen Zellen ausreicht. Das Äquivalenzmodell lieferte für alle RrLC-Anpassungen sehr realistische Werte für die Kapazität (C) und den Eingangswiderstand (R) der Membran. Die Widerstandswerte lagen im Bereich zwischen 10 und 90 M $\Omega$  und die Kapazitätswerte ließen, bei Annahme einer konstanten Membrankapazität pro Fläche<sup>8</sup> und einem kugelsymmetrischen Aufbau der Neurone, auf realistische Zellgrößen mit 5 bis 80  $\mu\text{m}$  Durchmesser schließen. Im Gegensatz dazu waren die Werte des phänomenologischen Induktivglied (rL-Glied) stark variabel, so daß sich hier vermutlich die Grenze des reduzierten RrLC-Modells offenbart. Da die pharmakologischen Untersuchungen die Beteiligung von mindestens zwei weiteren spannungs- und

<sup>6</sup>spannungsabhängige Aktivierungs- und Inaktivierungszeitkonstante des H-Stroms; vgl. Kapitel 4.4

<sup>7</sup>der M-Strom konnte aufgrund seiner Barium- und TEA-Sensitivität ausgeschlossen werden

<sup>8</sup>1  $\frac{\mu\text{F}}{\text{cm}^2}$

zeitabhängigen Leitfähigkeiten nachgewiesen haben, sollten komplexere Modelle mit mehreren phänomenologischen Kapazitäten und Induktivitäten dieses Problem beseitigen und auch die Anpassung der verbleibenden Spektren ermöglichen. Das Eintreffen von theoretischen Vorhersagen, wie die realistische Abschätzung der Neuronenoberfläche aus den Äquivalenzschaltkreisdaten oder die indirekte Proportionalität der Resonanzfrequenz zum Eingangswiderstand, spricht für die prinzipielle Gültigkeit des verwendeten Modells. So läßt sich feststellen, daß die phänomenologische Induktivität, die aus der spannungs- und zeitabhängigen Kinetik des H-Stroms resultiert, als Ursache für die Impedanzresonanz der Neuronen zu sehen ist und eine sinnvolle Erweiterung des klassischen RC-Modells der Neuronenmembran zur Beschreibung des unterschweligen elektrischen Verhaltens der Zellen darstellt.

Ob sich auch die in Kapitel 3 aufgestellten theoretischen Modelle zur Entstehung der spontanen Membranpotentialoszillationen bestätigen, konnte anhand der dort aufgestellten Bedingungen überprüft werden. Insbesondere wurden vier Hypothesen bestätigt beziehungsweise widerlegt:

1. Die Impedanzresonanz und die Membranpotentialoszillationen basieren nicht auf dem gleichen ionalen Generierungsmechanismus. Damit wird aber nicht ausgeschlossen, daß beide Phänomene durch das gleiche Prinzip, wie der Entstehung einer phänomenologischen Induktivität aus der spannungs- und zeitabhängigen Kinetik einer (jeweils anderen) Membranleitfähigkeit, verursacht werden.
2. Es genügt offensichtlich eine aktive Membranleitfähigkeit, die im Zusammenspiel mit den „passiven“ Membrankomponenten spontan stabile, unterschwellige Membranpotentialoszillationen erzeugen kann.
3. Der die Oszillationen verursachende Membranstrom  $I_{NaP}$  oder  $I_{NaW}$  erfüllt die aus dem Äquivalenzschaltkreismodell und aus dem Bifurkationsmodell resultierenden Bedingungen sowohl was die Kanalkinetik als auch was den Potentialbereich mit negativer Steigungsleitfähigkeit betrifft.
4. Die hervorragende Übereinstimmung der Fourier-Spektren des Membranpotentialrauschens mit dem aus der Kabelgleichung vorhergesagten  $1/f^n$ -förmigen Verlauf unterstreicht ebenfalls die Gültigkeit des Äquivalenzschaltkreismodells.

Es stimmen also auch bei den Membranpotentialoszillationen die Vorhersagen aus den theoretischen Modellen mit den empirischen Befunden weitgehend überein.

## 8.5 Physiologische Bedeutung

Die Impedanzresonanz und die Membranpotentialoszillationen können aufgrund ihres unterschweligen Charakters nur im Zusammenspiel mit eingehenden synaptischen Potentialen zur Aktivität des Neurons im Netzwerkgeschehen beitragen. Dabei zeigen die vorgestellten Ergebnisse, daß die Amplituden der EPSPs nur geringfügig von unterlegten künstlichen Membranpotentialoszillationen verändert wurden. Sehr viel wichtiger ist das zeitliche Zusammenspiel (timing) von synaptischem Potential und Oszillationsphase:

EPSPs, die „im Takt“ mit dem Maximum der Membranpotentialoszillationen eintreten, lösen wahrscheinlicher ein Aktionspotential aus, als solche die etwas verzögert eintreffen, wie auch Amitai [8], Gutfreund *et al.* [47], Klink und Alonso [79], Tukai [41] und Singer *et al.* [172] festgestellt haben. Die realen spontanen Membranpotentialoszillationen neokortikaler Neurone, die direkt an der Entladungsschwelle auftreten, sind daher hervorragend als Synchronisationsfilter für die Netzwerkaktivität geeignet. Membranpotentialoszillationen wären dadurch in der Lage, den Netzwerkrythmus aufrecht zu erhalten und eventuell sogar entscheidend zu seiner Entstehung beizutragen, insbesondere wenn zusätzliche Phänomene, wie die in Kapitel 5 vorgestellte stochastische Resonanz, die Empfindlichkeit des Systems erhöhen.

Die prinzipielle Funktion der Impedanzresonanz liegt vermutlich in einer Frequenzselektion eingehender postsynaptischer Potentiale. Dabei sollte aber weniger an die Frequenz der eingehenden PSPs gedacht werden, als vielmehr an das dynamische Profil von Schwingungen des Membranpotentials, die aus der räumlichen und zeitlichen Integration von vielen inhibitorischen und excitatorischen PSPs entstehen:

Impedanzresonanz entsteht, wenn das Membranpotential mit einer bestimmten Geschwindigkeit verändert wird<sup>9</sup>. Die Membran und die darin enthaltenen Leitfähigkeiten (z.B. vom H-Typ) „sehen“ ja nicht die gesamte Oszillation des Membranpotentials, sondern nur diese Veränderungsrate der Spannung. Der Eingang von Aktionspotentialen, selbst wenn dieser im Resonanztakt erfolgt, bleibt für die Spannungssensoren der Kanäle dennoch, im Vergleich zur resonanz erzeugenden Veränderungsgeschwindigkeit des Membranpotentials, ein zu schneller Vorgang, wie die Analyse der Anstiegszeit (rise-time) der EPSPs zeigt (Abb. 8.3 A).

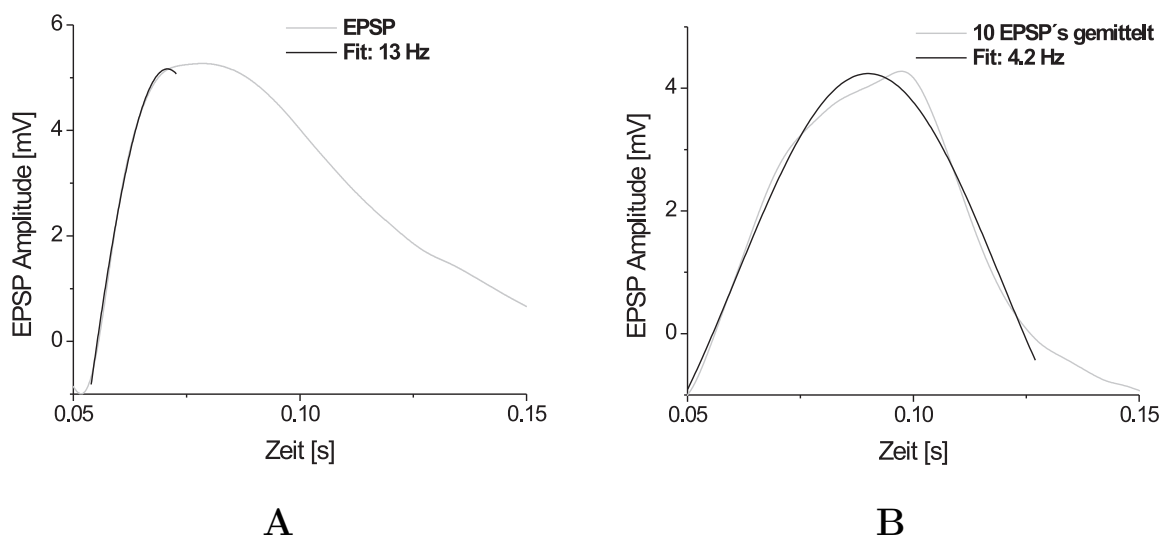


Abbildung 8.3: **A** Das dynamische Profil der postsynaptischen Potentiale passt nicht zur Impedanzresonanz. Die Anstiegsfrequenz der EPSPs ist deutlich größer als die Resonanzfrequenz. **B** Lineare Summation von nur 10 EPSPs mit 2.5 ms Verzögerung bringt die Anstiegszeit der resultierenden Potentialveränderung in den resonanten Bereich.

<sup>9</sup>Die Oszillationsfrequenz entspricht einer Steigung in V/s

Die zeitliche Integration von wenigen in kurzem Abstand aufeinanderfolgenden EPSPs kann diese Anstiegszeit bereits deutlich absenken und so in den resonanten Bereich bringen (Abb. 8.3 B). Das gleiche Ergebnis ist natürlich auch bei einer räumlichen Integration von synaptischen Eingängen zu erwarten. Die Impedanzresonanz könnte so (räumlich und/oder zeitlich) gut abgestimmte synaptische Potentiale verstärken und unabgestimmte Eingänge dämpfen, was sowohl die Informationsdekodierung als auch die Netzwerksynchronisation unterstützen würde.

Die Verlangsamung des dynamischen EPSP-Profiles von den Dendriten zum Soma ist ein altbekanntes Kennzeichen der passiven RC-Eigenschaften der Membran [65, 101, 137], die auch nach neueren Erkenntnissen von einer Reihe spannungsabhängiger Leitfähigkeiten unterstützt wird [68, 148, 156, 165]. Zu diesen Leitfähigkeiten zählen Kir x.x-, H-Typ-, A-Typ- und T-Typ-Kanäle, deren Kanaldichte inhomogen, von distalen Dendriten zum Soma hin abnehmend, verteilt ist [100, 101, 156, 165, 180] und die zum Teil ja auch mit der Impedanzresonanz in Verbindung stehen. In einer Studie zum Impedanzverhalten in Dendriten von Neuronen des somatosensorischen Kortex konnten Ulrich und Stricker [171] zwar keine Resonanz feststellen, allerdings zeigten die Messungen eine deutliche Tiefpassfilterung von Signalen ab 4 Hz, was sich auf das dynamische Profil von postsynaptischen Potentialen auswirkt. Dies belegt, daß die Verlängerung des EPSP-Verlaufs eine wichtige dendritische Eigenschaft ist, die der somatischen Impedanzresonanz zumindest zuarbeiten kann.

Die Frequenzen der unterschwelligen Membranpotentialoszillationen und der Impedanzresonanz liegen in einem sehr ähnlichen, an der Entladungsschwelle eventuell sogar identischen Bereich. Da dieser Frequenzbereich sehr konstant ist und offensichtlich kaum moduliert werden kann, scheinen beide Phänomene allerdings nicht für eine Durchstimmung der synchronisierten Netzwerkaktivität in verschiedene Rhythmen geeignet zu sein, wie sie sich beispielsweise in verschiedenen EEG-Wellen ausdrückt. Für solche Veränderungen der Aktivitätsfrequenz müssen daher andere Mechanismen verantwortlich sein.

Der Frequenzbereich, in dem die Oszillationen und die Resonanz auftreten, entspricht dem  $\Delta$ - bzw.  $\Theta$ -Band des EEGs. Beide Rhythmen sind vor allem bei Kleinkindern aber auch bei Erwachsenen im Schlaf stark ausgeprägt, wobei beim Einschlafen von Erwachsenen insbesondere der Vorderkopfbereich deutliche  $\Theta$ -Aktivität zeigt [53, 72, 142]. Die spontanen unterschwelligen Membranpotentialoszillationen und die Impedanzresonanz könnten dabei in der frühen Entwicklungsphase und später noch im Schlafzustand einen Beitrag zur synchronisierten, rhythmischen Gehirnaktivität, wie er sich im EEG widerspiegelt, liefern.

# Kapitel 9

## Zusammenfassung

Rhythmische Aktivität neuronaler Netzwerke und deren Synchronisation ist eine fundamentale Voraussetzung für die Funktionalität des Gehirns. Zwei im Neokortex bislang wenig beachtete Phänomene im unter-schweligen Membranpotentialbereich, die zur rhythmischen Netzwerkaktivität beitragen können, sind spontane Membranpotentialoszillationen und die Impedanzresonanz von Neuronen. Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich daher mit der theoretischen und experimentellen Analyse dieser zellinhärenten Eigenschaften in Neuronen des frontalen Kortex der Ratte *in vitro*:

Die 155 untersuchten Zellen konnten aufgrund ihrer elektrophysiologischen Eigenschaften und ihrer Morphologie als homogene Population von regulär entladenden Pyramidenzellen der Schicht II/III des frontalen Kortex identifiziert werden. Zur Frequenzanalyse der Spannungszosillationen und des Impedanzverhaltens wurde die Fourier- Transformation angewendet. Durch die Überprüfung der Versuchs- und Analyseparameter konnte das Verfahren bis an die technischen Grenzen optimiert werden. Bei der Auswertung der resultierenden Fourier- Spektren wurden, auf theoretische Modelle basierende, Funktionen eingesetzt, um eine objektive quantitative Analyse zu ermöglichen und die Modelle so auf ihre Kongruenz mit den empirischen Befunden zu testen. Das Auftreten einer phänomenologischen Induktivität, die aus den Eigenschaften der linearisierten Hodgkin-Huxley-Gleichung von spannungs- und zeitabhängigen Leitfähigkeiten folgt, konnte auf diese Weise trotz starker Reduktion der Komplexität des verwendeten Modells prinzipiell bestätigt werden. Daneben zeigte auch das Membranrauschen den vorhergesagten  $\frac{1}{\sqrt{f}}$ - förmigen Amplitudenverlauf.

Jede Zelle wurde sowohl auf Membranpotentialoszillationen als auch auf Impedanzresonanz hin getestet, um einen unmittelbaren Vergleich der beiden Phänomene zu ermöglichen. Messungen bei verschiedenen Membranpotentialen offenbarten eine Spannungsabhängigkeit des Impedanzverhaltens der Zellen. Häufigkeit und Qualität der Resonanz nahmen dabei mit Depolarisation vom Ruhemembranpotential auf -65 mV deutlich zu. Insgesamt waren nur 7 % der Neurone nicht resonant, zeigten also bei allen Meßpotentialen einen über alle Frequenzen monoton fallenden Impedanzverlauf. Spontane unterschwellige Membranpotentialoszillationen traten in 86 % der Zellen in einem schmalen Membranpotentialfenster unmittelbar an der Entladungsschwelle auf. Ein signifikanter Unterschied bei der Häufigkeit des Auftretens der beiden Phänomene konnte nicht festgestellt werden, auch wenn Zellen gemessen wurden, die nur Resonanzen bzw. nur Oszillationen, zeigten.



Die Resonanz- und Oszillationsfrequenzen unterschieden sich signifikant: Das Impedanzmaximum lag bei 1 bis 6 Hz ( $\bar{\sigma} \sim 2$  Hz), für die Oszillationsamplituden wurden Werte zwischen 1 und 14 Hz ( $\bar{\sigma} \sim 4$  Hz) gemessen. Eine mögliche Spannungsabhängigkeit der Resonanzfrequenz ab -70 mV könnte allerdings diesen Unterschied an der Entladungsschwelle aufheben.

Die Applikation von Rezeptor- und Ionenkanalantagonisten zur Untersuchung der Generierungsmechanismen der Membranpotentialoszillationen und der Impedanzresonanz erbrachte folgende Ergebnisse:

1. Die Unterbindung der glutamatergen und GABAergen synaptischen Transmission hat keinen Einfluß auf die beiden Phänomene, so daß eine Netzwerketeiligung an deren Entstehung ausgeschlossen werden kann.
2. Die Generierung von spontanen Membranpotentialoszillationen ließ sich nur durch die Applikation des  $Na^+$ -Kanalantagonisten TTX unterdrücken. Als Ursache der Oszillationen wird daher ein nicht-inaktivierender Natriumstrom  $I_{NaP}$  oder  $I_{NaW}$  in Verbindung mit den „passiven“ Membraneigenschaften vorgeschlagen.
3. Im Gegensatz zu den Membranpotentialoszillationen wird die Impedanzresonanz der Neurone durch den H-Strom, der durch Cäsium und vor allem ZD7288 blockierbar ist, erzeugt.
4. Die Impedanzresonanz wird in ihrer Ausprägung in spannungsabhängiger Weise moduliert. Bei depolarisierten Meßpotentialen wirkt der gesamte Natriumstrom verstärkend auf die Resonanzgröße und beeinflusst auch die Resonanzfrequenz. Dagegen wirkt bei negativeren Membranpotentialen der Strom durch einwärtsgerichtete Kaliumkanäle dämpfend auf die Resonanz, ohne deren Frequenz zu beeinflussen.
5. Eine Veränderung der H-Kanalkinetik durch Erhöhung der intrazellulären cAMP-Konzentration durch Applikation des  $\beta_1$ -adrenergen-Rezeptoragonisten Isoproterenol führte zu einer leichten Verringerung der Resonanzfrequenz bei depolarisierten Meßpotentialen.
6. Die Frequenz der Membranpotentialoszillationen konnte durch die Applikation von Barium leicht verringert werden. Die Blockierung des H-Stroms hatte keinen Einfluß auf die Oszillationen.

Die pharmakologischen Untersuchungen belegen, daß beide Phänomene auf unterschiedliche ionale Mechanismen zurückzuführen sind und unabhängig voneinander auftreten können.

Die Untersuchung des Zusammenwirkens von synaptischen Potentialen mit künstlich erzeugten Membranpotentialoszillationen zeigte, daß vor allem die Phasenlage der EPSPs zur Oszillation eine für das Auslösen von Aktionspotentialen kritische Eigenschaft ist und

somit zur Synchronisation von neuronaler Aktivität beitragen kann. Die Impedanzresonanz scheint bei zeitlich weit auseinanderliegenden synaptischen Potentialen keine Rolle zu spielen. Im Integrationsprozess der großen Anzahl von excitatorischen und inhibitorischen postsynaptischen Potentialen, die ständig die Zelle erreichen, könnte jedoch das Resonanzverhalten der Membranimpedanz eine Verstärkung bestimmter Eingangsmuster unterstützen.

# Anhang A

## Die Taylor-Entwicklung

Die einfachste Gestalt der Taylor-Entwicklung ist der Mittelwertsatz der Differentialrechnung:

$$f(x + \Delta x) = f(x) + \Delta x \cdot f'(x + \Theta \cdot \Delta x) \quad (\text{A.1})$$

Die allgemeine Formel zur Taylor-Entwicklung lautet:

$$\begin{aligned} f(x + \Delta x) &= f(x) + \frac{\Delta x}{1!} \cdot f'(x) + \frac{\Delta x^2}{2!} \cdot f''(x) + \dots + \frac{\Delta x^n}{n!} \cdot f^{(n)}(x) + R_n(x) \\ &= \sum_{\nu=0}^n \frac{f^{(\nu)}(x)}{\nu!} (x - x_0)^\nu + R_n(x) \end{aligned} \quad (\text{A.2})$$

Mit dem Rest  $R_n(x)$ :

$$R_n(x) = \frac{\Delta x^{n+1}}{(n+1)!} \cdot f^{(n+1)}(x + \Theta \cdot \Delta x) \quad (\text{A.3})$$

Die Taylor-Entwicklung einer Funktion ist nur zulässig, wenn gilt:

$$\lim_{n \rightarrow \infty} R_n(x) = 0 \quad (\text{A.4})$$

In vielen Fällen genügt die lineare Näherung:

$$f(x + \Delta x) \approx f(x) + \Delta x \cdot f'(x) \quad (\text{A.5})$$

Ist die zu nähernde Funktion mehrdimensional, so muß die Taylor-Entwicklung für mehrere Variablen angewendet werden:

$$f(x, y) = \sum_{k=0}^r \frac{1}{k!} \cdot \left\{ \left[ (x - x_0) \frac{\partial}{\partial x} + (y - y_0) \frac{\partial}{\partial y} \right]^k f \right\} (x_0, y_0) + R_r(x, y) \quad (\text{A.6})$$

Dabei gilt folgende Definition (mit  $\lim_{r \rightarrow \infty} R_r(x, y) = 0$ ):

$$\left[ (x - x_0) \frac{\partial}{\partial x} + (y - y_0) \frac{\partial}{\partial y} \right]^k f \equiv \sum_{i=1}^k \binom{k}{i} \cdot (x - x_0)^i \cdot (y - y_0)^{k-i} \cdot \frac{\partial^k f}{\partial x^i \partial y^{k-i}}$$

# Anhang B

## Taylor-Entwicklung der Kanalkinetik

Aktivierungskinetik des Kaliumstroms:

$$\begin{aligned}\frac{dn}{dt} &= \alpha \cdot (1 - n) - \beta \cdot n \\ &= \alpha - n \cdot (\alpha + \beta)\end{aligned}\tag{B.1}$$

Nach der Gleichung für die mehrdimensionale Taylor-Entwicklung gilt:

$$\delta \frac{dn}{dt} = \left( \frac{\partial \frac{dn}{dt}}{\partial \alpha} \right) \cdot \delta \alpha + \left( \frac{\partial \frac{dn}{dt}}{\partial \beta} \right) \cdot \delta \beta\tag{B.2}$$

Einsetzen der Definitionen und Ausdifferenzieren der Klammern ergibt:

$$\frac{\partial (\alpha - n \cdot (\alpha + \beta))}{\partial \alpha} = 1 - \left( (\alpha + \beta) \cdot \frac{\partial n}{\partial \alpha} + n \right)\tag{B.3}$$

$$\frac{\partial (\alpha - n \cdot (\alpha + \beta))}{\partial \beta} = - \left( (\alpha + \beta) \cdot \frac{\partial n}{\partial \beta} + n \right)\tag{B.4}$$

Zusammen mit der ursprünglichen Gleichung erhält man das gesuchte Ergebnis:

$$\begin{aligned}\delta \frac{dn}{dt} &= \delta \alpha \cdot n - \delta \alpha \cdot \left( (\alpha + \beta) \cdot \frac{\partial n}{\partial \alpha} \right) - \delta \beta \cdot n - \delta \beta \cdot \left( (\alpha + \beta) \cdot \frac{\partial n}{\partial \beta} \right) \\ &= \delta \alpha - (\delta \alpha + \delta \beta) \cdot n - (\alpha + \beta) \cdot \delta n\end{aligned}\tag{B.5}$$

$$\delta n = \frac{\partial n}{\partial \alpha} \cdot \delta \alpha + \frac{\partial n}{\partial \beta} \cdot \delta \beta\tag{B.6}$$

# Anhang C

## Ionenkanalkinetik im Fourier-Raum

Gleichung zur Beschreibung der Kinetik  $A$  eines Ionenkanals im Zwei-Zustandsmodell nach Hodgkin-Huxley:

$$\begin{aligned} d\frac{\delta A}{dt} &= \left[ (1-A) \cdot \frac{d\alpha}{dV} - A \cdot \frac{d\beta}{dV} \right] \cdot \delta V - (\alpha + \beta) \cdot \delta A \\ (\alpha + \beta) \cdot \delta A + \frac{d}{dt}\delta A &= \left[ (1-A) \cdot \frac{d\alpha}{dV} - A \cdot \frac{d\beta}{dV} \right] \cdot \delta V \end{aligned} \quad (\text{C.1})$$

Nach der Definition der Fourier-Transformation  $\tilde{S}(f) = \int_{-\infty}^{\infty} s(t) \cdot e^{-i\omega t} dt$  lautet die Frequenzdarstellung dieser Gleichung:

$$(\alpha + \beta) \cdot \delta \tilde{A} + i \cdot \omega \cdot \delta \tilde{A} = \left[ (1-A) \cdot \frac{d\alpha}{dV} - A \cdot \frac{d\beta}{dV} \right] \cdot \delta \tilde{V} \quad (\text{C.2})$$

Der in der Zeitdarstellung auftauchende Operatorterm  $\frac{d}{dt}$  wird dabei durch die komplexe Frequenz  $i \cdot \omega$  ersetzt. Dies ergibt sich auf folgende Weise:

$$\begin{aligned} \frac{d}{dt} (A \cdot e^{-i\omega t}) &= \frac{dA}{dt} \cdot e^{-i\omega t} + A \cdot \frac{d(e^{-i\omega t})}{dt} \\ &= \frac{dA}{dt} \cdot e^{-i\omega t} - i \cdot \omega \cdot A \cdot e^{-i\omega t} \end{aligned} \quad (\text{C.3})$$

mit

$$\begin{aligned}
 \int_{-\infty}^{\infty} \frac{d}{dt} (A \cdot e^{-i\omega t}) dt &\longrightarrow 0 \\
 \int_{-\infty}^{\infty} \frac{dA}{dt} \cdot e^{-i\omega t} dt &\longrightarrow \frac{d}{dt} \tilde{A} \\
 \int_{-\infty}^{\infty} i \cdot \omega \cdot A \cdot e^{-i\omega t} dt &\longrightarrow i \cdot \omega \cdot \tilde{A} \\
 \implies \frac{d}{dt} \tilde{A} &= i \cdot \omega \cdot \tilde{A}
 \end{aligned}$$

Zusammen mit der fouriertransformierten Taylor-Entwicklung der Membranstromgleichung...

$$\delta \tilde{I} = \bar{G} \cdot A \cdot \delta \tilde{V} + G(V - E) \cdot \delta \tilde{A} \quad (\text{C.4})$$

...erhält man die Admittanz eines spannungs- und zeitabhängigen Ionenkanals im Fourierraum:

$$\frac{1}{Z} = \frac{\delta \tilde{I}}{\delta \tilde{V}} = \bar{G} \cdot A + \frac{\bar{G} \cdot (V - E) \cdot \left[ \frac{d\alpha}{dV} - A \cdot \frac{(\alpha + \beta)}{dV} \right]}{(\alpha + \beta) \cdot \left( 1 + i \cdot \omega \cdot \frac{1}{\alpha + \beta} \right)} \quad (\text{C.5})$$

# Literaturverzeichnis

- [1] ADAIR, R. K.: *Didactic Discussion of Stochastic Resonance Effects and Weak Signals*. Bioelectromagnetics, 17:242–245, 1996.
- [2] ADELMAN, W. J.: *Biophysics and Physiology of Excitable Membranes*. Van Nostrand Reinhold Company, New York, Cincinnati, Toronto, 1971.
- [3] ADELMAN, W. J. und D. E. GOLDMAN: *The Biophysical Approach to Excitable Systems*. Plenum Press, New York, London, 1981.
- [4] AGRAWAL, N., J. MAGISTRETTI und A. ALONSO: *Persistent Sodium Channel Activity Mediates Subthreshold Membrane Potential Oscillations and Low-Threshold Spikes in Rat Entorhinal Cortex Layer V Neurons*. Neuroscience, 102:53–64, 2001.
- [5] ALONSO, A. und R.R. LLINAS: *Subthreshold Na<sup>+</sup>-Dependent Theta-Like Rhythmicity in Stellate Cells of Entorhinal Cortex Layer II*. Nature, 342:175–177, 1989.
- [6] ALZHEIMER, C., P. C. SCHWINDT und W. E. CRILL: *Modal Gating of Na<sup>+</sup> Channels as a Mechanism of Persistent Na<sup>+</sup> Current in Pyramidal Neurons from Rat and Cat Sensorimotor Cortex*. The Journal of Neuroscience, 13:660–673, 1993.
- [7] AMIR, R., M. MICHAELIS und M. DEVOR: *Membrane Potential Oscillations in Dorsal Root Ganglion Neurons: Role in Normal Electrogenesis and Neuropathic Pain*. The Journal of Neuroscience, 19:8589–8596, 1999.
- [8] AMITAI, Y.: *Membrane Potential Oscillations Underlying Firing Patterns in Neocortical Neurons*. Neuroscience, 63:151–161, 1994.
- [9] ATTWELL, D., I. COHEN und C. OJEDA: *The Steady State TTX-Sensitive -Window-Sodium Current in Cardiac Purkinje Fibres*. Pflügers Archiv, 379:137–142, 1979.
- [10] AZOUZ, R. und C. M. GRAY: *Cellular Mechanisms Contributing to Response Variability of Cortical Neurons in Vivo*. The Journal of Neuroscience, 19:2209–2223, 1999.
- [11] BÄCHLER, H. J.: *Rauschanalyse und Optimierung RC-Activer Filter 2. Ordnung*. Doktorarbeit, ETH- Zürich, 1978.
- [12] BAL, T. und D. A. MCCORMICK: *Synchronized Oscillations in the Inferior Olive are Controlled by the Hyperpolarization-Activated Cation Current I<sub>h</sub>*. Journal of Neurophysiology, 77:3145–3156, 1997.

- [13] BARANAUSKAS, G. und A. NISTRI: *Membrane Potential Oscillations of Neonatal Rat Spinal Motoneurons Evoked by Electrical Stimulation of Dorsal Root Fibres*. European Journal of Neuroscience, 7:2403–2408, 1995.
- [14] BARBI, M., S. CHILLEMÌ und D. PETRACCHI: *Neural Encoding in Invertebrate Neurons*. Il Nuovo Cimento, 17D(7-8):725–731, 1995.
- [15] BENZI, R., G. PARISI und A. SUTERA: *A Theory of Stochastic Resonance in Climatic Change*. SIAM Journal of Applied Mathematics, 43:565–578, 1983.
- [16] BEZANILLA, F. und E. STEFANI: *Voltage-Dependent Gating of Ion Channels*. Annual Reviews of Biophysics and Biomolecular Structure, 23:819–846, 1994.
- [17] BIEL, M., A. LUDWIG und F. HOFMANN: *Hyperpolarization-Activated Cation Channels: A Multi-Gene Family*. Reviews of Physiology, Biochemistry and Pharmacology, 136:165–181, 1999.
- [18] BOEHMER, G., W. GREFFRATH und S. HERMANN: *Subthreshold Oscillations of the Membrane Potential in Magnocellular Neurons of the Rat Supraoptic Nucleus*. Journal of Physiology, 526.1:115–128, 2000.
- [19] BRIGHAM, E. O.: *FFT-Anwendungen*. Oldenbourg Verlag, Muenchen, 1997.
- [20] BRONSTEIN, I. N. und K. A. SEMENDJAJEW: *Taschenbuch der Mathematik*, Band 25. Teubner Verlag, Stuttgart, Leipzig, 1991.
- [21] BULLOCK, T. H.: *Integrative Systems Research on the Brain: Resurgence and New Opportunities*. Annual Reviews of Neuroscience, 16:1–15, 1993.
- [22] CANAVIER, C.: *Sodium Dynamics Underlying Burst Firing and Putative Mechanisms for the Regulation of the Firing Pattern in Midbrain Dopamine Neurons: A Computational Approach*. Journal of Computational Neuroscience, 6:49–69, 1999.
- [23] CHANDY, K. G. und K. A. GUTMAN: *Nomenclature for Mammalian Potassium Channel Genes*. Trends in Pharmacological Science, 14(434), 1993.
- [24] COLE, K. S.: *Rectification and Inductance in the Squid Giant Axon*. Journal of General Physiology, 25:29–51, 1941.
- [25] COLE, K. S. und R. F. BAKER: *Longitudinal Impedance of the Squid Giant Axon*. Journal of General Physiology, 24:771–788, 1941.
- [26] CONNORS, B. W. und Y. AMITAI: *Making Waves in the Neocortex*. Neuron, 18:347–349, 1997.
- [27] CRILL, W.E.: *Persistent Sodium Current in Mammalian Central Neurons*. Annual Reviews of Physiology, 58:349–362, 1996.
- [28] DASCAL, N.: *Signalling Via the G Protein-Activated K<sup>+</sup> Channels*. Cellular Signaling, 9:551–573, 1997.



- [29] DEFELICE, L. J.: *Introduction to Membrane Noise*. Plenum Press, New York, 1981.
- [30] DEFELICE, L.J. und A. ISAAC: *Chaotic States in a Random World: Relationship Between the Nonlinear Differential Equations of Excitability and the Stochastic Properties of Ion Channels*. *Journal of Statistical Physics*, 70:339–354, 1992.
- [31] DESMAISONS, D., J.D. VINCENT und P.M. LLEDO: *Control of Action Potential Timing by Intrinsic Subthreshold Oscillations in Olfactory Bulb Output Neurons*. *The Journal of Neuroscience*, 19:10727–10737, 1999.
- [32] DETWILER, P. B., A. L. HODGKIN und P. A. MCNAUGHTON: *Temporal and Spatial Characteristics of the Voltage Response of Rods in the Retina of the Snapping Turtle*. *Journal of Physiology*, 300:231–250, 1980.
- [33] DICKSON, C.T., J. MAGISTRETTI und A. ALONSO: *Properties and Role of  $I_h$  in the Pacing of Subthreshold Oscillations in Entorhinal Cortex Layer II Neurons*. *Journal of Neurophysiology*, 83:2562–2579, 2000.
- [34] DOUPNIK, C. A., N. DAVIDSON und H. A. LESTER: *The Inward Rectifier Potassium Channel Family*. *Current Opinion in Neurobiology*, 5:268–277, 1995.
- [35] DRAGUHN, A., R. TRAUB und J. JEFFERYS: *Electrical Coupling Underlies High-Frequency Oscillations in the Hippocampus in Vitro*. *Nature*, 394:189–192, 1998.
- [36] DUGLADZE, T., U. HEINEMANN und T. GLOVELI: *Entorhinal Cortex Projection Cells to the Hippocampal Formation in Vitro*. *Brain Research*, 905:224–231, 2001.
- [37] ECKMANN, J.P. und L.E. THOMAS: *Remarks on Stochastic Resonance*. *J. Phys. A: Math. Gen.*, 15:L261–L266, 1982.
- [38] FAUVE, S. und F. HESLOT: *Stochastic Resonance in a Bistable System*. *Physics Letters*, 97a:5–7, 1983.
- [39] FELLOUS, J.M., A.R. HOUWELING und T.J. SEJNOWSKI: *Frequency Dependence of Spike Timing Reliability in Cortical Pyramidal Cells and Interneurons*. *Journal of Neurophysiology*, 85:1782–1787, 2001.
- [40] FRISCH, U., C. FROESCHLE und J.P. SCHEIDECKER: *Stochastic Resonance in One-Dimensional Random Media*. *Physical Review A*, 8:1416–1421, 1973.
- [41] FUKAI, T.: *Competition in the Temporal Domain Among Neural Activities Phase-Locked to Subthreshold Oscillations*. *Biological Cybernetics*, 75:453–464, 1996.
- [42] GAMMAITONI, L., P. HÄNGGI und P. JUNG: *Stochastic Resonance*. *Reviews of Modern Physics*, 70:223–287, 1998.
- [43] GASPARINI, S. und D. DIFRANCESCO: *Action of the Hyperpolarization-Activated Current ( $I_h$ ) Blocker ZD7288 in Hippocampal CA1 Neurons*. *European Journal of Physiology*, 435:99–106, 1997.

- [44] GEAN, P. W. und P. SHINNICK-GALLAGHER: *The Transient Potassium Current, the A-Current, is Involved in Spike Frequency Adaptation in Rat Amygdala Neurons*. Brain Research, 480:160–169, 1989.
- [45] GERTHSEN, C. und H. VOGEL: *Physik*, Band 17. Springer, Berlin, Heidelberg, New York, 1993.
- [46] GETTING, P. A.: *Emerging Principles Governing the Operation of Neural Networks*. Annual Reviews of Neuroscience, 12:185–204, 1989.
- [47] GUTFREUND, Y., Y. YAROM und I. SEGEV: *Subthreshold Oscillations and Resonant Frequency in Guinea-Pig Cortical Neurons: Physiology and Modelling*. Journal of Physiology, 483:621–640, 1995.
- [48] HABLITZ, J. und B. SUTOR: *Excitatory Postsynaptic Potentials in Rat Neocortical Neurons In Vitro. III. Effects of a Quinoxalinedione Non-NMDA Receptor Antagonist*. Journal of Neurophysiology, 64:1282–1289, 1990.
- [49] HARRIS, N.C. und A. CONSTANTI: *Mechanism of Block by ZD 7288 of the Hyperpolarisation-Activated Inward Rectifying Current in Guinea Pig Substantia Nigra Neurons in Vitro*. Journal of Neurophysiology, 74:2366–2378, 1995.
- [50] HILLE, B.: *G Protein - Coupled Mechanisms and Nervous Signaling*. Neuron, 9:187–195, 1992.
- [51] HILLE, B.: *Ion Channels of Excitable Membranes*. Sinauer Verlag, Sunderland, 3. Auflage, 2001.
- [52] HODGKIN, A.L. und A.F. HUXLEY: *A Quantitative Description of Membrane Current and its Application to Conduction and Excitation in Nerve*. Journal of Physiology, 117:500–544, 1952.
- [53] HOLMES, G. L.: *Diagnosis and Management of Seizures in Children*. W.B. Saunders Co., Philadelphia, 1987.
- [54] HOTOP, H.J.: *Fourier- und Laplacetransformation*. Wißner Verlag, Augsburg, 1997.
- [55] HUANGFU, D. und P. GUYENET: *Autoactivity of A5 Neurons: Role of Subthreshold Oscillations and Persistent Na<sup>+</sup> Current*. American Journal of Physiology, 273:2280–2289, 1997.
- [56] HUANG, W., M. COHEN und Q. YU: *High-Frequency Oscillations in Membrane Potentials of Medullary Inspiratory and Expiratory Neurons (Including Laryngeal Motoneurons)*. Journal of Neurophysiology, 76:1405–1412, 1996.
- [57] HUBER, M., J. KRIEG und H. BRAUN: *Stimulus Sensitivity and Neuromodulatory Properties of Noisy Intrinsic Neuronal Oscillators*. BioSystems, 48:95–104, 1998.
- [58] HUGUENARD, J.R.: *Low-Threshold Calcium Currents in Central Nervous System Neurons*. Annual Reviews of Physiology, 58:329–347, 1996.

- [59] HUTCHEON, B., R. MIURA und E. PUIL: *Models of Subthreshold Membrane Resonance in Neocortical Neurons*. Journal of Neurophysiology, 76:698–714, 1996.
- [60] HUTCHEON, B., R. MIURA und E. PUIL: *Subthreshold Membrane Resonance in Neocortical Neurons*. Journal of Neurophysiology, 76:683–697, 1996.
- [61] HUTCHEON, B., R. MIURA und Y. YAROM: *Low-Threshold Calcium Current and Resonance in Thalamic Neurons: A Model of Frequency Preference*. Journal of Neurophysiology, 71:583–594, 1994.
- [62] HUTCHEON, B. und Y. YAROM: *Resonance, Oscillation and the Intrinsic Frequency Preferences of Neurons*. Trends in Neuroscience, 23:216–222, 2000.
- [63] ISOMOTO, S., C. KONDO und Y. KURACHI: *Inwardly Rectifying Potassium Channels: Their Molecular Heterogeneity and Funktion*. Japanese Journal of Physiology, 47:11–39, 1997.
- [64] IZHIKEVICH, E. M.: *Resonance and Selective Communication Via Bursts in Neurons Having Subthreshold Oscillations*. BioSystems, inpress, 2002.
- [65] JACK, J. J. B., D. NOBLE und R. W. TSIEN: *Electric Current Flow in Excitable Cells*. Clarendon Press, Oxford, 1975.
- [66] JAHNSEN, H. und S. KARNUP: *A Spectral Analysis of the Integration of Artificial Synaptic Potentials in Mammalian Central Neurons*. Brain Research, 666:9–20, 1994.
- [67] JAN, L.Y. und Y.N. JAN: *Cloned Potassium Channels From Eukaryotes and Prokaryotes*. Annual Reviews of Neuroscience, 20:91–123, 1997.
- [68] JOHNSTON, D., J. C. MAGEE und B. R. CHRISTIE: *Active Properties of Neuronal Dendrites*. Annual Reviews of Neuroscience, 19:165–186, 1996.
- [69] JUNG, P. und P. HÄNGGI: *Amplification of Small Signals Via Stochastic Resonance*. Physical Review A, 44:8032–8042, 1991.
- [70] JUNG, P. und P. HÄNGGI: *Stochastische Resonanz*. Physikalische Blätter, 47:1005–1007, 1991.
- [71] KAMONDI, A., L. ACSADY und X. WANG: *Theta Oscillations in Somata and Dendrites of Hippocampal Pyramidal Cells in Vivo: Activity-Dependent Phase-Precession of Action Potentials*. Hippocampus, 8:244–261, 1998.
- [72] KANDEL, E. R., J. H. SCHWARTZ und T. M. JESSELL: *Principles of Neural Science*. McGraw-Hill Verlag, New York, 2000.
- [73] KARSCHIN, A., E. WISCHMEYER und F. DÖRING: *Kalium-Einwärtsgerichtete Ursprüngliche Kanalstrukturen Als Basis Funktioneller Vielfalt*. NeuroForum, 4:127–132, 1997.
- [74] KESHNER, MARVIN S.: *1/F Noise*. Proceedings of the IEEE, 70:212–218, 1982.

- [75] KIENCKE, U.: *Signale und Systeme*. Oldenbourg Verlag, Muenchen, 1998.
- [76] KISS, L.B., F. MOSS und A. BULSARA: *1/F Noise in Systems Showing Stochastic Resonance*. Journal of Statistical Physics, 70:451–462, 1993.
- [77] KLINKE, R. und S. SILBERNAGEL: *Lehrbuch der Physiologie*. Thieme Verlag, Stuttgart, New York, 2. Auflage, 1996.
- [78] KLINK, R. und A. ALONSO: *Ionic Mechanisms for the Subthreshold Oscillations and Differential Electroresponsiveness of Medial Entorhinal Cortex Layer II Neurons*. Journal of Neurophysiology, 70:144–157, 1993.
- [79] KLINK, R. und A. ALONSO: *Muscarinic Modulation of the Oscillatory and Repetitive Firing Properties of Entorhinal Cortex Layer II Neurons*. Journal of Neurophysiology, 77:1813–1828, 1997.
- [80] KOCH, C.: *Cable Theory in Neurons with Active, Linearized Membranes*. Biological Cybernetics, 50:15–33, 1984.
- [81] KOCH, C.: *Biophysics of Computation*. Oxford University Press, New York, Oxford, 1999.
- [82] KOCH, C., M. RAPP und I. SEGEV: *A Brief History of Time (Constants)*. Cerebral Cortex, 6:93–101, 1996.
- [83] KRUGLIKOV, I.L. und H. DERTINGER: *Stochastic Resonance as a Possible Mechanism of Amplification of Weak Elektric Signals in Living Cells*. Bioelectromagnetics, 15:539–547, 1994.
- [84] KURZ, R.: *Medizinische Meßtechnik und Biosignalverarbeitung in der Kardiologischen Diagnostik*. Schmitz Verlag, Gießen, 1984.
- [85] LAMPL, I. und Y. YAROM: *Subthreshold Oscillations of the Membrane Potential: A Functional Synchronizing and Timing Device*. Journal of Neurophysiology, 70:2181–2186, 1993.
- [86] LAMPL, I. und Y. YAROM: *Subthreshold Oscillations and Resonant Behaviour: Two Manifestations of the Same Mechanism*. Neuroscience, 78:325–341, 1997.
- [87] LERESCHE, N., S. LIGHTOWLER, I. SOLTESZ und V. CRUNELLI: *Low-Frequency Oscillatory Activities Intrinsic to Rat and Cat Thalamocortical Cells*. Journal of Physiology, 441:155–174, 1991.
- [88] LEUNG, L. W. und C. Y. YIM: *Intrinsic Membrane Potential Oscillations in Hippocampal Neurons in Vitro*. Brain Research, 553:261–274, 1991.
- [89] LICHTTEIG, K.: *Rauschanalyse der Temperatursignale Eines Doppelrohrwärmeaustauschers*. Doktorarbeit, Berlin TU, 1975.

- [90] LIPTON, P. und T. S. WHITTINGHAM: *Energy Metabolism and Brain Slice Function*. In: *Brain Slices*, Seiten 113–153, New York, London, 1984. Plenum Press, Dingleline, R.
- [91] LI, Y.-X., J. RINZEL und L. VERGARA: *Spontaneous Electrical and Calcium Oscillations in Unstimulated Pituitary Gonadotrophs*. *Biophysical Journal*, 69:785–765, 1995.
- [92] LLINAS, R. und Y. YAROM: *Oscillatory Properties of Guinea-Pig Inferior Olivary Neurons and their Pharmacological Modulation: An in Vitro Study*. *Journal of Physiology*, 376:163–182, 1986.
- [93] LLINAS, R. R.: *The Intrinsic Electrophysiological Properties of Mammalian Neurons: Insights Into Central Nervous System Function*. *Science*, 242:1654–1664, 1988.
- [94] LLINAS, R. R., A. A. GRACE und Y. YAROM: *In Vitro Neurons in Mammalian Cortical Layer 4 Exhibit Intrinsic Oscillatory Activity in the 10- to 50-Hz Frequency Range*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 88:897–901, 1991.
- [95] LOEWENSTEIN, Y., Y. YAROM und H. SOMPOLINSKY: *The Generation of Oscillations in Networks of Electrically Coupled Cells*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 98:8095–8100, 2001.
- [96] LONGTIN, A.: *Stochastic Resonance in Neuron Models*. *Journal of Statistical Physics*, 70:309–327, 1993.
- [97] LONGTIN, A., A. BULSARA und F. MOSS: *Sensory Information Processing by Noisy Bistable Neurons*. *Modern Physics Letters B*, 6:1299–1308, 1992.
- [98] LÜSCHER, C., R.C. MALENKA und R.A. NICOLL: *G Protein-Coupled Inwardly Rectifying K<sup>+</sup> Channels (GIRK's) Mediate Postsynaptic But Not Presynaptic Transmitter Actions in Hippocampal Neurons*. *Neuron*, 19:687–695, 1997.
- [99] LÜTHI, A. und D.A. MCCORMICK: *H-Current: Properties of a Neuronal and Network Pacemaker*. *Neuron*, 21:9–12, 1998.
- [100] MAGEE, J. C.: *Dendritic I<sub>h</sub> Normalizes Temporal Summation in Hippocampal CA1 Neurons*. *Nature Neuroscience*, 2:508–514, 1999.
- [101] MAGEE, J. C.: *Dendritic Integration of Excitatory Synaptic Input*. *Nature Reviews Neuroscience*, 1:181–190, 2000.
- [102] MANOR, Y., I. SEGEV und Y. YAROM: *Low-Amplitude Oscillations in the Inferior Olive: A Model Based on Electrical Coupling of Neurons With Heterogeneous Channel Densities*. *Journal of Neurophysiology*, 77:2736–2752, 1997.
- [103] MARK, M.D. und S. HERLITZE: *G-Protein Mediated Gating of Inward-Rectifier K<sup>+</sup> Channels*. *European Journal of Biochemistry*, 267:5830–5836, 2000.

- [104] MATHIE, A.: *Voltage-Activated Potassium Channels in Mammalian Neurons and their Block by Novel Pharmacological Agents*. *General Pharmacology*, 30:13–24, 1998.
- [105] MATTIA, D., H. KAWASAKI und M. AVILO: *Repetitive Firing and Oscillatory Activity of Pyramidal-Like Bursting Neurons in the Rat Subiculum*. *Experimental Brain Research*, 114:507–517, 1997.
- [106] MAURO, A., F. CONTI und F. DODGE: *Subthreshold Behavior and Phenomenological Impedance of the Squid Giant Axon*. *Journal of General Physiology*, 55:497–523, 1970.
- [107] MCCORMICK, D.A.: *Neurotransmitter Actions in the Thalamus and Cerebral Cortex and their Role in Neuromodulation of Thalamocortical Activity*. *Progress in Neurobiology*, 39:337–388, 1992.
- [108] MCCORMICK, D. A.: *Spontaneous Activity: Signal or Noise?* *Science*, 285:541–543, 1999.
- [109] MCCORMICK, D.A. und T. BAL: *Sleep and Arousal: Thalamocortical Mechanisms*. *Annual Review of Neuroscience*, 20:185–215, 1997.
- [110] MOOSMANG, S., F. HOFMANN und A. LUDWIG: *Cellular Expression and Functional Characterisation of Four Hyperpolarization-Activated Pacemaker Channels in Cardiac and Neuronal Tissues*. *European Journal of Biochemistry*, 268:1646–1652, 2001.
- [111] MORAN, P.R.: *A Physical Statistics Theory for Detectability of Target Signals in Noisy Images*. *Med. Phys.*, 9:401–413, 1982.
- [112] NEHER, E.: *Elektronische Meßtechnik in der Physiologie*. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1974.
- [113] NICHOLLS, J. G., A. R. MARTIN und B. G. WALLACE: *Vom Neuron Zum Gehirn*. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, Jena, New York, 1995.
- [114] NICHOLS, C. G. und A. N. LOPATIN: *Inward Rectifier Potassium Channels*. *Annual Review of Physiology*, 59:171–191, 1997.
- [115] NUNEZ, A., F. AMIZICA und M. STERIADE: *Intrinsic and Synaptically Generated Delta (1-4Hz) Rhythms in Dorsal Lateral Geniculate Neurons and Their Modulation by Light-Induced Fast (30-70Hz) Events*. *Neuroscience*, 51:269–284, 1992.
- [116] PAPE, H.C.: *Queer Current and Pacemaker: The Hyperpolarization-Activated Cation Current in Neurons*. *Annual Review of Physiology*, 58:299–327, 1996.
- [117] PAPE, H.-C. und R. DRIESANG: *Ionic Mechanisms of Intrinsic Oscillations in Neurons of the Basolateral Amygdaloid Complex*. *Journal of Neurophysiology*, 79:217–226, 1998.

- [118] PAPE, H.-C., D. PARÈ und R. DRIESANG: *Two Types of Intrinsic Oscillations in Neurons of the Lateral and Basolateral Nuclei of the Amygdala*. *Journal of Neurophysiology*, 79:205–216, 1998.
- [119] PIKE, F. G., R. S. GODDARD, J. M. SUCKLING und O. PAULSEN: *Distinct Frequency Preferences of Different Types of Rat Hippocampal Neurones in Response to Oscillatory Input Currents*. *Journal of Physiology*, 529.1:205–213, 2000.
- [120] PLACANTONAKIS, D., C. SCHWARZ und J.P. WELSH: *Serotonin Suppresses Subthreshold and Suprathreshold Oscillatory Activity of Rat Inferior Olivary Neurons in Vitro*. *Journal of Physiology*, 524.3:833–851, 2000.
- [121] PLACANTONAKIS, D.G. und J.P. WELSH: *Two Distinct Oscillatory States Determined by the NMDA Receptor in Rat Inferior Olive*. *Journal of Physiology*, 534:123–140, 2001.
- [122] PSARROPOULOU, C. und M. AVOLI: *Subthreshold Membranepotential Oscillations Immature Rat CA3 Hippocampal Neurones*. *NeuroReport*, 6:2561–2564, 1995.
- [123] PUIL, E., B. GIMBARZEVSKY und R. MIURA: *Quantification of Membrane Properties of Trigeminal Root Ganglion Neurons in Guinea Pigs*. *Journal of Neurophysiology*, 55:995–1016, 1986.
- [124] PUIL, E., B. GIMBARZEVSKY und R.M. MIURA: *Voltage Dependence of Membrane Properties of Trigeminal Root Ganglion Neurons*. *Journal of Neurophysiology*, 58:66–86, 1987.
- [125] PUIL, E., B. GIMBARZEVSKY und I. SPIGELMAN: *Primary Involvement of  $K^+$  Conductance in Membrane Resonance of Trigeminal Root Ganglion Neurons*. *Journal of Neurophysiology*, 59:77–89, 1988.
- [126] PUIL, E., H. MEIRI und Y. YAROM: *Resonant Behavior and Frequency Preferences of Thalamic Neurons*. *Journal of Neurophysiology*, 71:575–582, 1994.
- [127] RIANI, M. und E. SIMONOTTO: *Stochastic Resonance in the Perceptual Interpretation of Ambiguous Figures: A Neural Network Model*. *Physical Review Letters*, 72:3120–3123, 1994.
- [128] RITZ, R. und T. J. SEJNOWSKI: *Synchronous Oscillatory Activity in Sensory Systems: New Vistas on Mechanisms*. *Current Opinion in Neurobiology*, 7:536–546, 1997.
- [129] RÖRIG, B., G. KLAUSA und B. SUTOR: *Intracellular Acidification Reduced Gap Junction Coupling Between Immature Rat Neocortical Pyramidal Neurones*. *Journal of Physiology*, 490.1:31–49, 1996.
- [130] RÖRIG, B. und B. SUTOR: *Regulation of Gap Junction Coupling in the Developing Neocortex*. *Molecular Neurobiology*, 12:225–249, 1996.
- [131] RUDY, B.: *Diversity and Ubiquity of  $K$  Channels*. *Neuroscience*, 25:729–749, 1988.

- [132] SABAH, NASSIR H.: *Rectification in Biological Membranes*. IEEE Engineering in Medicine and Biology, Seiten 106–113, 2000.
- [133] SABAH, N. H. und K. N. LEIBOVIC: *Subthreshold Oscillatory Responses of the Hodgkin-Huxley Cable Model for the Squid Giant Axon*. Biophysical Journal, 9:1206–1222, 1969.
- [134] SABAH, N.H. und K.N. LEIBOVIC: *The Effect of Membrane Parameters on the Properties of the Nerve Impulse*. Biophysical Journal, 12:1132–1143, 1972.
- [135] SCHMITZ, D., T. GLOVELI und U. HEINEMANN: *Subthreshold Membrane Potential Oscillations in Neurons of Deep Layers of the Entorhinal Cortex*. Neuroscience, 85:999–1004, 1998.
- [136] SCHRÜFER, E.: *Signalverarbeitung*. Hauser Verlag, Muenchen, 1992.
- [137] SEGEV, I. und P. ITZCHAK: *Synaptic Integration Mechanisms*. Biophysical Journal, 41:41–50, 1983.
- [138] SEGEV, I. und W. RALL: *Excitable Dendrites an Spines: Earlier Theoretical Insights Elucidate Recent Direct Observations*. Trends in Neuroscience, 21:453–460, 1998.
- [139] SELVERSTON, A. I. und M. MOULINS: *Oscillatory Neural Networks*. Annual Reviews of Physiology, 47:29–48, 1985.
- [140] SHNEIDMAN, V.A., P. JUNG und P. HÄNGGI: *Weak.Noise Limit of Stochastic Resonance*. Physical Review Letters, 72:2682–2685, 1994.
- [141] SILVA, L.R., Y. AMITAI und B. W. CONNORS: *Intrinsic Oscillations of Neocortex Generated by Layer 5 Pyramidal Neurons*. Science, 251:432–435, 1991.
- [142] SIMON, O.: *Das Elektroenzephalogramm - Einführung und Atlas*. Urban und Schwarzenberg, Muenchen, 1977.
- [143] SINGER, W.: *Neuronal Synchrony: A Versatile Code for the Definition of Relations?* Neuron, 24:49–65, 1999.
- [144] SIROVICH, L. und B. W. KNIGHT: *On Subthreshold Solutions of the Hodgkin-Huxley Equations*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 74:5199–5202, 1977.
- [145] SOLTESZ, I., S. LIGHTOWLER, N. LERESCHE und C. E. POLLARD: *Two Inward Currents and the Transformation of Low-Frequency Oscillations of Rat and Cat Thalamocortical Cells*. Journal of Physiology, 441:175–197, 1991.
- [146] SONG, W. J.: *Genes Responsible for Native Depolarization-Activated K<sup>+</sup> Currents in Neurons*. Neuroscience Research, 42:7–14, 2002.
- [147] SPAIN, W. J., P. C. SCHWINDT und W. E. CRILL: *Two Transient Potassium Currents in Layer V Pyramidal Neurons From Cat Sensorimotor Cortex*. Journal of Physiology, 434:591–607, 1991.



- [148] SPRUSTON, N., D.B. JAFFE und D. JOHNSTON: *Voltage- and Space- Clamp Errors Associated with the Measurement of Electrotonically Remote Synaptic Events*. Journal of Neurophysiology, 70:781–802, 1993.
- [149] STACEY, WILLIAM C. und DOMINIQUE M. DURAND: *Stochastic Resonance Improves Signal Detection in Hippocampal CA1 Neurons*. Journal of Neurophysiology, 83:1394–1402, 2000.
- [150] STERIADE, M.: *Impact of Network Activities on Neuronal Properties in Corticothalamic Systems*. Journal of Neurophysiology, 86:1–39, 2001.
- [151] STERIADE, M., F. AMZICA und D. CONTRERAS: *Synchronization of Fast (30-40 Hz) Spontaneous Cortical Rhythms During Brain Activation*. The Journal of Neuroscience, 16:392–417, 1996.
- [152] STERIADE, M., D. CONTRERAS und F. AMZICA: *Synchronization of Fast (30-40 Hz) Spontaneous Oscillations in Intrathalamic and Thalamocortical Networks*. The Journal of Neuroscience, 16:2788–2808, 1996.
- [153] STERIADE, M., MCCORMICK D.A. und T.J. SEJNOWSKI: *Thalamocortical Oscillations in the Sleeping and Aroused Brain*. Science, 262:679–685, 1993.
- [154] STRÖHMANN, B., D. W.F. SCHWARZ und E. PUIL: *Subthreshold Frequency Selectivity in Avian Auditory Thalamus*. Journal of Neurophysiology, 71:1361–1372, 1994.
- [155] STRÖHMANN, B., D. W. F. SCHWARZ und E. PUIL: *Electrical Resonances in Central Auditory Neurons*. Acta Otolaryngol, 115:168–172, 1995.
- [156] STUART, G. und N. SPRUSTON: *Determinants of Voltage Attenuation in Neocortical Pyramidal Neurons Dendrites*. The Journal of Neuroscience, 18:3501–3510, 1998.
- [157] SUTOR, B.: *Nachweis eines GABA-vermittelten, inhibitorischen Postsynaptischen Potentials in Neuronen des Neocortex der Ratte*. Doktorarbeit, Erlangen-Nürnberg, 1986.
- [158] SUTOR, B.: *Gap Junctions and their Implication for Neurogenesis and Maturation of Synaptic Circuitry in the Developing Neocortex*. In: HOHMANN, C. F. (Herausgeber): *Results and Problems in Cell Differentiation*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 2002.
- [159] SUTOR, B. und J. HABLITZ: *EPSPs in Rat Neocortical Neurons in Vitro I. Electrophysiological Evidence for Two Distinct EPSPs*. Journal of Neurophysiology, 61:607–619, 1989.
- [160] SUTOR, B. und J. HABLITZ: *EPSPs in Rat Neocortical Neurons in Vitro II. Involvement of N-Methyl-D-Aspartate Receptors in the Generation of EPSPs*. Journal of Neurophysiology, 61:621–634, 1989.

- [161] SUTOR, B. und J.J. HABLITZ: *Influence of Barium on Rectification in Rat Neocortical Neurons*. Neuroscience Letters, 157:62–66, 1993.
- [162] SUTOR, B. und W. ZIEGLGÄNSBERGER: *A Low-Voltage Activated, Transient Calcium Current is Responsible for the Time-Dependent Depolarizing Inward Rectification of Rat Neocortical Neurons in Vitro*. European Journal of Physiology, 410:102–111, 1987.
- [163] SVOBODA, K.R. und C.R. LUPICA: *Opioid Inhibition of Hippocampal Interneurons Via Modulation of Potassium and Hyperpolarization-Activated Cation (I<sub>h</sub>) Currents*. The Journal of Neuroscience, 18:7084–7098, 1998.
- [164] TAKAKUSAKI, K. und S. T. KITAI: *Ionic Mechanisms Involved in the Spontaneous Firing of Tegmental Pedunculopontine Nucleus Neurons of the Rat*. Neuroscience, 78:771–794, 1997.
- [165] TAKIGAWA, T. und C. ALZHEIMER: *Phasic and Tonic Attenuation of EPSPs by Inward Rectifier K<sup>+</sup> Channels in Rat Hippocampal Pyramidal Cells*. Journal of Physiology, 539.1:67–75, 2002.
- [166] TAYLOR, C. P.: *Na<sup>+</sup> Currents That Fail to Inactivate*. Trends in Neuroscience, 16:455–460, 1993.
- [167] TENNIGKEIT, F., D. SCHWARZ und E. PUIL: *Isoflurane Attenuates Resonant Responses of Auditory Thalamic Neurons*. Journal of Neurophysiology, 78:591–596, 1997.
- [168] TENNIGKEIT, F., D. SCHWARZ und E. PUIL: *GABA B Receptor Activation Changes Membrane and Filter Properties of Auditory Thalamic Neurons*. Hearing Research, 122:18–24, 1998.
- [169] TENNIGKEIT, F., D. SCHWARZ und E. PUIL: *Modulation of Frequency Selectivity by Na<sup>+</sup> - and K<sup>+</sup> - Conductances in Neurons of Auditory Thalamus*. Hearing Research, 127:77–85, 1999.
- [170] TREPPEL, M.: *Neuroanatomie*. Urban Fischer Verlag, Muenchen, Stuttgart, 1999.
- [171] ULRICH, D. AND STRICKER, C.: *Dendrosomatic Voltage and Charge Transfer in Rat Neocortical Pyramidal Cells in Vitro*. Journal of Neurophysiology, 84:1445–1452, 2000.
- [172] VOLGUSHEV, M., M. CHISTIAKOVA und W. SINGER: *Modification of Discharge Patterns of Neocortical Neurons by Induced Oscillations of the Membrane Potential*. Neuroscience, 83:15–25, 1998.
- [173] VOLGUSHEV, M., J. PERNBERG und U. T. EYSEL: *A Novel Mechanism of Response Selectivity of Neurons in Cat Visual Cortex*. Journal of Physiology, 540.1:307–320, 2002.

- [174] WANG, W., Y. WANG und Z.D. WANG: *Firing and Signal Transduction Associated with an Intrinsic Oscillation in Neuronal Systems*. Physical Review E, 57:R2527–R2530, 1998.
- [175] WANG, Y., Z.D. WANG und W. WANG: *Subthreshold Dynamics and its Effect on Signal Transduction in a Neural System*. Journal Phys. Soc. Japan, 67:3637–3644, 1998.
- [176] WATTS, A.E., J.T. WILLIAMS und G. HENDERSON: *Baclofen Inhibition of the Hyperpolarisation-Activated Cation Current  $I_h$ , in Rat Substantia Nigra Zona Compacta Neurons May Be Secondary to Potassium Current Activation*. Journal of Neurophysiology, 76:2262–2270, 1996.
- [177] WHITE, J., R. KLINK und A. ALONSO: *Noise From Voltage-Gated Ion Channels May Influence Neuronal Dynamics in the Entorhinal Cortex*. Journal of Neurophysiology, 80:262–269, 1998.
- [178] WHITE, J. A., T. BUDDE und A. R. KAY: *A Bifurcation Analysis of Neuronal Subthreshold Oscillations*. Biophysical Journal, 69:1203–1217, 1995.
- [179] WICKMAN, K. D. und D. E. CLAPHAM: *G-Protein Regulation of Ion Channels*. Current Opinion in Neurobiology, 5:278–285, 1995.
- [180] WILLIAMS, S. R. und G. J. STUART: *Site Independence of EPSP Time Course is Mediated by Dendritic  $I_h$  in Neocortical Pyramidal Neurons*. Journal of Neurophysiology, 83:3177–3182, 2000.
- [181] WU, N., C.F. HSIAO und S.H. CHANDLER: *Membrane Resonance and Subthreshold Membrane Oscillations in Mesencephalic V Neurons: Participants in Burst Generation*. The Journal of Neuroscience, 21:3729–3739, 2001.
- [182] YAROM, Y.: *Rhythmogenesis in a Hybrid System - Interconnecting an Olivary Neuron to an Analog Network of Coupled Oscillators*. Neuroscience, 44:263–275, 1991.
- [183] YOGANATHAN, A.P., G. RAMESH und W.H. CORCORAN: *Fast Fourier Transform in the Analysis of Biomedical Data*. Medical and Biological Engineering, 122:239–244, 1976.

# Danksagung

Herrn Prof. Dr. med. Gerrit ten Bruggencate möchte ich für die freundliche Aufnahme in das Physiologische Institut der LMU und die Bereitstellung des Arbeitsplatzes danken.

Ich danke Herrn Prof. Dr. rer. nat. Bernd Sutor, der durch die Überlassung des Themas und seine geduldige und engagierte Betreuung diese Arbeit überhaupt erst ermöglicht hat.

Meinen Kollegen und Freunden der AG Sutor, Frau Susanne Greiner-Fischer, Frau Dr. med. vet. Christina Grimm, Frau Caroline Haberl und Herr Dr. med. vet. Gerd Zolles danke ich für die konstruktive Zusammenarbeit und das herzliche und fröhliche Laborklima.

Danken möchte ich auch Frau Gaby Horn für ihre tatkräftige Unterstützung im Labor.

*„So laßt mir das Gedächtnis  
Als fröhliches Vermächtnis.“  
J.W. v. Goethe*

# Lebenslauf

## Persönliche Daten

Christian Biber  
Berg-am-Laim Str. 71  
81673 München

Geb. am 10.02. 1973 in Augsburg

## Schulbildung

07/1992            Abitur am Leonhard-Wagner-Gymnasium in Schwabmünchen

## Zivildienst

8/1992–12/1993    Individuelle Schwerstbehindertenbetreuung (ISB-Dienst) bei der Arbeiterwohlfahrt Augsburg/Schwabmünchen

## Studium

10/1993–07/1999    Studium der Physik (Diplom) an der Georg-August-Universität Göttingen und der Université Claude-Bernard Lyon I; Diplomarbeit am Laser-Laboratorium Göttingen bei Prof. Marowsky

## Promotion

seit 11/1999        Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Physiologischen Institut der Ludwig-Maximilians-Universität München; Arbeitsgruppe Prof. Sutor